



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

Caracterización clínica y patológica del síndrome U2 en Salmones Coho
(*Oncorhynchus kisutch*)

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

Isabel del Carmen Gacitúa Sandoval
Valdivia Chile 1999

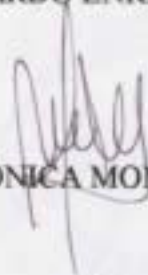
PROFESOR PATROCINANTE

: DR. VÍCTOR CUBILLOS G.



PROFESOR COPATROCINANTE

: DR. RICARDO ENRÍQUEZ S.



COLABORADORES

: SRA. MÓNICA MONRÁS S.

a. alberdi

: SRA. AINTZANE ALBERDI M.

PROFESORES CALIFICADORES

: DR. ELIAS CABALLERO V.



: DR. GASTÓN VALENZUELA J.

FECHA DE APROBACION

: OCTUBRE 14, 1999

*A. Papá y Mamá con
todo mi amor*

ÍNDICE

	Página
1. Resumen.	1
2. Summary.	3
3. Introducción.	5
4. Material y Método.	16
5. Resultados.	18
6. Discusión.	51
7. Conclusiones.	59
8. Bibliografía.	60
9. Anexos.	64
Agradecimientos.	110

"Caracterización Clínica y Patológica del Síndrome U2 en
Salmones Coho (*Oncorhynchus kisutch*)"

1. RESUMEN

Con el propósito de determinar las características clínicas y aspectos lesionales macro y microscópicos originados por **U2**, se analizaron los hígados, riñones y bazos de salmones Coho (*Oncorhynchus kisutch*) y del Atlántico (*Salmo salar*), inoculados vía intraperitoneal.

Durante el desarrollo del presente estudio, se llevaron a cabo tres inoculaciones experimentales. La primera estuvo constituida por dos grupos de salmones Coho (*O. kisutch*), un grupo Control (n=24) y uno Experimental (n=30). Los peces, de aproximadamente 30 g. de peso, fueron mantenidos en acuarios de 150 lts. de capacidad, con agua salada recirculante y aireación constante. El grupo Experimental fue inoculado el día 1 vía intraperitoneal, con U2 en dosis de $1 \times 10^{4.33}$ microorganismos/ml. De ambos grupos, cada tres días, se sacrificaron dos peces, a los cuales se les realizó necropsia, evaluándose los aspectos clínicos y lesionales y obteniéndose muestras de hígado, riñón y bazo. De dichas muestras se realizaron improntas y con posterioridad, se fijaron en formalina bufferizada al 10%, para ser teñidas con Hematoxilina/Eosina y Giemsa. Debido a que los peces inoculados no presentaron signos clínicos, lesiones macro y microscópicas asociadas a U2 y el agente en estudio no fue detectado en los tejidos, se realizó una segunda inoculación en los peces sobrevivientes, 45 días posterior a la primera inoculación y en la cual los peces se sacrificaron cada siete días. Al no presentar signología y lesiones asociadas al agente, se realizó una tercera inoculación, 110 días posterior a la segunda, en un nuevo grupo de salmones Coho (*O. kisutch*) (n=24) y en un grupo de salmones del Atlántico (*S. salar*) (n=24), dada la marcada susceptibilidad de esta especie al **U2**.

Posterior a la tercera inoculación, los peces se caracterizaron por cursar con letargía, natación superficial, disminución de la ingesta y peso y agrupación en las esquinas del acuario.

Externamente, las lesiones más significativas lo constituyeron las hemorragias en la base de las aletas y palidez branquial, en salmones Coho (*O. kisutch*) y del Atlántico (*S. salar*). Por otra parte, la esplenomegalia, nefromegalia y hepatomegalia fueron las principales lesiones macroscópicas, en ambas especies de salmonídeos.

Microscópicamente, en ambas especies de salmonídeos, destaca la presencia de infiltrado histiocitario, fibroblástico y de células melanomacrofágicas. Además de hiperplasia de células del Sistema Fagocítico Mononuclear, como células de KüpfTer en hígado y células reticulares en bazo.

Finalmente, en relación a la presencia de **U2** en los tejidos, no fue posible detectar dicho agente en los salmónes Coho (*O. kisutch*). Sin embargo, esta especie presentó signología clínica y lesiones macro y microscópicas, similares a las observadas en los salmónes del Atlántico (*S. salar*), en que se logró detectar el agente en estudio. La ausencia de **U2** en los tejidos de salmónes Coho (*O. kisutch*) después de tres inoculaciones experimentales, indica que es menos susceptible al agente, sin embargo, es necesario considerar otros factores que podrían influir en la detección del mismo, como cantidad de inóculo utilizado, peso de los peces inoculados, temperatura del agua y susceptibilidad del grupo de salmónes Coho (*O. kisutch*).

"Clinical and Pathological Characterization of the U2 Syndrome in Coho Salmon
(*Oncorhynchus kisiitch*)"

2. SUMMARY

In order to determine clinical characteristics and gross and microscopic lesional appearance caused by **U2**; the liver, kidney and spleen of Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*), inoculated intraperitoneally, were examined.

During the development of this study, three experimental inoculations were made. The first inoculation consisted of two groups of Coho salmon (*O. kisutch*), a Control group (n=24) and an Experimental group (n=30). The fish, approximately 30 g. body in weight, were kept in aquariums of 150 litres in capacity with recirculated sea water and constant airing. The Experimental group was inoculated on day one intraperitoneally, with **U2** in doses of $1 \times 10^{4.33}$ microorganisms/ml. Of both groups, every three day, two fish were sacrificed and a necropsy was made, assesing clinical and lesional effects. Samples of the liver, kidney and spleen were examined, by doing imprintings and fixed in a buffer formaline of 10% and then dying with Hematoxiline/Eosine and Giemsa. The inoculated fish did not show clinical signs and gross or microscopic lesions associated with **U2** and the study agent was not detected in tissues. A second inoculation was made in surviving fish, 45 days subsequent to the first inoculation. The fish were sacrificed every seven day. To those which did not show clinical signs and lesions associated with the agent, a third inoculation was made, 110 days subsequent to the second inoculation, in a new group of Coho salmon (*O. kisutch*) (n=24) and a group of Atlantic salmon (*S. salar*) (n=24), owing to pronounced susceptibility of the latter species to **U2**.

After the third inoculation, lethargy, superficial swimming, diminished ingestion and weight, and grouping at the corners of the tank, was observed.

At the external level, the more significant lesions observed were hemorrhages at the base of fins and a paling of the gill in Coho salmon (*O. kisutch*) and Atlantic (*S. salar*). Furthermore, splenomegaly, nephromegaly and hepatomegaly were the main gross lesions observed in both species of salmon.

At the microscopical, in both species of salmon, there was an emphasized presence of hystiocytary, fibroblastic and melanomacrophagic cells infiltration.

Moreover, hyperplasia of Reticuloendothelial System cells, such as Küpffer cells of the liver and reticular cells of the spleen.

Finally, in relation to the presence of U2 in tissues, the detection of the agent was not possible in Coho salmon (*O. kisutch*). Nevertheless, this species shows clinical signs and gross and microscopic lesions similar to those observed in Atlantic Salmon (*S. salar*), in which the study agent was detected. The absence of U2 in Coho Salmon (*O. kisutch*) tissues after three experimental inoculations, would indicate that they are a less susceptible species to the agent. However, it is necessary to consider further factors that would influence the detection of the agent, like quantity of inoculum used, weight of inoculated fish, water temperature and the susceptibility of the group of Coho salmon (*O. kisutch*).

3. INTRODUCCION

3.1 GENERALIDADES.

A partir del año 1980, Chile ha experimentado un rápido crecimiento en relación a la producción de salmonídeos y truchas en cautiverio (Alvarado y col., 1990a; Scháfer y col., 1991). Las principales razones se han debido a las condiciones económicas imperantes en el país y al hecho que en la X y XI regiones existen condiciones altamente favorables para su explotación como: aguas no contaminadas, temperatura adecuada (10-15°C) y abundantes lugares que permiten la instalación de balsas jaula tanto en fase de agua dulce como de mar (ríos profundos, numerosas islas, canales y bahías). Por otra parte, están los bajos costos de producción (dados principalmente por mano de obra barata y producción de algunos insumos en el país, como la harina de pescado, principal componente de las dietas) (Alvarado y col., 1990b). De igual forma, otro factor altamente favorable lo constituye el alto promedio de horas luz, lo cual favorece la alimentación y el crecimiento de los peces.

Otra ventaja importante de señalar es el desfase que se origina entre el hemisferio norte y sur, lo cual ha posibilitado que la llegada de los productos nacionales a los mercados extranjeros se realice en distintos periodos del año. A este respecto, cabe destacar el papel que han cumplido las autoridades gubernamentales en el desarrollo de la industria salmonera, quienes han diseñado políticas motivadoras que han permitido desarrollar esta actividad comercial, manteniendo estrictos controles en cuanto a la asignación de lugares para el cultivo de salmones; de igual forma, programas de vigilancia, inspección sanitaria y normas que han regulado la aprobación de ovas importadas. Además, las autoridades no han interferido con las exportaciones, manteniendo los derechos de propiedad sobre el 100% de las empresas salmonicultoras extranjeras que operan en el país (Compendio de la Acuicultura en Chile, 1996; Anuario Estadístico de Pesca, 1995).

En Chile se cultivan cinco especies de salmón. Inicialmente se utilizó el salmón Coho (*Oncorhynchus kisutch*) debido a su capacidad de adaptación a las balsas jaula, sin embargo, su permanencia como la especie más viable sólo fue hasta 1987, año en el cual se introdujo el salmón del Atlántico (*Salmo salar*) En la actualidad, además, se cultivan el salmón Chinook o Rey (*Oncorhynchus tshawytscha*), el salmón Cereza (*Oncorhynchus massou*) y la trucha Arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*). Las especies más exitosas son el salmón del Atlántico (*S. salar*), Coho (*O. kisutch*) y la trucha Arcoiris (*O. mykiss*), correspondiéndole una pequeña proporción al salmón Chinook (*O. tshawytscha*) y Cereza (*O. massou*) (Folsom y col., 1992; Compendio de la Acuicultura en Chile, 1996).

En relación a la producción de salmonídeos, durante 1984 ésta alcanzó 495 ton; en 1990 dicha cifra aumentó a 17.234 ton., de las cuales 10.730 fueron de salmón Coho (*O. kisutch*), 3.293 trucha Arcoiris (*O. mykiss*) y 3.105 salmón del Atlántico (*S. salar*). El resto de la producción correspondió a salmón Chinook (*O. tshawytscha*). Los ingresos generados por concepto de producción han representando ingresos del orden de US\$100 millones. En 1997, se apreció un crecimiento de 24,4% en el monto de las exportaciones, alcanzando la cifra de US\$668 millones, de igual forma, el volumen de los envíos aumentó en un 18,4%, totalizando 160.158 ton. netas exportadas (Diario Austral de Chile, 1998).

En la actualidad, las exportaciones de salmonídeos representan el 35,7% de los embarques del sector pesquero nacional. Así, esta actividad se ha consolidado como la segunda en importancia a nivel mundial después de Noruega, alcanzando su producción al 55% de lo exportable por dicho país (Diario Austral de Chile, 1998).

El principal mercado exportable lo constituye Japón, con 93.000 ton. e ingresos retomables superiores a US\$365 millones, el segundo lugar corresponde a Estados Unidos, seguido de América Latina con el 5,6% del total de las exportaciones, desplazando a la Unión Europea. La importancia de América Latina radica en el poder de compra de salmonídeos por parte de Brasil, es así como esta nación ocupa el tercer lugar después de Japón y Estados Unidos. A Brasil se exportaron más de 6.000 ton., principalmente de salmón del Atlántico (*S. salar*) fresco, lográndose ventas por más de US\$24 millones (Diario Austral de Chile, 1998).

A partir de 1988 a la fecha se ha registrado un crecimiento promedio anual del 54%, lo cual se ha visto reflejado en la puesta en marcha de 650 proyectos, en relación a los 70 existentes diez años atrás (Compendio de la Acuicultura en Chile, 1996). Sin embargo, este crecimiento explosivo ha estado aparejado de una serie de factores limitantes para la industria salmonera, como el incremento en la susceptibilidad de cuadros infecciosos. A este respecto, Lannan y Fryer (1993), han reportado que el incremento de las importaciones de ovas ha originado un aumento de las patologías, debido al hecho que las especies importadas al parecer poseen una resistencia natural inferior a algunos agentes infecciosos presentes en aguas chilenas. Por otra parte, se han reportado nuevas patologías no diagnosticadas con anterioridad, amén de deficiencias que la Industria ha tenido que subsanar en aspectos tecnológicos, a fin de adecuarse a los requerimientos de los mercados internacionales.

Las ventajas comparativas que presentaba el país, a partir de 1989 experimentaron un serio traspies. Esto, debido a que en la X región, provincia de Llanquihue, comuna de Calbuco, se observó en el canal Huito y posteriormente Caicaén, una entidad responsable de altas mortalidades originadas por un cuadro desconocido, el que se caracterizaba por evolución crónica, afectando especialmente al salmón Coho (*O. kisutch*) en

la fase marina. En un principio esta enfermedad se reconoció como una nueva patología, sin embargo, su diagnóstico definitivo sólo fue realizado por Fryer en 1990.

Este nuevo cuadro patológico había sido observado desde 1981 (Bravo y Campos, 1989), sin embargo, la descripción y diagnóstico del mismo sólo se efectuó a inicios de 1989 (Gárate, 1990). Durante ese año y como parte de un gran esfuerzo por determinar su etiología, se inoculó tejido renal de salmón Coho (*O. kisutch*) afectado, en seis líneas celulares, cuatro de salmonídeos (RTG-2, CHSE-214, CHH-1 y CSE-119) y dos de especies de aguas templadas (FHM y EPC), aislándose un organismo tipo rickettsial que no había sido descrito anteriormente (Cvitanich y col., 1990; Fryer y col., 1990; Gárate, 1990; Garcés y col., 1991; Bravo y Gutiérrez, 1994). El aislamiento y las características de dicho agente fueron reportados por Fryer y col. en 1990.

Debido al desconocimiento del agente causal se le denominó primeramente U.A. ("Unidentified Agent"), posteriormente se le conoció como "Síndrome del Salmón Coho", ya que fue esta especie la primeramente afectada. Otros investigadores la denominaron "Enfermedad de Huito" en referencia al canal en que se diagnosticó por primera vez (Gárate, 1990). El nombre propuesto por Cvitanich y col. (1991) para este nuevo cuadro fue "Síndrome Rickettsial Salmonídeo" (S.R.S.), Fryer y col. (1992) denominaron al agente causal *Piscirickettsia salmonis*, por tratarse de un organismo rickettsial que afecta a los peces y que fue descrito por primera vez en salmonídeos. En la actualidad esta enfermedad se conoce como "Piscirickettsiosis", en referencia a su agente etiológico.

En el último tiempo, se ha aislado un segundo agente conocido como U2 el cual, posee aspectos similares a *P. salmonis* y de igual forma, algunas características diferenciales. Al respecto, la presente investigación, pretendió determinar los aspectos lesionales que caracterizan a este nuevo agente al inocularse experimentalmente en salmón Coho (*O. kisutch*) y con posterioridad en salmón del Atlántico (*S. salar*), de tal modo que ha continuación se presentarán los aspectos que caracterizan a la Piscirickettsiosis y de igual forma, aquellos que se conocen de este agente denominado **U2**.

3.2 ETIOLOGÍA DE LA PISCIRICKETTSIOSIS.

Los primeros hallazgos que permitieron una visualización del tipo de agente responsable de este cuadro, fueron hechos mediante la técnica histológica utilizándose la tinción de Hematoxilina/Eosina (H/E), mediante la cual se apreciaron microorganismos cocoides de tamaño variable, de localización intracitoplasmática en las células del Sistema Fagocítico Mononuclear (Cubillos y col., 1990; Cvitanich y col., 1990; Fryer y col., 1990). Posteriormente, mediante H/E y la tinción de Giemsa fue posible determinar la presencia de

estas estructuras cocoides tanto intra como extracelularmente (Bravo y Campos, 1989; Cubillos y col., 1990; Cvitanich y col., 1990; Fryer y col., 1990; Scháfer y col., 1990).

Trabajos de diversos investigadores (Cubillos y col., 1990; Cvitanich y col., 1990; Fryer y col., 1990; Scháfer y col., 1990) relacionaron en principio el U.A. con posibles organismos del grupo *Rickettsiales*. Fryer y col. (1990) lograron confirmar el aislamiento de rickettsias en la línea celular CHSE-214 de salmón Chinook (*O. tshmytscha*) a partir de peces enfermos, dicho aislado se denominó LF-89. Por otra parte, este mismo investigador en 1992, procedió a inocular experimentalmente el aislado obtenido en salmón Coho (*O. kisutch*) y salmón del Atlántico (*Si salar*), en ambos casos los peces desarrollaron la enfermedad y presentaron mortalidades cercanas al 100%.

