

UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE  
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS  
INSTITUTO DE PATOLOGIA ANIMAL

**CARACTERIZACIÓN CLÍNICA Y ANATOMOPATOLÓGICA DEL SÍNDROME  
ICTÉRICO DEL SALMON COHO (*Oncorhynchus kisutch*).**

Memoria de título presentada como parte  
de los requisitos para optar al TÍTULO DE  
MÉDICO VETERINARIO.

ADRIANA MARIELA VELÁSQUEZ REYES

VALDIVIA – CHILE  
2003

PROFESOR PATROCINANTE

\_\_\_\_\_  
Nombre Firma

PROFESOR COPATROCINANTE

\_\_\_\_\_  
Nombre Firma

PROFESORES CALIFICADORES

\_\_\_\_\_  
Nombre Firma

\_\_\_\_\_  
Nombre Firma

FECHA DE APROBACION: \_\_\_\_\_

## 2. INDICE

	Pág.
3. RESUMEN.....	1
4. SUMMARY.....	2
5. INTRODUCCIÓN.....	3
6. MATERIAL Y MÉTODO.....	9
7. RESULTADOS.....	13
8. DISCUSIÓN.....	22
9. BIBLIOGRAFIA.....	29
10. ANEXOS.....	34

### 3.- RESUMEN.

#### CARACTERIZACIÓN CLÍNICA Y ANATOMOPATOLÓGICA DEL SÍNDROME ICTÉRICO DEL SALMON COHO (*Oncorhynchus kisutch*).

Con la finalidad de aportar antecedentes a una nueva enfermedad denominada “**Síndrome Ictérico del Salmón Coho**” (*O. kisutch*), fueron seleccionados por muestreo dirigido 110 peces de 400-900 g en fase marina, clínicamente enfermos que presentaron anemia e ictericia, provenientes de centros de cultivo distribuidos en la X Región del país (Latitud 41°20'S- 43°35'S). Estos fueron enviados durante los años 1999-2002 al Laboratorio de Ictiopatología del Instituto de Patología Animal de la Universidad Austral de Chile, con el propósito de caracterizar anatómica, macroscópica y microscópicamente esta enfermedad.

A la totalidad de los peces se les realizó: examen clínico externo e interno, hematocrito, perfil metabólico, tinciones de Gram y Giemsa, histología, examen virológico y bacteriológico.

Las principales lesiones externas fueron ictericia, descamación, branquias pálidas y aletas hemorrágicas, internamente ascitis amarillenta, hígado pálido con aspecto moteado, renomegalia leve, esplenomegalia y musculatura amarillenta. Histológicamente se presentó necrosis hepática multifocal confluyente, hepatitis periportal multifocal, congestión esplénica severa con hemosiderosis, glomerulonefritis crónica severa y nefritis difusa con focos de necrosis, epi y miocarditis moderada, atrofia y degeneración muscular.

En los exámenes de laboratorio los peces presentaron principalmente: anemia hemolítica de tipo regenerativa con un VGA entre 2.33-34.83%. El perfil metabólico presentó aumento de urea y las enzimas hepáticas ALT, AST, así como disminución de calcio, magnesio, albúminas, globulinas y hemoglobina.

Los exámenes bacteriológicos y virológicos fueron negativos a agentes infecciosos que pudieran provocar el cuadro. En cuatro pool de muestras se detectó IPNV confirmado por IFAT.

En consecuencia el “**Síndrome Ictérico del salmón Coho**” (*O. kisutch*) corresponde a una enfermedad observada en fase de mar, caracterizada por anemia hemolítica regenerativa, ictericia con un fuerte compromiso hepático.

Palabras clave: Ictericia – Salmón Coho- Necrosis hepática.