Las características *in vitro* de la cepa tipo (LF-89) del S.R.S. fueron descritas por Fryer en 1990, quien determinó que el agente etiológico correspondía a un microorganismo pleomórfico, generalmente esférico (cocoides) o con forma de anillo o como bastón curvo dispuestos en pares (Lannan y Fryer, 1993), inmóvil, sin cápsula y de diámetro variable (entre 0,5 a 2,0 μm) (Fryer y col., 1990; Cvitanich y col., 1991). Este organismo rickettsial es Gram, PAS y Giménez negativo (Giménez, 1964), se tiñe con H/E, Giemsa y Azul de Metileno (Branson y Nieto, 1991; Cvitanich y col., 1991). Además, retiene la fucsina básica con el método de Pinkerton para rickettsias y clamidias (Simmons y Gentscow, 1944).

Este organismo rickettsial (LF-89) es un parásito intracelular obligado, el cual no se replica en medios bacteriológicos comunes. Se multiplica en cultivos celulares de peces infectados, dentro de inclusiones o vacuolas a nivel citoplásmico. Al respecto, es posible encontrar más de una inclusión por célula infectada y el número de organismos por inclusión es variable (Cvitanich y col., 1990). El rango óptimo de temperatura para la replicación *in vitro* de la *P. salmonis* es de 15° a 18°C (Fryer y Lannan, 1992), su crecimiento se retarda bajo 10°C y alrededor de los 20°C y a temperaturas cercanas a los 25°C no crece (Lannan y Fryer, 1993). Por otra parte, es sensible *in vitro* a ocho antibióticos comúnmente utilizados en cultivos celulares en Medicina Humana y Veterinaria. Ante la presencia de bajos niveles de gentamicina, estreptomycinina, ácido oxolínico, tetraciclina, doxicilina, rifampicina y cloranfenicol su crecimiento se inhibe y se retarda frente a elevados niveles de sulfamerazina (Fryer y Lannan, 1992).

Fryer y col. sugirieron en 1992 que el organismo en cuestión pertenece al Orden *Rickettsiales*, Familia *Rickettsiaceae*, Tribu *Ehrlicheae*, por sus características, sin embargo concluyeron que no pertenecía a ningún género ni especie establecidos, debido a diferencias respecto a la especificidad del huésped y a características serológicas. Por estas razones, este patógeno fue incluido en un nuevo género y especie de la Familia *Rickettsiaceae*, denominándosele *Piscirickettsia salmonis* gen. nov., sp. nov., por afectar a peces y haber sido diagnosticada primeramente en salmones (Fryer y col., 1992).

3.3 EPIDEMIOLOGÍA DE LA PISCIRICKETTSIOSIS.

Las mortalidades observadas por esta condición se presentaban entre los meses de marzo-abril y julio-agosto (Gárate, 1990). En algunos casos también se han reportado brotes durante los meses de noviembre a enero (Bravo y Campos, 1989; Cvitanich y col., 1990).

Todas las especies cultivadas en el sur de Chile experimentaron pérdidas debido a la Piscirickettsiosis. Los primeros casos reportados por Bravo y Campos en 1989, se observaron en el salmón Coho (*O. kisutch*), sin embargo, también afectó al salmón del Atlántico (*S. salar*), salmón Chinook (*O. tshawytscha*) y trucha Arcoiris (*O. mykiss*) (Lannan y Fryer, 1993). Al detectarse los primeros brotes, ninguna de estas especies desarrolló la enfermedad durante la fase de agua dulce; las mortalidades comenzaron 6 a 12 semanas después de haber sido transferidos al mar (Cvitanich y col., 1990; Fryer y Lannan, 1992). Por otra parte, Bravo (1994a y b), reportó un brote de Piscirickettsiosis, que se originó en diciembre de 1993, en un grupo de trucha Arcoiris (*O. mykiss*) cultivado en el lago Llanquihue. Con posterioridad, Gaggero y col. (1995), realizaron el primer aislamiento de *P. salmonis* a partir de salmón Coho (*O. kisutch*) y trucha Arcoiris (*O. mykiss*) cultivados en agua dulce.

La distribución geográfica de esta condición es amplia, ya que organismos patógenos similares a rickettsia han sido identificados en diversos países. En Canadá, la enfermedad fue observada en 1970 y 1978, en el salmón Rosado (*Oncorhynchus gorbuscha*) cultivado en agua salada, posteriormente, se observó en cultivos de salmón Chinook (*O. tshawytschá*) entre 1983 y 1984 y salmón Coho (*O. kisutch*) en 1984 (Kent, 1992). Hasta ese momento, el cuadro fue estudiado sólo con fines académicos, sin embargo, en 1991 la enfermedad fue detectada en salmón Chinook (*O. tshawytscha*) en tres salmoneras, en una de ellas también afectó al salmón del Atlántico (*S. salar*) (Kent, 1992; Brocklebank, 1993). Por otra parte, en Irlanda, en 1991, durante los meses de agosto y septiembre, se produjeron mortalidades en el salmón del Atlántico (*S. salar*) en fase marina en uno de los centros de cultivo ubicado en el este de dicho país (Rodger y Drinan, 1993), posteriormente, en 1995 y 1996, se observó en cuatro centros de cultivo de salmón del Atlántico (*S. salar*), en ambos casos la enfermedad se asoció a un organismo tipo rickettsial (Palmer y col., 1996).

En Noruega, se determinó, debido a las similitudes morfológicas y serológicas, que el causante de una enfermedad sistémica diagnosticada en 51 centros de cultivo a lo largo de la costa oeste durante 1988 hasta 1992, correspondía al mismo agente rickettsial descrito en Chile, aislándose a partir de salmones del Atlántico (*S. salar*) enfermos (Olsen y col., 1997). En Escocia, Grant y col. (1996), aislaron un organismo tipo rickettsial a partir de cultivos de salmón del Atlántico (*S. Salar*), asociado con signos neurológicos y

mortalidad. Finalmente, se detectaron infecciones con un organismo tipo rickettsial en todas las especies de tilapia (*Oreochromis y Tilapia spp.*) cultivadas en Taiwan (Chern y Chao, 1994).

Microorganismos tipo rickettsiales y clamidiales han sido observados en numerosos animales acuáticos, sin embargo, pocos casos han sido comunicados en peces. Wolf (1981) realizó una revisión e identificó un caso de rickettsias en peces, en Egipto durante 1939. Una rickettsia asociada con peces, la cual no se ha logrado replicar en tejido de peces, es la *Neorickettsia helminthoeca* causante del "Envenenamiento por salmón", enfermedad presente en caninos (Noonan, 1973). Esta rickettsia es transportada por un tremátodo de salmones en el Pacífico, en el noroeste de Estados Unidos (Millenam y Knapp, 1970).

3.4 ASPECTOS CLÍNICOS DE LA PISCIRICKETTSIOSIS.

Los peces afectados por *P. salmonis* presentan signología inespecífica dependiendo ésta del grado de infección. A nivel de las balsas jaula, los peces moribundos se observan letárgicos, inapetentes, con respiración dificultosa, nadan en sentido contrario a la corriente, suben a la superficie y no reaccionan al medio ni a estímulos externos (Alvarado y col., 1990a; Cubillos y col., 1990; Gárate, 1990; Scháfer y col., 1990; Branson y Nieto, 1991; Cvitanich y col., 1991; Garcés y col., 1991).

3.5 ASPECTOS LESIONALES MACROSCÓPICOS DE LA PISCIRICKETTSIOSIS.

A nivel cutáneo se aprecian pérdida de escamas, hemorragias perianales y periorculares, en la base de las aletas y a nivel abdominal, oscurecimiento del dorso y flancos, por otra parte, se aprecia acentuada palidez branquial, lo que refleja severa anemia, corroborable ésta por los niveles de hematocrito (27% en peces visiblemente afectados y 45% en peces aparentemente sanos) (Bravo y Campos, 1989; Alvarado y col., 1990a; Gárate, 1990; Scháfer y col., 1990). Adicionalmente, se ha descrito exoftalmia bilateral, estomatitis ulcerativa (Branson y Nieto, 1991, Cvitanich y col., 1991), abdomen distendido (ascitis) (Alvarado y col., 1990a; Gaggero y col., 1995) e induraciones epidérmicas blanquecinas de hasta 1 cm. de diámetro (Branson y Nieto, 1991; Cvitanich y col., 1991).

A la necropsia se aprecia fluido ascítico serosanguinolento en la cavidad abdominal. El estómago se observa dilatado con abundante contenido seromucoso, sus paredes son casi transparentes, evidenciando un severo proceso de atrofia de la mucosa. Macroscópicamente, los órganos más afectados lo constituyen el riñón, bazo e hígado.

Dependiendo de la evolución del cuadro es el tipo de patología macroscópica presente, es así como en afecciones de carácter agudo o subagudo las principales alteraciones en los órganos parenquimatosos están dadas por afecciones degenerativas e inflamatorias las que se visualizan con un aumento de tamaño de los órganos mencionados. En los cuadros crónicos las alteraciones presentes son de fácil visualización, ya que se caracterizan por la presencia de nodulaciones blanquecinas de tamaño variable, las que pueden oscilar entre 1 mm a 2 cm. Esta lesión corresponde a fibrosis. Junto a este proceso inflamatorio crónico es frecuente encontrar áreas de necrosis y hemorragias de carácter petequeal (Bravo y Campos, 1989; AJvarado y col., 1990a; Cubillos y col., 1990; Scháfer y col., 1990).

Otras alteraciones presentes lo constituyen la presencia de equimosis en ciegos pilóneos, pared de la vejiga natatoria e intestino posterior (Brocklebank y col., 1993).

En el caso del salmón Coho (*O. kisutch*), el órgano más afectado es el riñón, en cambio, en el salmón del Atlántico (*S. salar*) lo constituye el hígado (Cubillos y col., 1990).

3.6 ASPECTOS LESIONALES MICROSCÓPICOS DE LA PISCIRICKETTSIOSIS.

Las alteraciones histológicas observadas se relacionan con afecciones degenerativas, trastornos inflamatorios y necróticos, principalmente a nivel de riñón, hígado, bazo y tejido hematopoyético (Garcés y col., 1991). En cuanto al tipo de necrosis observada, esta es de coagulación. Un aspecto importante de destacar lo constituye la presencia de trombos fibrinoides en vasos sanguíneos de pequeño calibre, acompañados de necrosis endotelial e infiltrado inflamatorio (Branson y Nieto, 1991, Cvitanich y col., 1991).

Lesiones microscópicas también han sido descritas en otros órganos como cerebro, músculo, piel, corazón, branquias, intestinos y ovarios (Cvitanich y col., 1991). Branson y Nieto (1991) han descrito necrosis e inflamación de la lámina propia del intestino, hiperplasia epitelial de las branquias y fusión de las laminillas secundarias con presencia de rickettsias dentro de los vasos sanguíneos. Por otra parte, Brocklebank y col. (1993) han reportado degeneración de los túbulos renales, miositis piogranulomatosa, ulceraciones superficiales a nivel de la piel, meningoencefalitis y esplenitis piogranulomatosa con vasculitis aguda.

3.7 DETECCIÓN DE UN NUEVO ORGANISMO TIPO RICKETTSIAL.

En diciembre de 1994 y enero de 1995, se aisló en el lago Llanquihue, un nuevo agente con características similares a la *P. salmonis* a partir de salmones del Atlántico (*S. salar*) (Cvitanich y col., 1995). El nuevo agente había sido detectado en julio de 1994, en muestras de salmones del Atlántico (*S. salar*) moribundos provenientes del mismo lago. En dicha ocasión, la población no experimentó mortalidad pese a estar infectada (Cvitanich y col., 1995).

Posteriormente, en junio de 1997, se detectó y aisló un organismo tipo rickettsial a partir de puyes (*Galaxias maculatus*) capturados del lago Llanquihue. Este microorganismo presentó características similares al agente observado anteriormente en salmón del Atlántico (*S. salar*) (Enríquez y col., 1998).

El nuevo organismo tipo rickettsial al parecer pertenece al Orden *Rickettsiales*, Familia *Rickettsiaceae*, sin embargo, aún no ha sido identificado y clasificado definitivamente. Debido a lo anterior, este nuevo agente ha sido designado **UA-2** o **U2**, como una forma de denominación más corta (Cvitanich y col., 1995).

3.8 CARACTERÍSTICAS DEL AGENTE UA-2 O U2.

El **U2** es una bacteria Gram, PAS y Giménez negativa, esférica o cocoide, a menudo pleomórfica, inmóvil, cuyo tamaño varía entre 0,2 y 0,8 μm de diámetro y dispuesta en acúmulos tanto intra como extracelulares (Cvitanich y col., 1995; Enríquez y col., 1998). Frotis de sangre teñidos con Giemsa de peces afectados revelan la presencia de estos microorganismos en el citoplasma de los macrófagos (Enríquez y col., 1998). De igual forma, se han encontrado acúmulos de **U2** de tamaño variable dentro del citoplasma de las células de riñón y bazo infectadas, observadas en improntas teñidas con Giemsa (Cvitanich y col., 1995).

Los primeros hallazgos realizados mediante microscopía electrónica revelaron que estos microorganismos no se encuentran dentro de vacuolas rodeadas de membrana como se han visto en las células infectadas con *P. salmonis* (Cvitanich y col., 1995). Por otra parte, utilizando la misma técnica, se ha determinado que el agente está constituido por una membrana simple y material electrodensó en la periferia (Enríquez y col., 1998).

Mediante la técnica de I.F.A.T., **U2** no dio reacción cruzada con antisueros marcados contra células con ***P. salmonis* o *Renibacterium salmoninarum***. Adicionalmente, **U2** fue negativo a tres pruebas utilizadas para la identificación de clamidias, organismos que también requieren de células vivas para su replicación (Cvitanich y col., 1995).

3.9 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE PECES AFECTADOS CON U2.

Los peces severamente afectados por **U2** son de pequeño tamaño, presentan coloración normal o levemente oscura y cierto grado de emaciación (Cvitanich y col., 1995). Adicionalmente, evidencian palidez branquial lo que refleja severa anemia (hematocrito cercano al 20%) (Cvitanich y col., 1995; Enríquez y col., 1998).

Este cuadro cursa con infección sistémica, originando procesos inflamatorios de carácter agudo o crónico en diferentes tejidos y órganos (Cvitanich y col., 1995).

3.10 ASPECTOS LESIONALES ORIGINADOS POR U2.

Internamente, los peces afectados evidencian palidez de los órganos, hepatomegalia y esplenomegalia. En el hígado y bazo se aprecian múltiples nodulos blanco grisáceos de pequeño tamaño. Ocasionalmente, estómago e intestino se encuentran sin alimento y con un contenido amarillento de aspecto mucoso (Enríquez y col., 1998). El riñón se observa pequeño y a menudo de coloración gris oscura.

Histológicamente, los cambios patológicos más significativos se producen en riñón, hígado y bazo (Cvitanich y col., 1995).

A nivel renal, en peces con infección severa, el epitelio tubular evidencia necrosis moderada. Por otra parte, se observa un incremento de las células melanomacrofágicas, las que se distribuyen en forma difusa a través del tejido hematopoyético. La mayoría de estas células, contienen grandes cantidades de melanina, sin embargo, en algunas de ellas se aprecian microorganismos cocoides, extremadamente pequeños, que aparecen visibles en preparaciones teñidas con H/E o Giemsa (Cvitanich y col., 1995).

El hígado presenta tumefacción turbia, moderada necrosis difusa y hepatitis generalizada con numerosos granulomas. Al igual que en riñón, **U2** se aprecia en el interior de células melanomacrofágicas, las que se encuentran distribuidas a través del parénquima hepático, sin embargo, es más común encontrarlas asociadas a granulomas. Adicionalmente, se ha observado severa vasculitis en la mayoría de los vasos sanguíneos (Cvitanich col., 1995; Enríquez y col., 1998).

En el bazo hay engrosamiento de la cápsula esplénica, deplesión linfoide y lesiones granulomatosas de distribución difusa. Es común observar pequeños focos de células melanomacrofágicas infectadas (Cvitanich y col., 1995).

En el estómago se observa, a nivel del corion de la mucosa y submucosa, múltiples focos de histiocitos conteniendo microorganismos esféricos, levemente basófilos. Algunos focos presentan mayor extensión, comprometiendo todo el espesor de la pared gástrica, con pequeñas metástasis hacia el tejido adiposo y páncreas (Enríquez y col., 1998).

Otros órganos, como corazón, intestino, ciegos pilóneos, músculos, branquias, pseudobranquias, cápsula nasal, coroides y cerebro, es posible encontrarlos afectados, sin embargo, se detectan bajas concentraciones de **U2** (Cvitanich y col., 1995).

3.11 ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS EN CUADROS CON U2.

U2 ha sido aislado del salmón del Atlántico (*S. salar*) tanto en fase de agua dulce como salada, de igual forma en estuarios. Al parecer, el cuadro se iniciaría en agua dulce para continuar con los peces en su fase de mar.

Los salmones del Atlántico (*S. salar*) infectados en fase de mar presentan alrededor de 300 g. A este respecto, también se han observado infecciones con **U2** en salmón Coho (*O. kisuich*) en idéntica fase con similares pesos en las costas de la isla de Chiloé. Por otra parte, se ha reportado esta condición en truchas Arcoiris (*O. mykiss*) de 500 g. (Cvitanich y col., 1995).

De acuerdo a los trabajos de Cvitanich y col. (1995), **U2** es aparentemente diferente a *P. salmonis*. En este sentido, se hace necesario realizar estudios que permitan clarificar las similitudes y diferencias entre ambos agentes. Es así como a través de la presente investigación se pretendió, experimentalmente, caracterizar los aspectos lesionales

macro y microscópicos en el salmón Coho (*O. kisutch*) utilizando para ello aislados de U2 de puyes (*G. traculatus*) obtenidos del lago Llanquihue.

4. MATERIAL Y METODO

4.1 MATERIAL.

El material está constituido por los hígados, riñones y bazos de 19 salmones Coho (*O. kisutch*) y 23 salmones del Atlántico (*S. salar*) inoculados experimentalmente con U2.

4.2 METODO.

Durante el desarrollo de la presente investigación se realizaron tres inoculaciones experimentales. La primera se llevó a cabo en dos grupos de salmones Coho (*O. kisutch*). El grupo Control, que estuvo constituido por 24 ejemplares de aproximadamente 30 g. cada uno y el Experimental, constituido por 30 ejemplares de igual tamaño y peso que el Control. En ambos casos, los peces fueron mantenidos en acuarios de 150 lts. de capacidad, con agua salada recirculante y aireación constante.

La totalidad de los peces del grupo Experimental fueron inoculados el día 1 vía intraperitoneal con U2 en dosis de $1 \times 10^{4.33}$ microorganismos/ml. Con posterioridad, de ambos grupos (Control y Experimental) se obtuvieron 2 peces al azar cada tres días los que fueron sacrificados, realizándose, a cada pez, la correspondiente necropsia según el procedimiento descrito por Navarro (1991).

Debido a que los peces inoculados no presentaron signos clínicos, lesiones macro y microscópicas asociadas a U2 y el agente en estudio no fue detectado en los tejidos, se realizó una segunda inoculación a los 45 días posterior a la primera, con igual dosis infectante en salmones Coho (*O. kisutch*) (n=18). Sin embargo, los peces se sacrificaron cada siete días, a partir del día 1 post inoculación, realizándose necropsia a cada ejemplar.

Al no presentarse, nuevamente, signología y lesiones asociadas al agente, se realizó una tercera inoculación, 110 días posterior a la segunda, en un nuevo grupo de salmones Coho (*O. kisutch*) (n=24), de características similares a los anteriores y adicionalmente se inoculó un grupo de salmones del Atlántico (*S. salar*) (n=24), dada la marcada susceptibilidad de esta especie al agente U2, siguiendo idéntico procedimiento que el

utilizado en la inoculación experimental de los salmones Coho (*O. kisutch*).

Se efectuó observación diaria de ambos grupos inoculados, precediéndose a realizar la necropsia de los ejemplares muertos. Una vez efectuada la necropsia, se procedió a la observación sistemática y cuidadosa de los diferentes órganos y tejidos, con el propósito de determinar la presencia de lesiones macroscópicas debidas a la inoculación experimental con **U2**. De la totalidad de peces de ambos grupos se obtuvieron muestras de hígado, riñon y bazo para análisis histológicos. No fue posible obtener muestras de sangre dada la dificultad de su extracción a partir de ejemplares muertos.

De hígados, riñones y bazos se realizaron improntas, las cuales se fijaron al calor para tinción de Gram. Posteriormente, las muestras de tejido fueron fijadas en formalina bufferizada al 10%, laminadas y procesadas en autotécnico para su deshidratación e inclusión en parafina y ser cortadas entre 5 y 6 mieras con micrótopo. Finalmente, dichos cortes se tiñeron con Hematoxilina/Eosina (Luna, 1968) y Giemsa para su observación al microscopio óptico.

5. RESULTADOS

En las dos primeras inoculaciones experimentales, realizadas con 45 días de diferencia, los peces inoculados no presentaron signos clínicos y lesiones macro y microscópicas asociadas a U2 y no se detectó el agente en estudio, por lo tanto se efectuó una tercera inoculación a los 110 días posterior a la segunda, cuyos resultados se presentan a continuación.

5.1 ASPECTOS CLÍNICOS EN SALMONÍDEOS INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2.

En la Tabla 1, se observan las características clínicas en salmones Coho (*O. kisutch*) y del Atlántico (*S. salar*), inoculados experimentalmente con U2.

TABLA 1

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS EN SALMONES COHO (*O. kisutch*) Y DEL ATLÁNTICO (*S. salar*), INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2.

TIPOS DE SALMONÍDEOS	CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS									
	Letargía		Natación Superficial		Disminución de Ingesta		Disminución de Peso		Agrupación en Esquinas	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
S. COHO (n=19)	14	73,6	6	31,5	11	57,8	3	10,5	6	31,5
S. DEL ATLÁNTICO (n=23)	0	0,0	0	0,0	17	73,9	14	60,8	23	100,0
TOTAL (n=42)	14	33,3	6	14,2	28	66,6	17	40,4	29	69,0

De los signos clínicos observados, la letargía (73,6%) se presentó en mayor porcentaje en los salmones Coho (*O. kisutch*), seguida de la disminución de ingesta (57,8%) y otros en porcentajes inferiores. En relación al salmón del Atlántico (*S. salar*), llama la atención la ausencia de letargía y natación superficial, sin embargo, la totalidad de ellos evidenció localización en las esquinas.

En el Gráfico 1 (Anexo 1), se presentan las características clínicas en salmones Coho (*O. kisutch*) inoculados experimentalmente con U2, en relación al tiempo de presentación y número de casos clínicos.

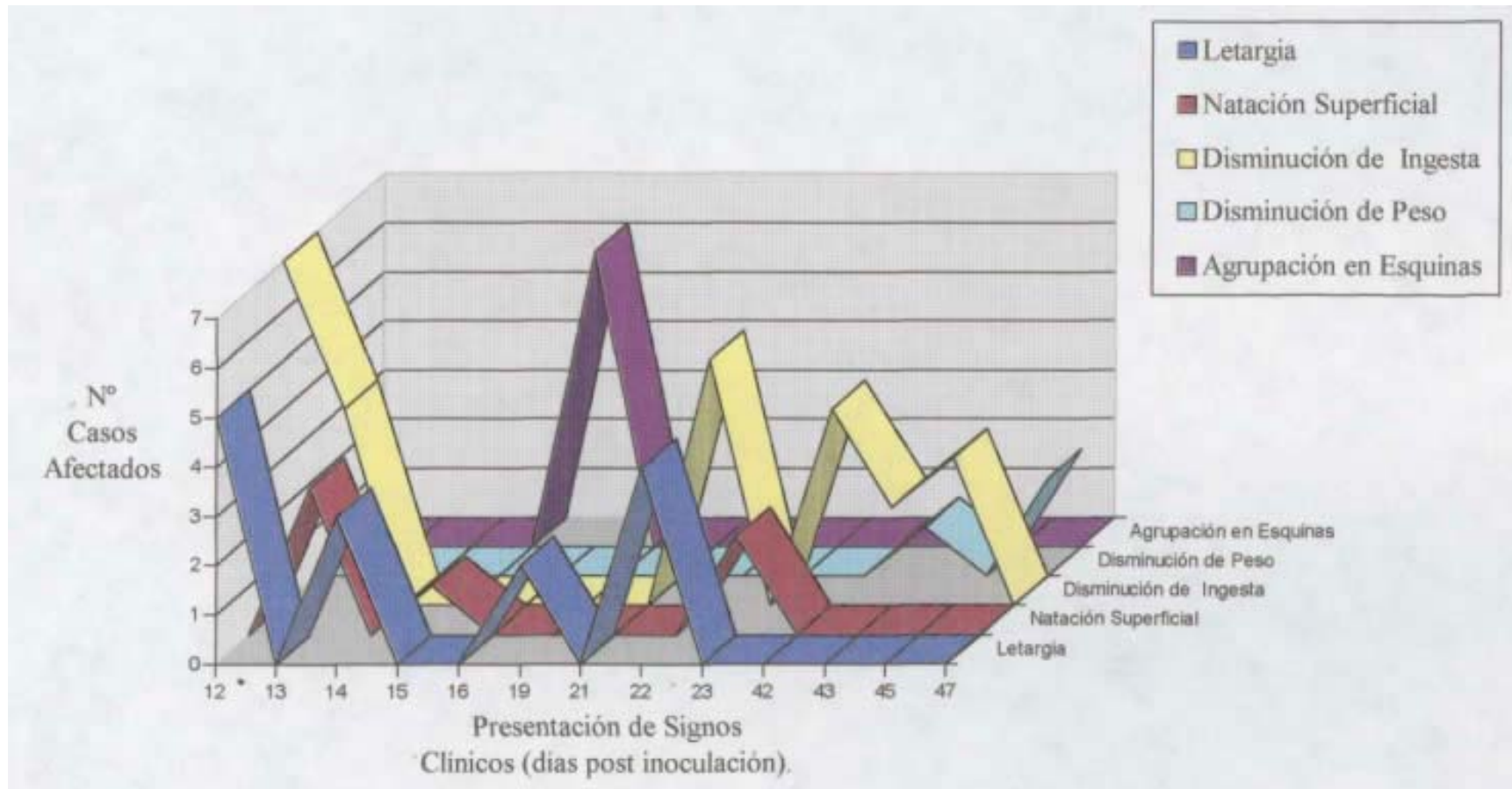


GRÁFICO 1: SIGNOS CLÍNICOS EN SALMONES COHO (*O. kisutch*) INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2, EN RELACIÓN AL TIEMPO DE PRESENTACIÓN Y NÚMERO DE CASOS AFECTADOS.

En el Gráfico 2 (Anexo 2), se presentan las características clínicas en salmones del Atlántico (*S. salar*) inoculados experimentalmente con **U2**, en relación al tiempo de presentación y número de casos clínicos.

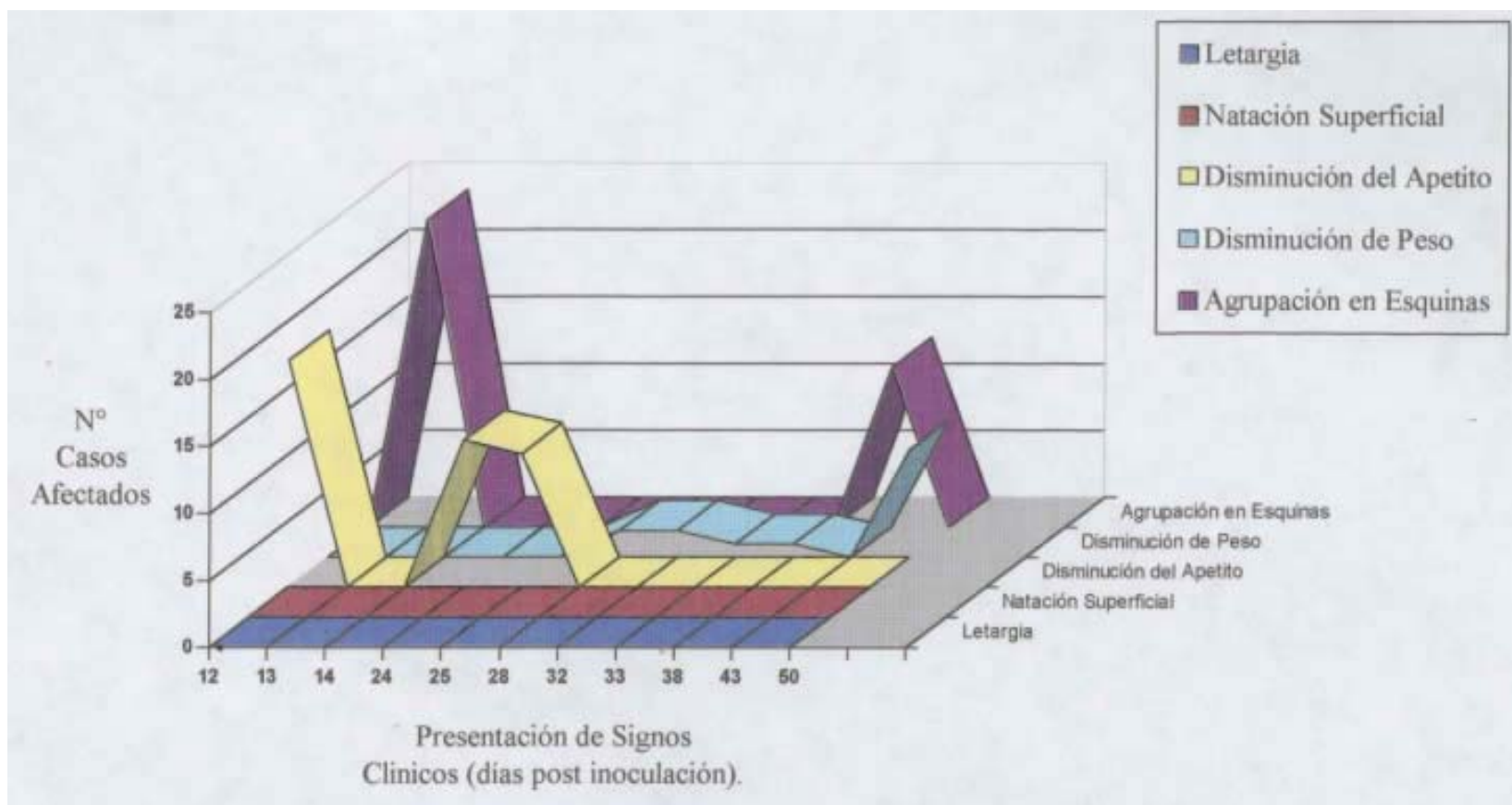


GRÁFICO 2: SIGNOS CLÍNICOS EN SALMONES DEL ATLÁNTICO (& salar) INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2, EN RELACIÓN AL TIEMPO DE PRESENTACIÓN Y NÚMERO DE CASOS AFECTADOS.

En las Tablas 2 y 3, se presenta el grado de severidad de los signos clínicos en los salmones Coho (*O. kisutch*) y del Atlántico (*S. salar*), inoculados experimentalmente con U2

TABLA 2

GRADO DE SEVERIDAD DE SIGNOS CLÍNICOS EN SALMONES COHO (*O. kisutch*),
INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2.

ASPECTOS CLÍNICOS	SIGNOS CLÍNICOS EN S. COHO (n=19)			TOTAL DE CASOS
	Leve	Moderado	Severo	
Letargía	10	4	0	14
Natación Superficial	6	0	0	6
Disminución de Ingesta	2	9	0	11
Disminución de Peso	0	3	0	3
Agrupación en Esquinas	6	0	0	6

El grado de severidad de los signos clínicos en los salmones Coho (*O. kisutch*) fue mayoritariamente leve, con excepción de la disminución de ingesta, que se observó de carácter moderado. No se observaron peces con signología severa.

TABLA 3

GRADO DE SEVERIDAD DE SIGNOS CLÍNICOS EN SALMONES DEL ATLÁNTICO (*S. salar*), INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2.

ASPECTOS CLÍNICOS	SIGNOS CLÍNICOS EN S. DEL ATLÁNTICO (n=23)			TOTAL DE CASOS
	Leve	Moderado	Severo	
Letargía	0	0	0	0
Natación Superficial	0	0	0	0
Disminución de Ingesta	1	3	13	17
Disminución de Peso	4	10	0	14
Agrupación en Esquinas	0	0	23	23

En los salmones del Atlántico (*S. salar*) los signos clínicos que se apreciaron con mayor severidad guardaron relación con la disminución de ingesta y agrupación en las esquinas. La disminución de peso fue mayoritariamente de carácter leve a moderado.

5.2 ASPECTOS LESIONALES MACROSCÓPICOS EN SALMONÍDEOS INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2.

A continuación, en la Tabla 4, se presentan las lesiones externas macroscópicas observadas en salmones Coho (*O. kisutch*) y del Atlántico (*S. salar*), inoculados experimentalmente con U2.

TABLA 4

LESIONES EXTERNAS MACROSCÓPICAS EN SALMONES COHO (*O. kisutch*) Y DEL ATLÁNTICO (*S. salar*), INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2.

TIPOS DE SALMONÍDEOS	ALTERACIONES MACROSCÓPICAS EXTERNAS							
	Oscurecimiento del Dorso		Hemorragias en Base de las Aletas		Congestión Branquial		Palidez Branquial	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
S. COHO (n=19)	4	21,0	11	57,8	3	15,7	11	57,8
S. DEL ATLÁNTICO (n=23)	0	0,0	7	30,4	1	4,3	7	30,4
TOTAL (n=42)	4	9,5	18	42,8	4	9,5	18	42,8

Las lesiones externas macroscópicas más frecuentes en salmones Coho (*O. kisutch*) fueron las hemorragias en la base de las aletas (57,8%) y la palidez branquial (57,8%). En cambio, en los salmones del Atlántico (*S. salar*) ambos cuadros evidenciaron porcentajes inferiores de presentación (30,4%).