#### 4. SUMMARY.

### CLINICAL AND ANATOMOPATHOLOGICAL CHARACTERIZATION OF THE COHO SALMON ICTERIC SYNDROME.

The goal of this research was to collect information and contribute in the study a new disease named " Coho Salmon Icteric Syndrome". Fish of about 400-900 g were collected by directed sampling from sea water fish farms distributed in the X Region (Latitude 41°20'S - 43°35'S). They were clinically affected and showed anemia and jaundice. These samples were sent to the Fish Pathology Laboratory, Animal Pathology Institute, Universidad Austral de Chile during the years 1999-2002 in order to characterize the disease both at macroscopic and microscopic level.

All samples were submitted to external and internal clinical analysis, hematocrit, metabolic profile, Gram and Giemsa, histology and also to bacteriological and virological analysis.

The main external lesions were jaundice, loss of scales, pale gills and hemorrhagic fins. Internally yellowish ascitis, pale liver with spotted aspect, moderate renomegaly, splenomegaly and yellowish musculature were observed. Histologically the mayor finding were multifocal and confluent necrotizing hepatopathy, multifocal periportal hepatitis, severe splenic congestion with hemosiderosis, severe chronicle glomerulonefritis and diffuse nephritis with focuses of necrosis, moderate epi and myocarditis, atrophies and muscular degeneration.

Clinical analysis the fish showed regenerative hemolytic anaemia with a VGA ranged between 2.33-34.83%. The metabolic profile showed increase of the hepatic enzymes ALT, AST and urea together with an decrease of calcium, magnesium, globulins and hemoglobin.

The results of the bacteriological and virological analysis were negative to infectious agents that may cause the disease. IPN virus was detected by cell culture in four pooled samples and confirmed by IFAT.

Based on the data analyzed, "Coho Salmon Icteric Syndrome" can be characterized as a disease observed in marine culture which showed regenerative hemolytic anaemia, jaundice and severe hepatic damage.

Words key: Jaundice - Coho Salmon - Hepatic necrosis.

## 5. INTRODUCCION.

Actualmente Chile es el segundo productor mundial de salmones de cultivo, después de Noruega, superando a países como Escocia y Canadá, siendo las principales especies cultivadas salmón del Atlántico (*Salmo salar*), salmón Coho (*O. kisutch*) y trucha Arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) (Lozano, 2001).

Este crecimiento no hubiera sido posible si el país no ostentara las condiciones naturales propicias, caracterizado por la disponibilidad de extensas zonas marinas costeras, lacustres y fluviales que ofrecen óptimas condiciones ambientales para el cultivo de estas especies, en gran parte libres de contaminación y suficientes horas luz en épocas invernales (Méndez, 1988). También esta actividad ha obligado a los profesionales del sector a mejorar constantemente las condiciones bajo las cuales se desarrolla el cultivo de las distintas especies de salmónidos, realizando importantes adelantos tanto en el área de la alimentación como en el campo sanitario (Larraín, 1993).

La intensificación alcanzada con el proceso de producción, así como la alta concentración de la salmonicultura en la Décima Región, y el abastecimiento permanente de ovas extranjeras, llevan a que exista un gran riesgo permanente de introducción y diseminación de enfermedades infectocontagiosas (Reyes, 1983 y 1985; Mendez, 1988; Bustos, 1993) por esto, Chile ha ido perdiendo paulatinamente la ventaja histórica de país poseedor de un ambiente libre de ictiopatologías (Mendez y Vidal, 1994). Estas enfermedades infectocontagiosas y otras de etiología desconocida, causan altas mortalidades y grandes pérdidas económicas cuando se establecen en los nuevos ecosistemas (Macchiavello, 1992).

Se estima que el 10% de las especies de cultivo se pierden como resultado de enfermedades infecciosas (Leong y Fryer, 1993). Dentro de éstas, las enfermedades virales son consideradas de mayor importancia, debido a la dificultad del diagnóstico y control; ya que la mayoría de las epidemias son agudas o subagudas, además de la inexistencia de un tratamiento quimioterápico para ellas (Post, 1983).