En la Tabla 5, se observa las lesiones macroscópicas internas en salmones Coho (*O. kisutch*) y Atlántico (*S. salar*), inoculados experimentalmente con U2.

TABLA 5

LESIONES MACROSCÓPICAS EN HÍGADOS, RÍÑONES Y BAZOS DE SALMONES COHO (*O. kisutch*) Y DEL ATLÁNTICO (*S. salar*), INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2

TIPOS DE SALMONÍDEOS	ALTERACIONES MACROSCÓPICAS					
	Hígados		Riñones		Bazos	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
S. COHO (n=19)	14	73,6	11	57,8	7	36,8
S. DEL ATLÁNTICO (n=23)	12	52,1	7	30,4	18	75,0
TOTAL (n=42)	26	61,9	18	42,8	25	59,5

El órgano más frecuentemente afectado en salmón Coho (*O. kisutch*) fue el hígado (73,6%), en cambio en salmón del Atlántico (*S. salar*), el bazo (75,0%).

A continuación, en la Tabla 6, se presentan los tipos de lesiones macroscópicas observadas en hígados, riñones y bazos de salmones Coho (*O. kisutch*) y del Atlántico (*S. salar*), inoculados experimentalmente con U2.

TABLA 6

LESIONES MACROSCÓPICAS EN HÍGADOS, RÍÑONES Y BAZOS DE SALMONES COHO (*O. kisutch*) Y DEL ATLÁNTICO (*S. salar*), INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2.

TIPOS DE SALMONIDEOS	TIPOS DE LESIONES MACROSCÓPICAS											
	Hígados						Riñones				Bazos	
	Palidez		Congestión		Hepatomegalia		Congestión		Nefromegalia		Esplenomegalia	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
S. COHO (n=19)	6	31,5	1	5,2	8	42,1	6	31,5	9	47,3	7	36,8
S. DEL ATLÁNTICO (n=23)	5	21,7	4	17,3	3	13,0	0	0,0	7	30,4	18	78,2
TOTAL (n=42)	11	26,1	5	11,9	11	26,1	6	14,2	16	38,0	25	59,5

La lesión más frecuente en los hígados de los salmones Coho (*O. kisutch*) fue la hepatomegalia (42,1%), en cambio, en los salmones del Atlántico (*S. salar*) la palidez (21,7%). En los riñones de salmones Coho (*O. kisutch*) (47,3%) y del Atlántico (*S. salar*) (30,4%), la lesión más significativa fue la nefromegalia. Llama la atención que en salmón del Atlántico (*S. salar*) no se observó congestión. Finalmente, en salmón Coho (*O. kisutch*) (36,8%) y salmón del Atlántico (*S. salar*) (78,2%) se observó esplenomegalia.

5.3 ASPECTOS LESIONALES MICROSCÓPICOS EN SALMONÍDEOS INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2.

En la Tabla 7, se observan los trastornos hepáticos microscópicos en salmónes Coho (*O. kisutch*) y del Atlántico (*S. salar*), inoculados experimentalmente con U2.

TABLA 7

TRASTORNOS HEPÁTICOS MICROSCÓPICOS EN SALMONES COHO (*O. kisutch*) Y DEL ATLÁNTICO (*S. salar*),
INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2.

TIPOS DE SALMONÍDEOS	TIPOS DE TRASTORNOS HEPÁTICOS									
	Del Crecimiento		Circulatorios		Degenerativos		Inflamatorios		Necróticos	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
S. COHO (n=19)	18	94,7	10	52,6	19	100,0	17	89,4	18	94,7
S. DEL ATLÁNTICO (n=22)	21	95,4	5	22,7	22	100,0	21	95,4	21	95,4
TOTAL (n=41)	39	95,1	15	36,5	41	100,0	38	92,6	39	95,1

De los trastornos hepáticos, las afecciones degenerativas se observaron en el 100,0% de los casos, en las dos especies de salmonídeos en estudio. De igual forma, los trastornos necróticos, del crecimiento e inflamatorios se diagnosticaron en porcentajes superiores al 90% en ambas especies, sólo los trastornos circulatorios evidenciaron porcentajes menores.

A continuación, en la Tabla 8, se presentan los trastornos del crecimiento en hígados de salmónes Coho (*O. kisutch*) y del Atlántico (*S. salar*), inoculados experimentalmente con U2.

TABLA 8

TRASTORNOS DEL CRECIMIENTO EN HÍGADOS DE SALMONES COHO (*O. kisutch*) Y DEL ATLÁNTICO (*S. salar*), INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2.

TIPOS DE SALMONÍDEOS	TRASTORNOS DEL CRECIMIENTO HEPÁTICOS					
	Atrofia		Proliferación De Conductos Biliares		Hiperplasia Células de Küpffer	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
S. COHO (n=19)	15	78,9	15	78,9	8	42,1
S. DEL ATLÁNTICO	16	72,7	6	27,2	6	27,2
TOTAL (n=41)	31	75,6	21	51,2	14	34,1

En cuanto a los trastornos del crecimiento, se aprecia que en los hígados de los salmónes Coho (*O. kisutch*), la atrofia y proliferación de conductos biliares se presentaron con mayor frecuencia (78,9% c/u). En cambio, en los salmónes del Atlántico (*S. salar*), la lesión más importante la constituyó la atrofia (72,7%).

En la Tabla 9, se presentan los trastornos circulatorios en los hígados de salmónes Coho (*O. kisutch*) y del Atlántico (*S. salar*), inoculados experimentalmente con U2.

TABLA 9

TRASTORNOS CIRCULATORIOS EN HÍGADOS DE SALMONES COHO (*O. kisutch*) Y DEL ATLÁNTICO (*S. salar*), INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2.

TIPOS DE SALMONÍDEOS	TRASTORNOS CIRCULATORIOS HEPÁTICOS			
	Congestión		Hemorragia	
	Nº	%	Nº	%
S. COHO (n=19)	7	36,8	3	15,7
S. DEL ATLÁNTICO (n=22)	5	22,7	1	4,5
TOTAL (n=41)	12	29,2	4	9,7

Los trastornos circulatorios hepáticos son de baja presentación en ambos tipos de salmo ni déos. La congestión evidenció porcentajes superiores a la hemorragia en ambas especies estudiadas.

En la Tabla 10, se presentan los trastornos degenerativos en los hígados de salmones Coho (*O. kisutch*) y del Atlántico (*S. salar*), inoculados experimentalmente con U2.

TABLA 10

TRASTORNOS DEGENERATIVOS EN HÍGADOS DE SALMONES COHO (*O. kisutch*) Y DEL ATLÁNTICO (*S. salar*), INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2.

TIPOS DE SALMONÍDEOS	TRASTORNOS DEGENERATIVOS HEPÁTICOS					
	Proteicos				Lipidíeos	
	Tumefacción Turbia		Degeneración Vacuolar		Degeneración Grasa	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
S. COHO (n=19)	17	89,4	18	94,7	2	10,5
S. DEL ATLÁNTICO	17	77,2	15	68,1	8	36,3
TOTAL (n=41)	34	82,9	33	80,4	10	24,3

La alteración degenerativa más frecuente en salmones Coho (*O. kisutch*) fue la degeneración vacuolar (94,7%). En cambio, en los salmones del Atlántico (*S. salar*), la tumefacción turbia (77,2%). Por otra parte, se aprecia que en salmones Coho (*O. kisutch*) y del Atlántico (*S. salar*), la degeneración grasa constituyó la patología con menor porcentaje de presentación (10,5% y 36,3%, respectivamente).

A continuación, en la Tabla 11, se presentan los trastornos inflamatorios en hígados de salmones Coho (*O. kisutch*) y del Atlántico (*S. salar*), inoculados experimentalmente con U2.

TABLA 11

TRASTORNOS INFLAMATORIOS EN HÍGADOS DE SALMONES COHO (*O.kisutch*) Y DEL ATLÁNTICO (*S. salar*), INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2.

TIPOS DE SALMONÍDEOS	TRASTORNOS INFLAMATORIOS HEPÁTICOS									
	Agudos		Crónicos							
	Infiltrado Neutrofílico		Infiltrado Linfocitario		Infiltrado Células Melanomacrofágicas		Infiltrado Histiocitario		Infiltrado Fibroblástico	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
S. COHO (n=19)	0	0,0	3	15,7	3	15,7	14	73,6	15	78,9
S. DEL ATLÁNTICO	2	9,0	4	18,1	11	50,0	16	72,7	12	54,5
TOTAL (n=41)	2	4,8	7	17,0	14	34,1	30	73,1	27	65,8

De la presente Tabla, se desprende que los hígados de salmónes Coho (*O. kisutch*), no presentaron trastornos inflamatorios agudos, a diferencia de los salmónes del Atlántico (*S. salar*), en los que se apreció infiltrado neutrofilico (9,0%). Por otra parte, los trastornos inflamatorios crónicos más frecuentes en salmónes Coho (*O. kisutch*), lo constituyeron el infiltrado fibroblástico (78,9%) e histiocitario (73,6%). En cambio, en los salmónes del Atlántico (*S. salar*), la alteración inflamatoria crónica de mayor presentación fue el infiltrado histiocitario (72,7%).

En la tabla 12, se presentan los trastornos necróticos en hígados de salmones Coho (*O. kisutch*) y del Atlántico (*S. salar*), inoculados experimentalmente con U2.

TABLA 12

TRASTORNOS NECRÓTICOS EN HÍGADOS DE SALMONES COHO (*O. kisutch*) Y DEL ATLÁNTICO (*S. salar*), INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2.

TIPOS DE SALMONÍDEOS	TRASTORNOS NECRÓTICOS HEPÁTICOS							
	Celulares						Parenquimatosos	
	Picnosis		Cariorrexis		Caríolisis		Disociación Trabecular	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
S. COHO (n=19)	18	94,7	15	78,9	17	89,4	14	73,6
S. DEL ATLÁNTICO (n=22)	21	95,4	12	54,5	15	68,1	13	59,0
TOTAL (n=41)	39	95,1	27	65,8	32	78,0	27	65,8

El trastorno necrótico hepático más frecuente fue la picnosis, en los salmones Coho (*O. kisutch*) (94,7%) y del Atlántico (*S. salar*) (95,4%). En relación a los trastornos necróticos parenquimatosos, se observó disociación trabecular en salmones Coho (*O. kisutch*) (73,6%) y del Atlántico (*S. salar*) (59,0%).

A continuación, en la Tabla 13, se presentan los trastornos renales microscópicos en salmones Coho (*O. kisutch*) y del Atlántico (*S. salar*), inoculados experimentalmente con U2.

TABLA 13

TRASTORNOS RENALES MICROSCÓPICOS EN SALMONES COHO (*O. kisutch*) Y DEL ATLÁNTICO (*S. salar*),
INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2.

TIPOS DE SALMONÍDEOS	TIPOS DE TRASTORNOS RENALES									
	Del Crecimiento		Circulatorios		Degenerativos		Inflamatorios		Necróticos	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
S. COHO (n=18)	11	61,1	9	50,0	18	100,0	13	72,2	18	100,0
S. DEL ATLÁNTICO (n=23)	18	78,2	8	34,7	23	100,0	23	100,0	23	100,0
TOTAL (n=41)	29	70,7	17	41,4	41	100,0	36	87,8	41	100,0

En salmónes Coho (*O. kisutch*) y del Atlántico (*S. salar*), las lesiones renales más frecuentes fueron los trastornos degenerativos y necróticos, observados en la totalidad de los peces en estudio (100,0%). Los trastornos circulatorios constituyeron la alteración de menor presentación en salmónes Coho (*O. kisutch*) (50,0%) y del Atlántico (*S. salar*) (34,7%).

En la Tabla 14, se presentan los trastornos degenerativos en riñones de salmones Coho (*O. kisutch*) y del Atlántico (*S. salar*), inoculados experimentalmente con U2.

TABLA 14

TRASTORNOS DEGENERATIVOS EN RIÑONES DE SALMONES COHO (*O. kisutch*) Y DEL ATLÁNTICO (*S. salar*), INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2.

TIPOS DE SALMONÍDEOS	TRASTORNOS DEGENERATIVOS RENALES					
	Proteicos					
	Tumefacción Turbia		Degeneración Vacuolar		Degeneración Hialina	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
S. COHO (n=18)	15	83,3	18	100,0	15	83,3
S. DEL ATLÁNTICO (n=23)	20	86,9	23	100,0	19	82,6
TOTAL (n=41)	35	85,3	41	100,0	34	82,9

De los trastornos degenerativos diagnosticados a nivel renal, la degeneración vacuolar constituyó el trastorno más significativo, observándose en la totalidad de las muestras analizadas en ambas especies (100,0%). Otras afecciones como la tumefacción turbia y degeneración hialina se evidenciaron en porcentajes levemente inferiores (85,3% y 82,9%, respectivamente).

En relación a los **Trastornos del Crecimiento Renales**, la única lesión observada fue **Atrofia**, la cual se diagnosticó en el 61,1% de los salmones Coho (*O. kisutch*) y en el 78,2% de los salmones del Atlántico (*S. salar*).

En cuanto a los **Trastornos Circulatorios**, la **Congestión** se apreció en el 50,0% de los salmones Coho (*O. kisutch*) y en el 34,7% de los salmones del Atlántico (*S. salar*).

A continuación, en la Tabla 15, se aprecian los trastornos inflamatorios en riñones de salmones Coho (*O. kisutch*) y del Atlántico (*S. salar*), inoculados experimentalmente con U2.

TABLA 15

TRASTORNOS INFLAMATORIOS EN RÍÑONES DE SALMONES COHO (*O. kisutch*) Y DEL ATLÁNTICO (*S. salar*), INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2.

TIPOS DE SALMONÍDEOS	TRASTORNOS INFLAMATORIOS RENALES							
	Agudos		Crónicos					
	Infiltrado Neutrofílico		Infiltrado Linfocitario		Infiltrado Células Melanomacrofágicas		Infiltrado Fibroblástico	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
S. COHO (n=18)	1	5,5	6	33,3	11	61,1	1	5,5
S. DEL ATLÁNTICO (n=23)	2	8,6	13	56,5	23	100,0	4	17,3
TOTAL (n=41)	3	7,3	19	46,3	34	82,9	5	12,1

Los trastornos inflamatorios renales de carácter agudo se observaron en bajo porcentaje en los salmones Coho (*O. kisutch*) (5,5%) y del Atlántico (*S. salar*) (8,6%). En relación a procesos crónicos, llama la atención el infiltrado de células melanomacrofágicas en salmones Coho (*O. kisutch*) (61,1%) y del Atlántico (*S. salar*) (100,0%).

En la Tabla 16, se presentan los trastornos necróticos en riñones de salmones Coho (*O. kisutch*) y del Atlántico (*S. salar*), inoculados experimentalmente con U2.

TABLA 16

TRASTORNOS NECRÓTICOS EN RIÑONES DE SALMONES COHO (*O. kisutch*) Y DEL ATLÁNTICO (*S. salar*), INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2

TIPOS DE SALMONÍDEOS	TRASTORNOS NECRÓTICOS CELULARES RENALES							
	Pérdida De Polaridad Nuclear		Picnosis		Cario rrexis		Cariolisis	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
S. COHO (n=18)	18	100,0	18	100,0	15	83,3	15	83,3
S. DEL ATLÁNTICO (n=23)	23	100,0	23	100,0	15	65,2	15	65,2
TOTAL (n=41)	41	100,0	41	100,0	30	73,1	30	73,1

En la totalidad de los salmones Coho (*O. kisutch*) y del Atlántico (*S. salar*) se apreció pérdida de la polaridad nuclear y picnosis. En cambio, cariorrexis y cariolisis se evidenciaron en forma más frecuente, en salmones Coho (*O. kisutch*) (83,3%).

A continuación, en la Tabla 17, se presentan los trastornos espiemeos microscópicos en salmones Coho (*O. kisutch*) y del Atlántico (*S. salar*), inoculados experimentalmente con U2.

TABLA 17

TRASTORNOS ESPLÉNICOS MICROSCÓPICOS EN SALMONES COHO (*O. kisutch*) Y DEL ATLÁNTICO (*S. salar*), INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2

TIPOS DE SALMONÍDEOS	TIPOS DE TRASTORNOS ESPLÉNICOS							
	Del Crecimiento		Circulatorios		Degenerativos		Necróticos	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
S. COHO (n=12)	11	91,6	3	25,0	9	75,0	5	41,6
S. DEL ATLÁNTICO (n=21)	20	95,2	12	57,1	13	61,9	14	66,6
TOTAL (n=33)	31	93,9	15	45,4	22	66,6	19	57,5

Los trastornos espiemeos más frecuentes fueron los del crecimiento, en salmones Coho (*O. kisutch*) (91,6%) y del Atlántico (*S. salar*) (95,2%). Por otra parte, los trastornos microscópicos con menor porcentaje de presentación lo constituyeron las afecciones circulatorias, en salmones Coho (*O. kisutch*) (25,0%) y del Atlántico (*S. Salar*) (57,1%).

En la Tabla 18, se observan los trastornos del crecimiento en bazos de salmones Coho (*O. kisutch*) y del Atlántico (*S. salar*), inoculados experimentalmente con U2.

TABLA 18

TRASTORNOS DEL CRECIMIENTO EN BAZOS DE SALMONES COHO (*O. kisutch*) Y DEL ATLÁNTICO (*S. salar*), INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2.

TIPOS DE SALMONÍDEOS	TRASTORNOS DEL CRECIMIENTO ESPLÉNICO					
	Hiperplasia Células Melanomacrofágicas		Hiperplasia Células Reticulares		Depresión Linfoide	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
S. COHO (n=12)	5	41,6	8	66,6	4	33,3
S. DEL ATLÁNTICO (n=21)	13	61,9	12	57,1	12	57,1
TOTAL (n=33)	18	54,5	20	60,6	16	48,4

En los salmones Coho (*O. kisutch*), el trastorno del crecimiento de mayor presentación fue la hiperplasia de las células reticulares (66,6%), seguida de la hiperplasia de células melanomacrofágicas (41,6%) y depresión linfoide (33,3%). En los salmones del Atlántico (*S. salar*), el trastorno más frecuente fue la hiperplasia de células melanomacrofágicas (61,9%), seguida de hiperplasia de células reticulares (57,1%) y depresión linfoide (57,1%).

En la Tabla 19, se presentan los trastornos circulatorios en bazos de salmones Coho (*O. kisutch*) y del Atlántico (*S. salar*), inoculados experimentalmente con U2.

TABLA 19

TRASTORNOS CIRCULATORIOS EN BAZOS DE SALMONES COHO (*O. kisutch*) Y DEL ATLÁNTICO (*S. salar*), INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2.

TIPOS DE SALMONÍDEOS	TRASTORNOS CIRCULATORIOS ESPLENICOS			
	Congestión		Hemorragia	
	Nº	%	Nº	%
S. COHO (n=12)	1	8,3	2	16,6
S. DEL ATLÁNTICO (n=21)	5	23,8	10	47,6
TOTAL (n=33)	6	18,1	12	36,3

La alteración circulatoria esplénica más importante fue la hemorragia, en los salmones del Atlántico (*S. salar*) (47,6%) y Coho (*O. kisutch*) (16,6%).

A continuación, en la Tabla 20, se presentan los trastornos degenerativos en bazos de salmónes Coho (*O. kisutch*) y del Atlántico (*S. salar*), inoculados experimentalmente con U2.

TABLA 20

TRASTORNOS DEGENERATIVOS EN BAZOS DE SALMONES COHO (*O. kisutch*) Y DEL ATLÁNTICO (*S. salar*), INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2.

TIPOS DE SALMONÍDEOS	TRASTORNOS DEGENERATIVOS			
	Proteicos			
	Degeneración Vacuolar		Degeneración Hialina	
	Nº	%	Nº	%
S. COHO (n=12)	9	75,0	2	16,6
S. DEL ATLÁNTICO (n=21)	12	57,1	3	14,2
TOTAL (n=33)	21	63,6	5	15,1

La alteración degenerativa de mayor presentación fue la degeneración vacuolar en salmónes Coho (*O. kisutch*) (75,0%) y del Atlántico (*S. salar*) (57,1%), seguida de degeneración hialina en porcentajes inferiores.

En la Tabla 21, se presentan los trastornos necróticos en los salmones Coho (*O. kisutch*) y del Atlántico (*S. salar*), inoculados experimentalmente con U2.

TABLA 21

TRASTORNOS NECRÓTICOS EN BAZOS DE SALMONES COHO (*O. kisutch*) Y DEL ATLÁNTICO (*S. salar*), INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2.

TIPOS DE SALMONÍDEOS	TRASTORNOS NECRÓTICOS CELULARES					
	Picnosis		Cariorrexis		Cariolisis	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
S. COHO (n=12)	5	41,6	4	33,3	4	33,3
S. DEL ATLÁNTICO (n=21)	14	66,6	12	57,1	12	57,1
TOTAL (n=33)	19	57,5	16	48,4	16	48,4

Tanto en los salmones Coho (*O. kisutch*), como del Atlántico (*S. salar*) el trastorno necrótico celular más frecuente lo constituyó la picnosis. La cariorrexis y cariolisis se observaron con igual frecuencia en salmones Coho (*O. kisutch*) (33,3%). De igual forma, ambas patologías se apreciaron en idéntico porcentaje (57,1%) en los salmones del Atlántico (*S. salar*)

6. DISCUSION

En 1989, un organismo tipo rickettsial, denominado UA ("TJnidentified Agent"), fue responsable de elevadas mortalidades en cultivos de salmónes Coho (*O. kisutch*) en el sur de Chile. El primer reporte del agente etiológico del "Síndrome del Salmón Coho", fue realizado en 1989 por Bravo y Campos. Durante el mismo año fue aislado y la enfermedad se denominó "Síndrome Rickettsial Salmonídeo" (S.R.S.) (Cvitanich y col., 1990). Finalmente, en 1992, el agente fue denominado *Piscirickettsia salmonis* (Fryer y col., 1992).

En diciembre de 1994 y enero de 1995, un nuevo organismo tipo rickettsial fue aislado a partir de salmónes del Atlántico (*S. salar*) (Cvitanich y col., 1995); mientras que en junio de 1997, se efectuó un segundo aislamiento, esta vez en puyes (*G. maculatus*) procedentes del lago Llanquihue (Enríquez y col., 1998). Por tratarse de un agente no identificado, se le denominó UA-2 o U2 (Cvitanich y col., 1995).

Debido a la escasa información existente en relación al cuadro originado por U2, la presente investigación se centró en caracterizar la enfermedad en salmónes Coho (*O. kisutch*) y del Atlántico (*S. salar*), desde el punto de vista clínico y aspectos lesionales macro y microscópicos en hígados, riñones y bazo de peces inoculados experimentalmente. De acuerdo a antecedentes reportados por Cvitanich (1995), U2 cursa con infección sistémica, los peces infectados presentan pequeño tamaño, coloración normal o levemente oscura, cierto grado de emaciación y palidez branquial. Por otra parte, el mismo autor señala que las alteraciones patológicas más significativas se han observado en los órganos mencionados anteriormente.

Los resultados obtenidos en el presente estudio señalan que, tanto salmónes Coho (*O. kisutch*) como del Atlántico (*S. salar*), presentaron signología clínica asociada con U2 (Tabla 1). En el caso de los salmónes del Atlántico (*S. salar*), el signo clínico más frecuente lo constituyó la agrupación en las esquinas, característica que se presentó en la totalidad de los peces. Por el contrario, en salmón Coho (*O. kisutch*) este aspecto se evidenció en menor porcentaje (31,5%). Otra diferencia entre ambas especies, lo constituyó la presencia de letargía, la cual se observó en alto porcentaje (73,6%) en salmón Coho (*O. kisutch*), mientras que en salmón del Atlántico (*S. salar*) esta característica clínica estuvo ausente.

En relación al tiempo de presentación de signos clínicos en salmónes Coho (*O. kisutch*) (Gráfico 1), la letargía, natación superficial y disminución de la ingesta, fueron los primeros signos en evidenciarse, apreciándose hasta el día 23 post inoculación.

Dichos signos se observan frecuentemente en salmonídeos cultivados y sus causas son diversas, como por ejemplo cuadros anémicos o con presencia de lesiones hemorrágicas, afecciones branquiales, emaciación, stress por transporte o cambios de temperatura (Kinkelin, 1985). Por otra parte, la disminución de la ingesta se observó a partir del día 22 y la disminución de peso a partir del día 43 post inoculación. En el caso de la disminución de ingesta, ésta es una condición comúnmente observada en explotaciones intensivas, sin embargo, se presenta con mayor frecuencia en periodos de elevación térmica (Kinkelin, 1985).

En salmones del Atlántico (*S. salar*), la característica "agrupación en esquinas" se evidenció a partir del día 13 post inoculación (Gráfico 2); esta condición es más evidente en estanques y se presenta, especialmente, en caso de afecciones branquiales o a nivel de las aletas. Por otra parte, la disminución de la ingesta se evidenció a partir del día 12 y la disminución de peso desde el día 28 post inoculación.

En los salmones Coho (*O. kisutch*) inoculados con U2, la letargia no constituye un buen indicador en el diagnóstico clínico de esta enfermedad, debido a que si bien es cierto fue una característica observada frecuentemente, el grado de severidad de la misma es leve en la mayoría de los casos (Tabla 2). En relación a los salmones del Atlántico (*S. salar*), la agrupación en esquinas es una característica constante en infecciones con U2, apreciándose un marcado grado de severidad (Tabla 3), sin embargo, esta característica clínica es inespecífica, razón por la cual, no constituye un buen indicador de este cuadro.

Tanto U2, como *P. salmonis*, originan signología inespecífica, cuya presentación y severidad depende del grado de infección (Tablas 1, 2 y 3). Cabe señalar que las alteraciones clínicas observadas en infecciones experimentales con U2, también han sido descritas en otros cuadros infecciosos originados por organismos tipo rickettsial (Kent, 1992; Brocklebank y col., 1993; Rodger y Orinan, 1993; Palmer y col., 1996; Olsen y col., 1997).

En relación con la presencia de lesiones externas macroscópicas, en salmones Coho (*O. kisutch*) y del Atlántico (*S. salar*) inoculados experimentalmente con U2, el mayor porcentaje correspondió a hemorragias en la base de las aletas y palidez branquial (Tabla 4). Adicionalmente, en ambas especies se apreció congestión branquial y en los salmones Coho (*O. kisutch*) oscurecimiento del dorso. Al respecto, Cvitanich y col. (1995) y Enríquez y col. (1998), han descrito idénticas alteraciones en peces infectados naturalmente con U2.

De las lesiones macroscópicas encontradas en salmones Coho (*O. kisutch*) y del Atlántico (*S. salar*), las más importantes se relacionan con alteraciones circulatorias. Kinkelin (1985) señala que la presencia de lesiones hemorrágicas en la inserción de las aletas y zona perianal se debe mayoritariamente a septicemias causadas por bacterias

Gram negativas. Dichas alteraciones son concordantes con las hemorragias detectadas en los peces inoculados con **U2**. Por otra parte, es importante señalar que el daño vascular en casos de Piscirickettsiosis, se asemeja a cuadros descritos en afecciones rickettsiales en otras especies animales (especialmente mamíferos) (Jones y Hunt, 1983; Jubb y col., 1985). El oscurecimiento del dorso en los peces inoculados con **U2**, constituye una característica inespecífica, ya que la epidermis de los peces posee células melanomacrofágicas (Ferguson, 1989) las que responden a diferentes noxas, incrementando la melanina y por ende, imprimiéndole color más oscuro a la piel.

En cuadros originados por *P. salmonis*, las lesiones externas en peces infectados natural y experimentalmente son similares a las encontradas en el presente estudio, en que se observó oscurecimiento de la piel, hemorragias perianales, periorbitales, abdominales y en la base de las aletas, además de palidez branquial debido a anemia (Alvarado y col., 1990a; Cubillos y col., 1990; Gárate, 1990; Branson y Nieto, 1991; Cvitanich y col., 1991). En Canadá, Irlanda y Noruega, en salmonídeos, se han reportado cuadros con signología similar a la observada en el presente estudio (Kent, 1992; Brocklebank, 1993; Rodger y Orinan, 1993; Palmer y col., 1996; Olsen y col., 1997). En Escocia se logró el aislamiento de organismos tipo rickettsial a partir de salmones del Atlántico (*S. salar*), los cuales evidenciaron signología neurológica y alta mortalidad (Grant, 1996).

En relación con las lesiones macroscópicas internas (Tabla 5), en salmones Coho (*O. kisutch*), el órgano más afectado lo constituyó el hígado, en cambio, en salmones del Atlántico (*S. salar*), el bazo. Cubillos y col., (1990) han reportado que el principal órgano afectado por *P. salmonis*, en salmón Coho (*O. kisutch*) lo constituye el riñón, a diferencia del salmón del Atlántico (*S. salar*), en el cual el hígado es el más comprometido.

A la necropsia, en los salmones Coho (*O. kisutch*) inoculados con **U2**, las alteraciones más frecuentes correspondieron a nefromegalia, seguida de hepatomegalia, esplenomegalia, palidez y congestión hepática y renal (Tabla 6). En el caso de salmones del Atlántico (*S. salar*), la alteración más importante la constituyó la esplenomegalia. Al respecto, Cvitanich y col. (1995), describen que en salmones del Atlántico (*S. salar*) infectados con **U2**, los riñones se aprecian más pequeños y de coloración gris oscura, los bazos edematosos y con puntillado blanco. En el caso de puyes (*G. maculatus*) afectados con **U2**, Enríquez y col. (1998), han descrito órganos de aspecto anémico, además de hepatomegalia y esplenomegalia (con múltiples nodulos blanquecinos de 1-2 mm). En el caso de infecciones por *P. salmonis*, también se ha descrito hepatomegalia (con nodulos blancos), esplenomegalia y nefromegalia en distintos grados de severidad (Bravo y Campos, 1989; Gárate, 1990; Branson y Nieto, 1991; Fryer y Lannan, 1992). Otras lesiones reportadas por Garcés y col. (1991) en S.R.S., lo han constituido la palidez del hígado y bazo además, de congestión renal.

En relación con las alteraciones microscópicas en los hígados (Tabla 7), los trastornos degenerativos se evidenciaron en la totalidad de los salmones Coho (*O. kisutch*) y del Atlántico (*S. salar*), siendo más frecuentes la tumefacción turbia y degeneración vacuolar (Tabla 10). Los trastornos necróticos (Tabla 12), se observaron en alto porcentaje, tanto a nivel celular como parenquimatoso, evidenciándose disociación trabecular, cariorrexis, cariólisis y picnosis, en ambos tipos de salmonídeos.

Los trastornos circulatorios hepáticos constituyeron las afecciones en menor porcentaje (Tabla 7). Cabe señalar la presencia de congestión en ambos tipos de salmonídeos inoculados con U2 (Tabla 9). La congestión crónica desencadena reacción fibroblástica, teniendo como origen falla cardíaca o respiratoria. Al respecto, la palidez branquial en cuadros con U2 se relaciona con el daño tisular presente en el corazón y branquias (Cvitanich y col., 1995; Enríquez y col., 1998). Otro trastorno microscópico en los hígados de los salmones Coho (*O. kisutch*) y del Atlántico (*S. salar*) lo constituyó la atrofia (Tabla 8), patología que se relaciona principalmente con la disminución de la ingesta de alimento, condición que si bien es cierto fue diagnosticada en ambos tipos de salmonídeos inoculados con U2, es de carácter inespecífico, ya que cuando los peces dejan de comer los hepatocitos disminuyen de tamaño.

En cuanto a los trastornos inflamatorios en hígados, en ambos tipos de salmonídeos se observaron procesos de carácter crónico (Tabla 11), siendo las alteraciones más frecuentes el infiltrado histiocitario y fibroblástico. Este tipo de respuesta inflamatoria se relaciona con la presencia de U2. En el caso particular de los salmones del Atlántico (*S. salar*), también se observó infiltrado neutrofílico (Tabla 11), indicativo de cuadros agudos, ya que dichas células son las primeras en participar en la respuesta inflamatoria. Este tipo de infiltrado se aprecia cuando el agente etiológico es de origen bacteriano o micótico, sin embargo, su presencia también se ha observado en infecciones rickettsiales (Jones y Hunt, 1983) concordando con los hallazgos de la presente investigación.

En el caso de salmones Coho (*O. kisutch*) inoculados con U2, a nivel hepático destaca la hiperplasia de las células de Küpffer (Tabla 8), que se relaciona con respuesta del Sistema Fagocítico Mononuclear. De acuerdo a Kinkelin (1985), la fagocitosis es un mecanismo esencial de defensa antibacteriana en los peces, razón por la cual es posible inferir que la hiperplasia de las células de Küpffer se relaciona con la presencia de U2. Otro aspecto diferencial lo constituye la proliferación de conductos biliares (Tabla 8), mecanismo compensatorio debido a problemas obstructivos. El mayor porcentaje de presentación observado en salmón Coho (*O. kisutch*), se debe al infiltrado fibroblástico (Tabla 11), el cual origina destrucción del parénquima y compromiso de los conductos biliares.

De acuerdo a observaciones realizadas por Cvitanich y col (1995), los hígados de peces infectados con U2 presentan tumefacción turbia, necrosis difusa moderada y

hepatitis generalizada con presencia de granulomas. Adicionalmente, se han observado células melanomacrofágicas y severa vasculitis. En el caso de puyes (*G. maculatus*) afectados con U2, Enríquez y col. (1998), han descrito lesiones similares. Por otra parte, en cuadros originados por *P. salmonis* destaca la presencia de lesiones necróticas, infiltrado celular y vasculitis necrotizante aguda con trombosis (Cubillos y col., 1990; Gárate, 1990; Branson y Nieto, 1991; Cvitanich y col., 1991; Almendras y Fuentealba, 1997).