Desde 1997, se ha presentado una nueva enfermedad en la X Región, denominada “**Síndrome Ictérico del Salmón Coho**”. Se presenta principalmente de manera estacional entre los meses de marzo a mayo afectando solamente a salmones Coho de 400 a 900 g en fase marina y con mortalidades variables, que han fluctuado entre 0.05 y 15 % acumulados. En ese

mismo año, dos casos clínicos muy similares fueron detectados en Puerto Chacabuco, XI Región. En 1998 afectó a tres empresas de la X Región, ubicadas en Chiloé (Burgos<sup>1\*</sup>, 2001).

El Síndrome Ictérico, Ictericia o “Peste Amarilla”, es una enfermedad relativamente nueva, que se ha clasificado como metabólico-nutricional, sin embargo, la etiología aún se desconoce (Enríquez<sup>2\*</sup>, 2001).

Entre los hallazgos clínicos más importantes se encuentran ictericia, branquias pálidas, coloración amarillenta en la base de las aletas y en el vientre, anemia severa (hematocrito menor a 10%), esplenomegalia moderada, entre otras (Kibenge y col., 2001). Además de área periocular amarillenta, hígado pálido con manchas, renomegalia leve, hepatomegalia, grasa visceral amarillenta y ascitis en algunos casos (Burgos<sup>1\*</sup>, 2001).

Según Groman<sup>3\*</sup> (2002), histológicamente se presenta hepatopatía necrotizante aguda multifocal media a moderada, hemólisis intravascular y marcada eritrofagia en varios órganos.

Entre enero y abril de 1999 en una empresa de la XI Región de Chile se presentó una alta mortalidad inusual en salmones Coho que cohabitaban con salmón Atlántico y trucha arcoiris dos meses después de haber sido trasladados al agua salada. El laboratorio Aquatic Health de Chile realizó análisis en conjunto con el Atlantic Veterinary College de la Universidad de Prince Edward Island de Canadá (UPEI). Inicialmente ISAV (virus de la Anemia Infecciosa del Salmón) fue detectado por RT-PCR (reacción de la polimerasa en cadena- transcriptasa reversa) ISAV-específico, donde 6 de 9 muestras fueron positivas. La habilidad del virus para crecer en cultivos celulares fue escasa y la citopatología no siempre fue evidente (Kibenge y col., 2001).

---

1\* Comunicación personal. José Miguel Burgos. SERNAPESCA.

2\* Comunicación personal. Dr. Ricardo Enríquez. S. Unidad de Ictiopatología, Universidad Austral de Chile.

3\* Comunicación personal. Dr David Groman, UPEI, Canadá.

La replicación del virus en cultivos celulares fue detectada por RT-PCR ISAV-específico e IFAT y la morfología del virus fue confirmada por microscopía electrónica. El Atlantic Veterinary College envió una submuestra al Instituto Veterinario Nacional de Oslo, en Noruega que confirmó la presencia de un aislado de virus ISA (Anemia Infecciosa del Salmón). Al respecto, los investigadores indicaron que el aislado chileno presentaba similitudes en su genoma respecto de los aislados canadienses y europeos, teniendo una mayor similitud con los primeros (99%), además por su habilidad para crecer en CHSE-214 (Kibenge y col., 2001).

La “Anemia Infecciosa del Salmón” (ISA), es una enfermedad viral de gran importancia económica que afecta al salmón Atlántico de cultivo; en etapa de smolt, posterior a su traslado al mar (Evensen y col., 1991; Thorud y Djupvik, 1988). Esta enfermedad se caracteriza principalmente por anemia severa y una elevada mortalidad (Thorud, 1991).