De las alteraciones microscópicas presentes en riñones (Tabla 13), los trastornos degenerativos y necróticos se evidenciaron en la totalidad de salmones Coho (*O. kisutch*) y del Atlántico (*S. salar*). En relación a las alteraciones degenerativas, se evidenció tumefacción turbia, degeneración vacuolar y degeneración hialina (Tabla 14). Al desencadenarse un proceso infeccioso en el organismo, primero se desarrolla tumefacción turbia, seguida de degeneración vacuolar y finalmente degeneración grasa. Dichas lesiones se relacionan con la presencia de U2.

En cuanto a la degeneración hialina (Tabla 14), este trastorno es típico de las células epiteliales de los túbulos renales y se visualiza como granulos eosinofílicos en el citoplasma de las células. En el caso de infecciones causadas por *P. salmonis*, Cubillos y col. (1990), describen degeneración hialina en gota en el epitelio tubular, acompañada de degeneración vacuolar del epitelio tubular y ovillo glomerular.

En cuanto a los trastornos necróticos en riñones (Tabla 16), los más frecuentes fueron pérdida de polaridad nuclear y picnosis, alteraciones presentes en la totalidad de los casos, en ambos tipos de salmonídeos inoculados. La necrosis puede originarse por numerosas causas, entre las cuales se incluyen tóxicos y metabolitos producidos por bacterias (Gázquez, 1991). En el caso específico de U2, la literatura no ha reportado la producción de toxinas, de tal modo, que el daño presente es posible que se deba a metabolitos, los cuales serían responsables de la necrosis celular. Cvitanich y col. (1995), señalan que peces infectados con U2, presentan moderada necrosis del epitelio tubular. Por otra parte, Enríquez y col. (1998), han reportado en riñones de puyes (*G. maculatus*) focos necróticos e infiltrado macrofágico, semejante al observado en hígado.

Otras lesiones en riñón han sido la atrofia y congestión, presentes en bajo porcentaje en las especies de salmonídeos en estudio» Cubillos y col. (1990), han descrito congestión difusa en cuadros producidos por *P. salmonis*, señalando que la principal característica histológica a nivel del parénquima renal en dicha condición, es la necrosis del tejido hematopoyético, lesión también descrita por otros autores (Gárate, 1990; Branson y Nieto, 1991; Lannan y Fryer, 1993).

En relación con los trastornos inflamatorios renales (Tabla 15), se diagnosticaron cuadros agudos y crónicos, en ambos tipos de salmonídeos. El infiltrado de células melanomacrofágicas, especialmente en riñón y bazo, son indicativas de un activo proceso de fagocitosis que responde a la presencia de **U2** en los tejidos. Cvitanich y col. (1995) han descrito en cuadros rickettsiales, incremento de las células melanomacrofágicas en el tejido hematopoyético. Por otra parte, Enríquez y col. (1998) en el corion de la mucosa y submucosa del estómago en puyes (*G. maculatus*), diagnosticaron múltiples focos histiocitarios con presencia de **U2**. Cubillos y col. (1990) señalan que en el caso de cuadros originados por *P. salmonis*, la rickettsia puede encontrarse en cualquier órgano y tejido, localizándose en el citoplasma de los macrófagos.

En el bazo (Tabla 17), los trastornos microscópicos más frecuentes fueron los del crecimiento, tanto en salmónes Coho (*O. kisutch*) como del Atlántico (*S. salar*). Además, se observaron trastornos circulatorios, degenerativos y necróticos en porcentajes inferiores.

Los trastornos degenerativos diagnosticados a nivel del bazo fueron (en ambos tipos de salmonídeos) degeneración vacuolar e hialina (Tabla 20). La frecuencia de presentación de la degeneración vacuolar, indica que dicha alteración es originada por **U2**. Con respecto a trastornos necróticos presentes en el bazo (Tabla 21), en ambos tipos de salmonídeos se observaron alteraciones nucleares, cambios que obedecen a la presencia de **U2** en el tejido esplénico.

En relación con los trastornos del crecimiento del bazo (Tabla 18), la alteración más frecuente en salmón Coho (*O. kisutch*) fue la hiperplasia de las células reticulares, en cambio, en salmónes del Atlántico (*S. salar*), la hiperplasia de las células melanomacrofágicas. Tanto las células reticulares del bazo como las melanomacrofágicas pertenecen al Sistema Fagocítico Mononuclear, constituyendo uno de los mecanismos de defensa frente a la presencia de noxas. En el presente estudio, la hiperplasia de las células del Sistema Fagocítico Mononuclear constituye una respuesta frente a la presencia de **U2**. Por otra parte, la depleción linfoide observada en salmónes Coho (*O. kisutch*) y del Atlántico (*S. salar*), ha sido descrita por Cvitanich y col. (1995) en infecciones con este mismo agente.

En cuanto a las alteraciones circulatorias esplénicas (Tabla 19), llama la atención la presencia de hemorragia subcapsular en ambas especies de salmonídeos, este trastorno no ha sido descrito con anterioridad en cuadros originados por **U2** o *P. salmonis*. Cvitanich y col. (1991), señalan que los organismos rickettsiales conducen a lesiones vasculares características, de tal modo que si **U2** es considerado un organismo tipo rickettsial, las lesiones vasculares se relacionan con las hemorragias observadas.

De acuerdo a la literatura, los principales hallazgos histológicos a nivel esplénico en peces infectados con **U2**, lo constituyen el edema de la cápsula, la depleción linfocítica y las lesiones granulomatosas (Cvitanich y col., 1995). Por otra parte, Cubillos y col. (1990) describen en infecciones causadas por *P. salmonis*, severa reacción fibroblástica difusa en el bazo, la cual en ocasiones está acompañada de necrosis miliar, células melanomacrofágicas infectadas, congestión y hemosiderosis leve. Otros investigadores (Gárate, 1990; Branson y Nieto, 1991; Garcés y col., 1991; Lannan y Fryer, 1993) señalan la presencia de inflamación y necrosis difusa del tejido hematopoyético en el S.R.S.

La presencia de **U2** en salmones del Atlántico (*S. salar*), fue confirmada mediante improntas de hígados, riñones y bazos teñidos con Gram y a su vez de cortes histológicos (H/E). En salmones Coho (*O. kisutch*), no fue posible detectar su presencia, lo cual podría relacionarse con una menor susceptibilidad de esta especie, sin embargo, se debe considerar que los peces inoculados evidenciaron signología asociada a **U2**.

Al respecto, es posible que **U2** afecte primero con mayor severidad una especie salmonídea y con posterioridad el resto, en este sentido se deberían realizar monitoreos permanentes, a fin de detectar posibles nuevos casos en otras especies. En el caso de *P. salmonis*, afectó primero al salmón Coho (*O. kisutch*) y posteriormente, al salmón del Atlántico (*S. salar*), trucha Arcoiris (*O. mykiss*) y salmón Chinook (*O. tshawytscha*) (Cvitanich y col., 1991; Lannan y Fryer, 1993),

Infecciones con **U2** han sido reportadas en diferentes especies de salmonídeos, cuyos pesos han fluctuado entre 300 y 500 g (Cvitanich y col., 1995). En la presente investigación, los pesos de los salmones Coho (*O. kisutch*) oscilaron entre 15 y 30 g, lo que sugiere que esta enfermedad presenta mayor susceptibilidad en salmones Coho (*O. kisutch*) adultos. También es posible que el grupo de salmones Coho (*O. kisutch*) utilizados, fuese refractario a la infección. Al respecto, Bravo y Gutiérrez (1994), señalan que la vulnerabilidad de los peces ante diferentes enfermedades, se relaciona directamente con las características del lote, especialmente en lo referente a inmunidad, de tal modo, que el salmón Coho (*O. kisutch*) como especie, sea susceptible a **U2** y que por diversos factores, ya sean genéticos o ambientales, la enfermedad no se logró reproducir.

Además, es importante considerar las condiciones experimentales en las que se realizó la inoculación, especialmente en lo que se refiere a la temperatura. En la X región, la temperatura fluctúa entre 18° y 16°C, rango que no inhibe el metabolismo de los peces, como tampoco su crecimiento. Por otra parte, dicha temperatura no permite un adecuado desarrollo de agentes infecciosos (Samsing, 1998). Cvitanich y col. (1995), señalan que las mortalidades originadas por **U2** se producen entre los 9° y 17°C. En la presente investigación, el rango de temperatura en que se mantuvo a los peces, fluctuó entre 10° y 14°C, lo que en una primera fase permitió el desarrollo del **U2** y su presentación clínica, sin

embargo, debido a la época en que se realizó la inoculación experimental (primavera-verano), la temperatura del agua llegó a los 18°C, lo cual es posible que haya limitado el desarrollo del **U2**, impidiendo su replicación y detección. De igual forma, la temperatura condiciona los parámetros de calidad del agua a los cuales es sensible el pez., tales como el contenido de oxígeno disuelto y disociación del amoníaco (Kinkelin, 1985). Con respecto a esta último, cabe considerar que la presencia de un exceso de amoníaco en el agua puede ser la causa de las lesiones histológicas encontradas.

Finalmente, se debe señalar que si bien es cierto, en la presente investigación no fue posible detectar **U2** en los salmónes Coho (*O. kisutch*), la signología clínica y las lesiones macro y microscópicas descritas en ambas especies de salmonídeos, son concordantes con las observadas por Cvitanich y col. (1995) y Enríquez y col. (1998) en infecciones naturales producidas por dicho agente.

7. CONCLUSIONES

De la presente investigación es posible concluir que:

No fue posible detectar **U2** en los salmones Coho (*O. kisutch*) inoculados intraperitonealmente. No obstante, los peces presentaron signología clínica y aspectos lesionales similares a los observados en los salmones del Atlántico (*S. salar*), en los cuales se logró detectar **U2**.

La signología clínica presente en los salmones Coho (*O. kisutch*) y del Atlántico (*S. salar*) inoculados con **U2**, es inespecífica.

Los salmones Coho (*O. kisutch*) y del Atlántico (*S. salar*) inoculados, cursaron externamente con hemorragias en la base de las aletas y palidez branquial.

A la necropsia, los hallazgos macroscópicos observados con mayor frecuencia en ambas especies de salmonídeos inoculados, fueron esplenomegalia (59,5%), nefromegalia (38,0%) y hepatomegalia (26,1%).

Histopatológicamente, el infiltrado inflamatorio observado en ambas especies, es de tipo histiocitario y fibroblástico. Además, se aprecia marcada activación del Sistema Fagocítico Mononuclear (células de Küpffer en hígado, células melanomacrofágicas en riñon y células reticulares en bazo).

Los salmones Coho (*O. kisutch*) resultaron menos susceptibles a la inoculación experimental con **U2**.

8. BIBLIOGRAFIA

- ALMENDRAS, F., C. FUENTEALBA. 1997. Salmonid rickettsial septicemia caused by *Piscirickettsia salmonis*. areview. *Diseases of Aquatic organisms*. **29**:137-144.
- ALVARADO, V., J.W. SCHÁFER, R. ENRIQUEZ, M. MONRAS, V. CUBILLOS, C. PARIAS, A. ALVERDI. 1990a. Nueva enfermedad del Salmón Coho (*Oncorhynchus kisutch*) cultivado en fase de agua de mar en Chile. Situación actual. *Patología Animal*. **4**:10-13.
- ALVARADO, V., J.W. SCHÁFER, R. ENRIQUEZ, M. MONRAS. 1990b. Salmonicultura en Chile, estado actual, proyecciones y estado sanitario. *Medio Ambiente*. **11**:9-14.
- ANUARIO ESTADÍSTICO DE PESCA. 1995. Servicio Nacional de Pesca, Ministerio de Economía, Fomento y Reconstrucción. Chile.
- BRANSON, E.J., D. NIETO. 1991. Description of a new condition occurring in farmed coho salmon, *Oncorhynchus kisutch* (Walbaum), in South America. *Journal of Fish Disease*. **14**:147-156.
- BRAVO, S., M. CAMPOS. 1989. Síndrome del Salmón Coho. *Chile Pesquero*. **54**:47-48.
- BRAVO, S. 1994a. First report of *Piscirickettsia salmonis* in freshwater. *FSH/AFS Newsl.* **22**:6.
- BRAVO, S. 1994b. Piscirickettsiosis in freshwater. *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.* **14**:137.
- BRAVO, S., S. GUTIERREZ. 1994. Avances en el estudio del Síndrome del Salmón Coho. *Chile Pesquero*. **61**:39-41.
- BROCKLEBANK, J.R., T. EVELYN, D.J. SPEARE, R.D. ARMSTRONG. 1993. Rickettsial septicemia in farmed Atlantic and Chinook salmon in British Columbia: Clinical presentation and experimental transmission. *Can. Vet. J.* **34**:745-748.
- CHERN, R.S., C.B. CHAO. 1994. Outbreaks of a disease caused by a rickettsia-like organism in cultured tilapias in Taiwan. *Fishpathology*. **29**:61-71.
- COMPENDIO DE LA ACUICULTURA EN CHILE. 1996. Publicado por Technopress, S.A. para Fundación Chile. Santiago, Chile.

- CUBILLOS, V., C. PARIAS, A. ALBERDI, V. AL VARADO, W. SCHÄFER, M. MONRAS. 1990. Características anatomopatológicas del Síndrome del Salmón Coho (S.S.C.), nueva enfermedad de los salmonídeos. *Patología Animal*. **4(2)**: 14-17.
- CVITANICH, J., O. GARATE, C. SMITH. 1990. Etiological Agent in a Chilean Coho Disease Isolated and Confirmed by Koch's Postulates. *FHS/AFS Newsletter*. **18**:1-2.
- CVITANICH, J., O. GARATE, C. SMITH. 1991. The isolation of a rickettsia like organism causing disease and mortality in Chilean salmonids and its confirmation by Koch's postulates. *J. Fish. Dis.* **14(2)**: 121-145.
- CVITANICH, J., O. GARATE, C. SILVA, M. ANDRADE, C. FIGUEROA, C. SMITH. 1995. Isolation of a new Rickettsia-like Organism from Atlantic Salmón in Chile. *FHS/AFS Newsletter*. **23(3)**: 1-3.
- DIARIO AUSTRAL DE CHILE. 1998. Durante 1997: Creció la exportación de salmónes. Sábado 9 de mayo. Valdivia, Chile.
- ENRIQUEZ, R., M. MONRAS, A. CEBALLOS, C. IGOR. 1998. Primer aislamiento de un organismo rickettsial desde *Galaxias maculatus* (puye). *Arch. Med. Vet.* **30(Nº Extraordinario)**:233-234.
- FERGUSON, H.W. 1989. Systemic Pathology of Fish. Iowa State University Press, U.S. A.
- FOLSOM, W., D. ALTMAN, A. MANUAR, F. NIELSEN, T. REVORD, E. SANBORN, M. WBLDMAN. 1992. World salmón Culture Europe, North and South America and Pacific. Office of International Affairs, National Marine Fisheries Service, National Oceanic and Atmospheric Administration. Silver Spring, Maryland.
- FRYER, J.L., C.N. LANNAN, L.H. GARCES, J.J. LARENAS, P.A. SMITH. 1990. Isolation of a rickettsiales-like organisms from disease coho salmón (*Oncorhynchus kisutch*) in Chile. *Fish. Pathol.* **25**:107-114.
- FRYER, J.L., C.N. LANNAN, S.J. GIOVANNONI, N.D. WOOD. 1992. *Piscirickettsia salmonis* gen. nov., sp. nov., the Causative Agent of a Epizotic Disease in Salmonid Fishes. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **42**:120-126.
- FRYER, J.L., CN. LANNAN. 1992. Isolation of a Rickettsia from diseased salmonids. *OJI International Symposium on Salmonid Diseases*. Hokkaido University Press, Sapporo, Japan. pp. 151-157.
- GAGGERO, A, H. CASTRO, A.M. SANDINO. 1995. First isolation of *Piscirickettsia salmonis* from Coho Salmón, *Oncorhynchus kisutch* (Walbaum), and Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), during the fresh water stage of their life cycle. *J. Fish Dis.* **18**:137-144.

- GÁRATE, O. 1990. Aislado y Confirmado por Postulados de Koch, microorganismo causante de la enfermedad del Salmón Coho en Chile. *Publicación Interna Trow Suralim* . Puerto Montt, Chile.
- GARCÉS, L.H., J.J. LARENAS, P.A. SMITH, S. SANDINO, C.N. LANNAN, J.L. FRYER. 1991. Infectivity of a rickettsia isolated from coho salmon *Oncorhynchus kisutch*. *Dis. Aquat. Org.* **11(2)**:93-97.
- GIMÉNEZ, D.F. 1964. Staining rickettsiae in yolk-sac cultures. *Stain Technol.* **39**: 139-140. Citado por Lannan, C.N., J.L. Fryer. 1993. *Piscirickettsia salmonis*, a major pathogen of salmonid fish in Chile. *Fisheries Research.* **17**:115-121.
- GRANT, A.N., A.G. BROWN, D.J. COX, T.H. BIRKBECK, A.A. GRIFFEN. 1996. Rickettsia-like organism in farmed salmon. *Vet. Rec.* **138(17)**: 423-424.
- KENT, M., 1992. Disease of sea water netpen-reared salmonid fishes in the Pacific northwest. *Canadian Special Publication of Fisheries and Aquatic Sciences.* pp. 18-19.
- LANNAN, C.N., J.L. FRYER. 1993. *Piscirickettsia salmonis*, a major pathogen of salmonid fish in Chile. *Fisheries Research.* **17**: 115-121.
- MILLENAM, R.E., S.E. KNAPP. 1970. Biology of *Nanophyetus salmincola* and "salmón poisoning" disease. In: "Advances in Parasitology. Vol. 8" (de. by B. Dawes). Academic Press., London/New York. pp. 173-184. Citado por Fryer, J.L., C.N. Lannan, L.H. Garcés, J.J. Larenas, P.A. Smith. 1990. Isolation of a rickettsiales-like organisms from disease coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) in Chile. *Fish Pathol.* **25**:107-114.

- NAVARRO, J. 1991. Flora Bacteriana de hígado y riñón de Salmonídeos del Sur de Chile. Estandarización de un método de identificación y estandarización de sensibilidad antimicrobiana. Tesis, M.V., Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.
- NOONAN, W.E. 1973. *Neorickettsia helminthoeca* in cell culture. Corvallis: Oregon State University. PhD Thesis 72 numb. Leaves. Citado por Fryer, J.L., C.N. Lannan, L.H. Garcés, J.J. Larenas, P.A. Smith. 1990. Isolation of a rickettsiales-like organisms from disease coho salmón (*Oncorhynchus kisutch*) in Chile. *Fish Pathol.* **25**:107-114.
- OLSEN, A.B., H.P. MELBY, L. SPEILBERG, Q. EVENSEN, T. HASTEIN. 1997. *Piscirickettsia salmonis* infection in Atlantic Salmón *Salmo salar* in Norway-epidemiological, pathological and microbiological finding. *Diseases of Aquatic Organisms.* **31**:35-48.
- PALMER, R., M. RUTTLEDGE, K. CALLANAN, E. ORINAN. 1996. A Piscirickettsiosis-like disease in farmed Atlantic salmón in Ireland-Isolation of the agent. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.* **17(2)**:68-72.
- RODGER, H.D., E.M. DRINAN. 1993. Observation of a rickettsia-like organism in Atlantic salmón, *Salmo salar* L., in Ireland. *J. Fish Dis.* **16**:361-370.
- SCHÄFER, J.W., V. AL VARADO, R. ENRIQUEZ, M. MONRAS. 1991. The "Coho Salmón Syndrome" (C.S.S.): a new disease in chilean salmón reared in sea water. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.* **10(5)**: 130.
- SAMSING, KARL. 1998. La salmonicultura en Chile: pasado, presente y futuro. *Aquanoticias.* **44**:15-19.
- SIMMONS, J.S., C.J. GENTZKOW. 1944. Laboratory Methods of the United States Army. 5th ed. Lea and Febiger, Philadelphia, PA., pp. 823. Citado por Lannan, C.N., J.L. Fryer. 1993. *Piscirickettsia salmonis*, a major pathogen of salmonid fish in Chile. *Fisheries Research.* **17**:115-121.
- WOLF, K. 1981. Chlamydia and rickettsia in fish. *Fish Health News.* **10**: 1-5. Citado por Fryer, J.L., C.N. Lannan, L.H. Garcés, J.J. Larenas, P.A. Smith. 1990. Isolation of a rickettsiales-like organisms from disease coho salmón (*Oncorhynchus kisutch*) in Chile. *Fish Pathol.* **25**:107-114.

9. ANEXOS

ANEXO 1

SIGNOS CLÍNICOS EN SALMONES COHO (*O. kisutch*) INOCULADOS
EXPERIMENTALMENTE CON U2, EN RELACIÓN AL TIEMPO DE PRESENTACIÓN*
Y NÚMERO DE CASOS AFECTADOS.

DPI* *	Letargía	Natación Superficial	Disminución Del Apetito	Disminución de Peso	Agrupación en Esquinas
12	5	0	7	0	0
13	0	3	4	0	0
14	3	0	0	0	0
15	0	1	0	0	0
16	0	0	0	0	6
19	2	0	0	0	0
21	0	0	0	0	0
22	4	0	5	0	0
23	0	2	0	0	0
42	0	0	4	0	0
43	0	0	2	1	0
45	0	0	3	0	0
47	0	0	0	2	0

* Se consideran sólo los días en que se observaron signos clínicos.

**Días Post Inoculación

ANEXO 2

SIGNOS CLÍNICOS EN SALMONES DEL ATLÁNTICO (*S. salar*) INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2, EN RELACIÓN AL TIEMPO DE PRESENTACIÓN* Y NÚMERO DE CASOS AFECTADOS.

DPI**	Letargía	Natación Superficial	Disminución del Apetito	Disminución de Peso	Agrupación en Esquinas
12	0	0	17	0	0
13	0	0	0	0	23
14	0	0	0	0	0
24	0	0	11	0	0
25	0	0	10	0	0
28	0	0	0	2	0
32	0	0	0	2	0
33	0	0	0	1	0
38	0	0	0	1	0
43	0	0	0	0	12
50	0	0	0	8	0

* Se consideraron sólo los días en que se observaron signos clínicos.

**Días Post Inoculación

ANEXO 3

LESIONES EXTERNAS MACROSCÓPICAS EN SALMONES COHO (*O. kisutch*),
 INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2.

DPI*	Mortalidad Diaria	ALTERACIONES MACROSCÓPICAS EXTERNAS			
		Oscurecimiento del Dorso	Hemorragias en Base de las Aletas	Congestión Branquial	Palidez Branquial
8	1	0	1	0	1
9	1	0	1	0	0
10	1	0	1	0	1
11	4	0	3	0	3
12	5	4	3	1	3
13	2	0	1	0	1
14	1	0	1	1	0
43	1	0	0	0	1
48	3	0	0	1	1

* Días Post Inoculación

ANEXO 4

LESIONES EXTERNAS MACROSCÓPICAS EN SALMONES DEL ATLÁNTICO (*S. salar*), INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2.

DPI*	Mortalidad Diaria	ALTERACIONES MACROSCÓPICAS EXTERNAS			
		Oscurecimiento del Dorso	Hemorragias en Base de las Aletas	Congestión Branquial	Palidez Branquial
10	1	0	0	0	0
24	6	0	3	0	2
25	1	0	1	0	1
26	1	0	1	0	1
28	1	0	0	0	0
32	2	0	0	0	2
33	1	0	0	1	0
38	1	0	1	0	1
50	9	0	1	0	0

* Días Post Inoculación

ANEXO 5

LESIONES MACROSCÓPICAS EN HÍGADOS, RÍÑONES Y BAZOS DE SALMONES COHO (*O. kisutch*), INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2.

DPI*	Mortalidad Diaria	ALTERACIONES MACROSCÓPICAS		
		Hígados	Riñones	Bazos
8	1	1	1	0
9	1	1	1	0
10	1	0	0	1
11	4	0	0	0
12	5	5	5	3
13	2	2	2	0
14	1	1	0	1
43	1	1	1	0
48	3	3	1	2

¹ Dias Post Inoculación

ANEXO 6

LESIONES MACROSCÓPICAS EN HÍGADOS, RÍÑONES Y BAZOS DE SALMONES DEL ATLÁNTICO (*S. salar*), INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2.

DPI*	Mortalidad Diana	ALTERACIONES MACROSCÓPICAS		
		Hígados	Riñones	Bazos
10	1	0	0	1
24	6	4	5	4
25	1	1	1	1
26	1	1	1	1
28	1	0	0	0
32	2	2	0	2
33	1	1	0	1
38	1	1	0	0
50	9	2	0	8

* Días Post Inoculación

ANEXO 7

LESIONES MACROSCÓPICAS EN HÍGADOS, RÍÑONES Y BAZOS DE SALMONES COHO (*O. kisutch*), INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2.

DPI*	Mortalidad Diaria	TIPOS DE LESIONES MACROSCÓPICAS					
		Hígados			Riñones		Bazos
		Palidez	Congestión	Hepatomegalia	Congestión	Nefromegalia	Esplenomegalia
8	1	0	0	0	1	0	0
9	1	0	0	0	1	0	0
10	1	0	0	0	0	0	1
11	4	0	0	0	0	0	0
12	5	1	0	4	4	5	3
13	2	2	0	1	0	2	0
14	1	1	0	1	0	0	1
43	1	0	0	1	0	1	0
48	3	2	1	1	0	1	2

* Días Fost Inoculación

ANEXO 8

LESIONES MACROSCÓPICAS EN HÍGADOS, RÍÑONES Y BAZOS DE SALMONES DEL ATLÁNTICO (*S. salar*),
INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2.

DPI*	Mortalidad Diaria	TIPOS DE LESIONES MACROSCÓPICAS					
		Hígados			Riñones		Bazos
		Palidez	Congestión	Hepatomegalia	Congestión	Nefromegalia	Esplenomegalia
10	1	0	0	0	0	0	1
24	6	0	2	2	0	5	4
25	1	0	0	1	0	1	1
26	1	1	0	0	0	1	1
28	1	0	0	0	0	0	0
32	2	2	1	0	0	0	2
33	1	1	0	0	0	0	1
38	1	0	1	0	0	0	0
50	9	1	0	0	0	0	8

* Días Post Inoculación

ANEXO 9

TRASTORNOS HEPÁTICOS MICROSCÓPICOS EN SALMONES COHO (*O. kisutch*), INOCULADOS
EXPERIMENTALMENTE CON U2.

DPI*	Mortalidad Diaria	TIPOS DE TRASTORNOS HEPÁTICOS				
		Del Crecimiento	Circulatorios	Degenerativos	Inflamatorios	Necróticos
8	1	1	0	1	1	1
9	1	1	1	1	1	1
10	1	1	1	1	1	1
11	4	3	3	4	3	4
12	5	5		5	5	4
13	2	2		2	2	2
14	1	1		1	1	1
43	1	1		1	1	1
48	3	3		3	2	3

* Días Post Inoculación

ANEXO 10

TRASTORNOS HEPÁTICOS MICROSCÓPICOS EN SALMONES DEL ATLÁNTICO (*S. salar*), INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2.

DPI*	Mortalidad Diaria	TIPOS DE TRASTORNOS HEPÁTICOS				
		Del Crecimiento	Circulatorios	Degenerativos	Inflamatorios	Necróticos
10	1	1	1	1	0	1
24	6	5	1	6	6	6
25	1	1	1	1	1	1
26	1	1	1	1	1	1
28	1(-1)	-	-	-	-	-
32	2	2	0	2	2	2
33	1	1	1	1	1	1
38	1	1	0	1	1	1
50	9	9	0	9	9	8

* Días Post Inoculación ()
(organos no procesados)

ANEXO 11

TRASTORNOS DEL CRECIMIENTO EN HÍGADOS DE SALMONES COHO (*O. kisutch*),
INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2.

DPI*	Mortalidad Diaria	TRASTORNOS DEL CRECIMIENTO HEPÁTICOS		
		Atrofia	Proliferación de Conductos Biliares	Hiperplasia Células de Küpffer
8	1	1	1	0
9	1	1	1	1
10	1	0	1	0
11	4	1	2	1
12	5	5	3	1
13	2	2	2	2
14	1	1	1	1
43	1	1	1	1
48	3	3	3	1

* Días Post Inoculación

ANEXO 12

TRASTORNOS DEL CRECIMIENTO EN HÍGADOS DE SALMONES DEL ATLÁNTICO
(*S. salar*), INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2.

DPI*	Mortalidad Diaria	TRASTORNOS DEL CRECIMIENTO HEPÁTICOS		
		Atrofia	Proliferación de Conductos Biliares	Hiperplasia Células de Küpffer
10	1	1	0	0
24	6	2	2	5
25	1	0	1	1
26	1	1	1	0
28	1 (-1)	-	-	-
32	2	1	1	0
33	1	1	0	0
38	1	1	0	0
50	9	9	1	0

* Días Post Inoculación

() Organos no procesados

ANEXO 13

TRASTORNOS CIRCULATORIOS EN HÍGADOS DE SALMONES COHO (*O. kisutch*),
 INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2.

DPI*	Mortalidad Diaria	TRASTORNOS CIRCULATORIOS HEPÁTICOS	
		Congestión	Hemorragia
8	1	0	0
9	1	0	1
10	1	1	0
11	4	3	0
12	5	1	0
13	2	0	1
14	1	0	1
43	1	1	0
48	3	1	0

* Dias Post Inoculación

ANEXO 14

TRASTORNOS CIRCULATORIOS EN HÍGADOS DE SALMONES DEL ATLÁNTICO (*S. salar*), INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2.

DPI*	Mortalidad Diaria	TRASTORNOS CIRCULATORIOS HEPÁTICOS	
		Congestión	Hemorragia
10	1	1	0
24	6	1	0
25	1	1	0
26	1	1	1
28	1 (-1)	-	-
32	2	0	0
33	1	1	0
38	1	0	0
50	9	0	0

* Días Post Inoculación

() Órganos no procesados

ANEXO 15

TRASTORNOS DEGENERATIVOS EN HÍGADOS DE SALMONES COHO (*O. kisutch*),
INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2.

DPI*	Mortalidad Diaria	TRASTORNOS NECROTICOS HEPÁTICOS		
		Proteicos		Lipídicos
		Tumefacción Turbia	Degeneración Vacuolar	Degeneración Grasa
8	1	1	1	0
9	1	1	1	0
10	1	1	1	0
11	4	3	4	0
12	5	5	5	1
13	2	2	2	0
14	1	0	1	0
43	1	1	1	0
48	3	3	2	1

* Días Post Inoculación

ANEXO 16

TRASTORNOS DEGENERATIVOS EN HÍGADOS DE SALMONES DEL ATLÁNTICO
(*S.salar*), INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2.

DPI*	Mortalidad Diaria	TRASTORNOS DEGENERATIVOS HEPÁTICOS		
		Proteicos		Lipídicos
		Tumefacción Turbia	Degeneración Vacuolar	Degeneración Grasa
10	1	1	1	0
24	6	4	6	0
25	1	1	1	0
26	1	1	1	0
28	1(-1)	-	-	-
32	2	1	2	1
33	1	1	1	1
38	1	0	1	0
50	9	8	2	6

* Días Post Inoculación
(-) Organos no procesados

ANEXO 17

TRASTORNOS INFLAMATORIOS EN HÍGADOS DE SALMONES COHO (*O. kisutch*), INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2.

DPI*	Mortalidad Diaria	TRASTORNOS INFLAMATORIOS HEPÁTICOS				
		Agudos	Crónicos			
		Infiltrado Neutro fílico	Infiltrado Linfocitario	Infiltrado Células Melanomacrofágicas	Infiltrado Histiocitario	Infiltrado Fibroblástico
8	1	0	0	0	1	1
9	1	0	0	0	0	1
10	1	0	0	0	0	1
11	4	0	0	1	3	2
12	5	0	2	1	5	4
13	2	0	0	0	2	2
14	1	0	1	0	1	1
43	1	0	0	1	0	1
48	3	0	0	0	2	2

* Días Post Inoculación

ANEXO 18

TRASTORNOS INFLAMATORIOS EN HÍGADOS DE SALMONES DEL ATLÁNTICO (*S. salar*), INOCULADOS
EXPERIMENTALMENTE CON U2.

DPI*	Mortalidad Diaria	TRASTORNOS INFLAMATORIOS HEPÁTICOS				
		Agudos	Crónicos			
		Infiltrado Neutrofílico	Infiltrado Linfocitario	Infiltrado Células Melanomacrofágicas	Infiltrado Histiocitario	Infiltrado Fibroblástico
10	1	0	0	0	0	0
24	6	1	2	0	4	4
25	1	0	0	0	1	0
26	1	0	0	1	1	1
28	1(-1)	-	-	-	-	-
32	2	1	0	2	2	2
33	J	0	0	1	0	0
38	1	0	0	1	0	0
50	9	0	2	6	8	5

* Días Post Inoculación
() Órganos no procesados

ANEXO 19

TRASTORNOS NECRÓTICOS EN HÍGADOS DE SALMONES COHO (*O. kisutch*),
 INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2

DPI*	Mortalidad Diaria	TRASTORNOS NECRÓTICOS HEPÁTICOS			
		Celulares			Parenquimatosos
		Picnosis	Cario rrexis	Cariolisis	Disociación Trabecular
8	1	1	1	1	1
9	1	1	0	0	0
10	1	1	1	1	1
11	4	4	4	4	4
12	5	4	4	4	4
13	2	2	1	2	1
14	1	1	1	1	0
43	1	1	1	1	1
48	3	3	2	3	2

* Días Post Inoculación

ANEXO 20

TRASTORNOS NECRÓTICOS EN HÍGADOS DE SALMONES DEL ATLÁNTICO (*S. salar*), INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE U2

DPI*	Mortalidad Diaria	TRASTORNOS NECRÓTICOS HEPÁTICOS			
		Celulares			Parenquimatosos
		Picnosis	Cario rrexis	Cariolisis	Disociación Trabecular
10	1	1	1	1	1
24	6	6	6	6	6
25	1	1	1	1	1
26	1	1	1	1	0
28	1(-1)	-	-	-	-
32	2	2	1	2	2
33	1	1	1	1	1
38	1	1	0	1	1
50	9	8	1	2	1

* Días Post Inoculación

() Organos no procesados

ANEXO 21

TRASTORNOS RENALES MICROSCÓPICOS EN SALMONES COHO (*O. kisutch*), INOCULADOS
EXPERIMENTALMENTE CON U2.