En 1984 en Brennes, Noruega, se presentó en salmones Atlántico en fase marina, el primer brote de la enfermedad llamada “Anemia Infecciosa del Salmón” (ISA) (Thorud y Djupvik, 1988). La primera sospecha de ISA en Canadá ocurre en el año 1996 en el área de New Brunswick. En este país la enfermedad fue descrita inicialmente como “Síndrome Hemorrágico del Riñón”(HKS) (Byrne y col., 1998) y confirmada como ISA en el año 1997 (Mullins y col., 1998). También en Escocia (Rodger y col., 1998), Chile (Kibenge y col., 2001) y Estados Unidos (Bouchard y col., 2001).

Estudios experimentales conducen hasta la fecha a identificar a la trucha café también llamada trucha de mar (Nylund y Jacobsen, 1995; Rolland y Nylund, 1998) y a la Trucha Arcoiris (Nylund y col., 1997) como portadores potenciales de ISAV.

El agente etiológico de la Anemia Infecciosa del Salmón es ISAV (Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón), un virus RNA perteneciente a la familia Ortomyxiviridae. El virus es sensible al cloroformo, al calor y al pH ácido, además aglutina solamente eritrocitos de peces. La temperatura óptima de replicación en los cultivos es de 10° a 15°C y no crece a los 25°C (Falk y col., 1997). La línea celular de preferencia para el aislamiento de este virus es (SHK-1) células de riñón anterior de salmón (Dannevig y col., 1995), pero también crece en la línea celular de embrión de salmón Chinook (CHSE-214) (Kibenge y col., 2000).

Los peces afectados presentan externamente: exoftalmia, distensión de abdomen, branquias pálidas. Internamente se presenta ascitis que va desde color amarillento a sanguinolento, corazón pálido, hígado de tonalidad oscura y con signos inflamatorios, con lesiones multifocales y apariencia general de nuez moscada (zonas alternadas oscuras y claras). El bazo se encuentra congestionado y de tonalidad oscura, al igual que el riñón,



también se presenta enteritis que varía de una forma leve o catarral hasta una de tipo hemorrágica. En casos más severos se observan hemorragias musculares y oculares, así como petequias en el tejido adiposo (Poppe, 1997).

En el hígado los cambios degenerativos en el endotelio sinusoidal ocurren 14 días post inoculación experimental del virus (p.i) produciendo hemorragias. Esto va acompañado por congestión sinusoidal, peliosis hepática (formación de cavidades en el parénquima llenas de sangre) y degeneración de los hepatocitos. La lesión característica más importante es la necrosis hemorrágica confluyente multifocal que se desarrolla aprox. 25 días post inoculación. Las lesiones en el bazo se caracterizan en primer lugar por congestión seguida de hemorragia lo que lleva a un aumento en la eritrofagocitosis (Poppe, 1997). En el riñón las lesiones se caracterizan por hemorragia intersticial, necrosis tubular aguda y degeneración tubular (Byrne y col., 1998). La congestión de los vasos de la lámina propia del intestino puede seguirse de hemorragia en el lumen intestinal y descamación de las células epiteliales (Poppe, 1997).

El daño hepático observado al comienzo de la enfermedad produce un aumento en la actividad de las siguientes enzimas del plasma: ALT (alanina amino transferasa), AST (aspartato amino transferasa ) y LD (lactato deshidrogenasa), así como elevación de electrolitos como el Potasio (K) (Poppe, 1997). También se describe hipoproteïnemia e hiperosmolaridad, con incremento en la concentración plasmática de Sodio y Cloruro (Byrne y col., 1998).

Los cambios hematológicos típicos incluyen una anemia de tipo microcítica hipocrómica, con una reducción en el hematocrito (menor a 10), así como en el número total de eritrocitos. Los eritrocitos circulantes muestran anomalías como fragmentación, desintegración nuclear y vacuolización del citoplasma (Poppe, 1997).