DPI*	Mortalidad Diaria	TIPOS DE TRASTORNOS RENALES				
		Del Crecimiento	Circulatorios	Degenerativos	Inflamatorios	Necróticos
8	1	1	0	1	0	1
9	1	0	0	1	0	1
10	1	1	1	1	0	1
11	4	2	3	4	2	4
12	5	4	3	5	5	5
13	2	0	0	2	2	2
14	1	0	1	1	1	1
43	1(-1)	-	-	-	-	-
48	3,	3	1	3	3	3

* Días Post Inoculación
(-) Organos no procesados

ANEXO 22

TRASTORNOS RENALES MICROSCÓPICOS EN SALMONES DEL ATLÁNTICO (*S. salar*), INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2.

DPI*	Mortalidad Diaria	TIPOS DE TRASTORNOS RENALES				
		Del Crecimiento	Circulatorios	Degenerativos	Inflamatorios	Necróticos
10	1	0	0	1	1	1
24	6	4	5	6	6	6
25	1	1	0	1	1	1
26	1	1	1	1	1	1
28	1	1	0	1	1	1
32	2	2	1	2	2	2
33	1	1	1	1	1	1
38	1	0	0	1	1	1
50	9.	8	0	9	9	9

* Días Post Inoculación

ANEXO 23

TRASTORNOS DEL CRECIMIENTO EN RÍÑONES DE SALMONES COHO (*O. kisutch*),
INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2.

DPI*	Mortalidad Diaria	TRASTORNOS DEL CRECIMIENTO RENALES
		Atrofia
8	1	1
9	1	0
10	1	1
11	4	2
12	5	4
13	2	0
14	1	0
43	1(-1)	-
48	3	3

* Días Post Inoculación
(-) Organos no procesados

ANEXO 24

TRASTORNOS DEL CRECIMIENTO EN RÍÑONES DE SALMONES DEL ATLÁNTICO
(*S. salar*), INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2.

DPI*	Mortalidad Diaria	TRASTORNOS DEL CRECIMIENTO RENALES
		Atrofia
10	1	0
24	6	4
25	1	1
26	1	1
28	1	1
32	2	2
33	1	1
38	1	0
50	9	8

* Días Post Inoculación

ANEXO 25

TRASTORNOS CIRCULATORIOS EN RÍÑONES DE SALMONES COHO (*O. kisutch*),
EXPERIMENTALMENTE CON U2.

DPI*	Mortalidad Diaria	TRASTORNOS CIRCULATORIOS RENALES
		Congestión
8	1	0
9	1	0
10	1	1
11	4	3
12	5	3
13	2	0
14	1	1
43	1(-1)	-
48	3	1

* Días Post Inoculación

() Órganos no procesados

ANEXO 26

TRASTORNOS CIRCULATORIOS EN RÍÑONES DE SALMONES DEL ATLÁNTICO
(*S. salar*), INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2.

DPI*	Mortalidad Diana	TRASTORNOS CIRCULATORIOS RENALES
		Congestión
10	1	0
24	6	5
25	1	0
26	1	1
28	1	0
32	2	1
33	1	1
38	1	0
50	9	0

* Días Post Inoculación

ANEXO 27

TRASTORNOS DEGENERATIVOS EN RÍÑONES DE SALMONES COHO (*O. kisutch*),
INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2.

DPI*	Mortalidad Diaria	TRASTORNOS DEGENERATIVOS RENALES		
		Proteicos		
		Tumefacción Turbia	Degeneración Vacuolar	Degeneración Hialina
8	1	1	1	0
9	1	1	1	1
10	1	1	1	1
11	4	4	4	4
12	5	4	5	3
13	2	2	2	2
14	1	1	1	1
43	1(-1)	-	-	-
48	3	1	3	3

* Días Post Inoculación
(-) Organos no procesados

ANEXO 28

TRASTORNOS DEGENERATIVOS EN RÍÑONES DE SALMONES DEL ATLÁNTICO
(*S. salar*), INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2.

DPI*	Mortalidad Diaria	TRASTORNOS DEGENERATIVOS RENALES		
		Proteicos		
		Tumefacción Turbia	Degeneración Vacuolar	Degeneración Hialina
10	1	1	1	1
24	6	6	6	5
25	1	1	1	1
26	1	1	1	1
28	1	0	1	1
32	2	1	2	2
33	1	1	1	1
38	1	1	1	0
50	9	8	9	7

* Días Post Inoculación

ANEXO 29

TRASTORNOS INFLAMATORIOS EN RIÑONES DE SALMONES COHO (*O. kisutch*), INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2.

DPI*	Mortalidad Diaria	TRASTORNOS INFLAMATORIOS RENALES			
		Agudos	Crónicos		
		Infiltrado Neutrofilico	Infiltrado Linfocitario	Infiltrado Células Melanomacrofágicas	Infiltrado Fibroblástico
8	1	0	0	0	0
9	1	0	0	0	0
10	1	0	0	0	1
11	4	0	1	2	0
12	5	1	2	4	0
13	2	0	2	1	0
14	1	0	1	1	0
43	1(-1)	-	-	-	-
48	3	0	0	3	0

* Días Post Inoculación
 () Organos no procesados

ANEXO 30

TRASTORNOS INFLAMATORIOS EN RIÑONES DE SALMONES DEL ATLÁNTICO (*S. salar*), INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2.

DPI*	Mortalidad Diaria	TRASTORNOS INFLAMATORIOS RENALES			
		Agudos	Crónicos		
		Infiltrado Neutrofilico	Infiltrado Linfocitario	Infiltrado Células Melanomacrofágicas	Infiltrado Fibroblástico
10	1	0	0	1	0
24	6	0	4	6	1
25	1	0	0	1	0
26	1	0	1	1	0
28	1	0	0	1	1
32	2	1	2	2	2
33	1	0	0	1	0
38	1	0	0	1	0
50	9	1	6	9	0

* Días Post Inoculación

ANEXO 31

TRASTORNOS NECRÓTICOS EN RIÑONES DE SALMONES COHO (*O. kisutch*),
INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2

DPI*	Mortalidad Diaria	TRASTORNOS NECRÓTICOS CELULARES RENALES			
		Pérdida de Polaridad Nuclear	Picnosis	Cariorrexis	Cariolisis
8	1	1	1	1	1
9	1	1	1	1	1
10	1	1	1	1	1
11	4	4	4	3	3
12	5	5	5	4	4
13	2	2	2	2	2
14	1	1	1	1	1
43	1(-1)	-	-	-	-
48	3	3	3	2	2

* Días Post Inoculación

() Organos no procesados

ANEXO 32

TRASTORNOS NECRÓTICOS EN RÍÑONES DE SALMONES DEL ATLÁNTICO (*S. salar*), INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2.

DPI*	Mortalidad Diaria	TRASTORNOS NECROTICOS CELULARES RENALES			
		Pérdida de Polaridad Nuclear	Picnosis	Cariorrexis	Cariolisis
10	1	1	1	1	1
24	6	6	6	6	6
25	1	1	1	1	1
26	1	1	1	0	0
28	1	1	1	1	1
32	2	2	2	2	2
33	1	1	1	1	1
38	1	1	1	1	1
50	9	9	9	2	2

* Días Post Inoculación

ANEXO 33

TRASTORNOS ESPLÉNICOS MICROSCÓPICOS EN SALMONES COHO (*O. kisutch*),
INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2.

DPI*	Mortalidad Diaria	TIPOS DE TRASTORNOS ESPLÉNICOS			
		Del Crecimiento	Circulatorios	Degenerativos	Necróticos
8	1(-1)	-	-	-	-
9	1	1	0	1	0
10	1	1	1	1	0
11	4 (-2)	2	1	1	2
12	5 (-2)	2	1	3	1
13	2(-1)	1	0	1	0
14	1	1	0	1	0
43	1(-1)	-	-	-	-
48	3	3	0	1	2

* Días Post Inoculación

() Órganos no procesados

ANEXO 34

TRASTORNOS ESPLÉNICOS MICROSCÓPICOS EN SALMONES DEL ATLÁNTICO
(*S. salar*), INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2.

DPI*	Mortalidad Diaria	TIPOS DE TRASTORNOS ESPLÉNICOS			
		Del Crecimiento	Circulatorios	Degenerativos	Necróticos
10	1	1	1	1	1
24	6(-1)	4	2	2	5
25	1	1	1	1	1
26	1	1	1	1	1
28	1	1	0	1	1
32	2	2	1	2	2
33	1	1	0	1	1
38	1	1	0	1	1
50	9(-1)	8	6	3	1

* Días Post Inoculación

() Órganos no procesados

ANEXO 35

TRASTORNOS DEL CRECIMIENTO EN BAZOS DE SALMONES COHO (*O. kisutch*),
INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2.

DPI*	Mortalidad Diaria	TRASTORNOS DEL CRECIMIENTO ESPLÉNICO		
		Hiperplasia Células Melanomacrofágicas	Hiperplasia Células Reticulares	Depresión Linfoide
8	1(-1)	-	-	-
9	1	0	1	0
10	1	0	1	0
11	4 (-2)	2	1	1
12	5 (-2)	1	2	1
13	2(-1)	0	1	0
14	1	0	1	1
43	1(-1)	-	-	-
48	3	2	1	1

* Días Post Inoculación

() Órganos no procesados

ANEXO 36

TRASTORNOS DEL CRECIMIENTO EN BAZOS DE SALMONES DEL ATLÁNTICO (*S. salar*), INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2.

DPI*	Mortalidad Diaria	TRASTORNOS DEL CRECIMIENTO ESPLÉNICO		
		Hiperplasia Células Melanomacrofágicas	Hiperplasia Células Reticulares	Depleción Linfoide
10	1	0	0	1
24	6(-1)	1	1	4
25	1	0	0	1
26	1	1	1	1
28	1	0	0	1
32	2	2	2	2
33	1	1	0	1
38	1	1	1	1
50	9(-1)	7	7	0

* Días Post Inoculación

() Órganos no procesados

ANEXO 37

TRASTORNOS CIRCULATORIOS EN BAZOS DE SALMONES COHO (*O. kisutch*),
INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2

DPI*	Mortalidad Diaria	TRASTORNOS CIRCULATORIOS ESPLÉNICOS	
		Congestión	Hemorragia
8	1(-1)	-	-
9	1	0	0
10	1	0	1
11	4 (-2)	1	0
12	5 (-2)	0	1
13	2(-D	0	0
14	1	0	0
43	1(-1)	-	-
48	3	0	0

* Días Post Inoculación
() Órganos no procesados

ANEXO 38

TRASTORNOS CIRCULATORIOS EN BAZOS DE SALMONES DEL ATLÁNTICO (*S. salar*), INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2.

DPI*	Mortalidad Diaria	TRASTORNOS CIRCULATORIOS ESPLÉNICOS	
		Congestión	Hemorragia
10	1(-1)	1	1
24	6	1	2
25	1	1	0
26	1	1	1
28	1	0	0
32	2	1	0
33	1	0	0
38	1	0	0
50	9(-1)	0	6

* Días Post Inoculación

() Órganos no procesados

ANEXO 39

TRASTORNOS DEGENERATIVOS EN BAZOS DE SALMONES COHO (*O. kisutch*),
INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2.

DPI*	Mortalidad Diaria	TRASTORNOS DEGENERATIVOS ESPLÉNICOS	
		Proteicos	
		Degeneración Vacuolar	Degeneración Hialina
8	1(-1)	-	-
9	1	1	0
10	1	1	0
11	4 (-2)	1	0
12	5 (-2)	3	2
13	2(-1)	1	0
14	1	1	0
43	1(-1)	-	-
48	3	1	0

* Días Post Inoculación
() Órganos no procesados

ANEXO 40

TRASTORNOS DEGENERATIVOS EN BAZOS DE SALMONES DEL ATLÁNTICO (*S. salar*), INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2.

DPI*	Mortalidad Diana	TRASTORNOS DEGENERATIVOS ESPLÉNICOS	
		Proteicos	
		Degeneración Vacuolar	Degeneración Hialina
10	1	0	1
24	6(-1)	2	1
25	1	1	0
26	1	1	0
28	1	1	0
32	2	2	0
33	1	1	0
38	1	1	0
50	9(-1)	3	1

* Días Post Inoculación
 () Órganos no procesados

ANEXO 41

TRASTORNOS NECRÓTICOS EN BAZOS DE SALMONES COHO (*O. kisutch*),
INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2

DPI	Mortalidad Diaria	TRASTORNOS NECROTICOS CELULARES ESPLENICOS		
		Picnosis	Cario rrexis	Cariolisis
8	1(-1)	-	-	-
9	1	0	0	0
10	1	0	0	0
11	4 (-2)	2	2	2
12	5 (-2)	1	1	1
13	2(-D	0	0	0
14	1	0	0	0
43	1(-1)	-	-	-
48	3	2	1	1

* Días Post Inoculación
() Órganos no procesados

ANEXO 42

TRASTORNOS NECRÓTICOS EN BAZOS DE SALMONES DEL ATLÁNTICO (*S. salar*),
INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON U2.

DPI*	Mortalidad Diaria	TRASTORNOS NECRÓTICOS CELULARES ESPLÉNICOS		
		Picnosis	Cariorrexis	Cariolisis
10	1	1	1	1
24	6(-1)	5	5	5
25	1	1	1	1
26	1	1	0	0
28	1	1	1	1
32	2	2	2	2
33	1	1	1	1
38	1	1	1	1
50	9(-1)	1	0	0

* Días Post Inoculación
() Órganos no procesados

ANEXO 43

TINCIÓN DE GRAM

1. Colorantes

- Cristal Violeta
- Lugol
- Alcohol-Acetona
- Safranina

2. Coloración

- Fijación.....Flameado (pasar por la llama 5 a 6 veces).
- Violeta.....2 minutos → lavar con agua corriente.
- Lugol.....1 minuto → lavar con agua corriente.
- Alcohol-Acetona.....30 segundos → lavar con agua corriente.
- Safranina..... 15 segundos → lavar con agua corriente.
- Secar al aire.

ANEXO 44

TINCIÓN DE GIEMSA

1. Colorantes

- Giemsa Comercial
- Buffer Fosfato pH 6,8
- Metanol

1.2 Preparación Buffer

- Solución I: KH_2PO_49,08gr/l
- Solución II: $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2$ de H_2O11,9gr/l (anhidro 10,3g).
- Mezclar 50,8 ce de Solución I con 49,2 ce de Solución II.

2. Coloración

- Fijar las muestras 5 minutos en metanol.
- Agregar 2 gotas de Giemsa para cada ce de buffer preparado.
- Cubrir el frotis y dejar 40 minutos.
- Lavar en agua corriente.
- Secar al aire.

ANEXO 45

TINCIÓN HEMATOXILINA/EOSINA

1. Colorantes

- Hematoxilina de Mayers
- Solución de Eosina

2. Coloración

- Desparafinizar la muestra de tejido e hidratar con agua.
- Teñir con hematoxilina de Mayers por 15 minutos.
- Lavar en agua corriente por 20 minutos.
- Contrateñir con eosina de 15 segundos a 2 minutos.
- Deshidratar en alcohol de 95% y alcohol absoluto (dos cambios de 2 minutos c/u o hasta remover el exceso de eosina).
- Aclarar en xilol (dos cambios de 2 minutos c/u).

AGRADECIMIENTOS

- Profesor Patrocinante, *Dr. Víctor Cubillos*.
- Profesor Copatrocinante, *Dr. Ricardo Enriquez*, por su apoyo y gran disposición durante el desarrollo de este trabajo.
- Personal de Anatomía Patológica, *Sra. Ainízatie, Ximenita, Don Ignacio, Andrés y Ricardo*, por su continuo apoyo y el cariño que me entregaron durante mi estadía en la Unidad.
- Personal de Ictiopatología, *Sra. MónicaM., Juan Carlos, Sra. Mónica G. y Esteban*, por su gran ayuda e inagotable paciencia.
- A mis hermanas, *Mariel y Yessy*, y a mis amigos, por estar a mi lado en todo momento, particularmente *Claudia D., Pato y Mukti*, quienes colaboraron en la parte final de esta tesis.

Finalmente, y en forma muy especial, agradezco a la *Dra. Mónica Pérez* y al *Dr. Edgardo Ortiz* por su constante ayuda, sin la cual, no hubiera sido posible la realización de este trabajo. Además, les agradezco la amistad y el cariño que me entregaron y por supuesto, su inestimable compañía.