La transmisión de la enfermedad es de tipo horizontal. Esta ocurre cuando el salmón del Atlántico en etapa de smolt es transferido al agua salada, aunque se reporta en Noruega un caso en alevines de primera alimentación (Nylund y col., 1999). Las rutas potenciales de transmisión incluyen la oral, branquial (aunque en menor importancia) y percutánea; esta última vía adquiere importancia por el posible rol del piojo de mar (*Lepeophtheirus salmonis*), como vector en la transmisión de la enfermedad. Además, el mucus y la sangre de peces enfermos contienen grandes cantidades del virus y son muy efectivos en transferir la enfermedad a peces sanos (Rolland y Nylund, 1998). La transmisión vertical no se ha comprobado aunque se ha identificado la presencia del virus en fluidos ováricos (Melville y Griffiths, 1999). La transmisión pasiva en el agua salada es de menor importancia en la propagación del virus; sin embargo, ISAV persiste por 20 horas en agua de mar (Plumb, 1999).

Diversos factores de riesgo influyen en la incidencia de ISA. Por ejemplo en Noruega, la incidencia de la enfermedad fue significativamente alta cuando los centros se encontraban a una distancia de 5 Km de las plantas faenadoras de salmónes y el riesgo de la enfermedad se incrementa 8:1 si los centros de cultivo se encuentran cerca de un sitio positivo a ISAV (Jarp y Karlsen, 1997).

El impacto de ISA en Noruega se estima en pérdidas de US \$704.000.000 por año y en Canadá la pérdida estimada es de unos US \$20.000.000. Este impacto económico trajo consigo una serie de medidas tendientes al mejoramiento de la industria de cultivo. Estas son: uso de protocolos de desinfección, mejoramiento de la vigilancia epidemiológica de las enfermedades, procesamiento de desechos, protocolos para las plantas de proceso e incremento de fondos gubernamentales para vigilancia, investigación y desarrollo (Cusack y col., 1999).

Las mortalidades por ISAV pueden ser muy altas llegando a más de un 50% en poblaciones infectadas naturalmente. En infecciones experimentales las mortalidades acumuladas hasta el día 30 estuvieron entre un 6% a un 82% y de un 45% a un 100% en la misma población después del día 70 post infección (Nylund y col., 1994).

Los métodos diagnósticos más comunes para la detección de ISAV incluyen aislamiento viral en células de riñón anterior de salmón (SHK-1) (Dannevig y col., 1995) y en células de embrión de salmón chinook (CHSE-214) (Bouchard y col., 1999), prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFAT) y reacción de la polimerasa en cadena- transcriptasa reversa (RT-PCR) (Blake y col., 1999; Bouchard y col., 1999). Otras ayudas diagnósticas incluyen observación clínica y epidemiológica de los brotes (Jarp y Karlsen, 1997), hallazgos clínicos e histopatología (Evensen y col., 1991; Falk y Dannevig, 1995; Byrne y col., 1998).

La OIE (1997) recomienda basar el diagnóstico en las lesiones macroscópicas, hematología (signos de anemia), histopatología, aislamiento viral y/o IFAT si es necesario.

En la actualidad, los exámenes de diversos laboratorios diagnósticos nacionales no han podido llegar a una causa precisa del Síndrome Ictérico del salmón Coho y en el caso de existir, ésta información parece no estar disponible. La ictericia como tal es muy infrecuente de observar en peces, por esta causa es muy difícil determinar una causa específica requiriéndose mayor desarrollo e investigación al respecto.

Dado que esta enfermedad ha sido reportada recientemente en el país este estudio tiene como principal objetivo caracterizar anatómica, macroscópica y microscópicamente el **Síndrome Ictérico del Salmón Coho**, de esta manera aportar antecedentes a la etiología de la

enfermedad y contribuir a la difusión de los conocimientos acerca de este Síndrome, para mejorar el control, la prevención y el diagnóstico, ya que si bien se ha clasificado como metabólico-nutricional, existe un agente infeccioso asociado.

## 6. MATERIAL Y MÉTODO.

### 6.1. MATERIAL

#### 6.1.1 Material Biológico

Para la caracterización de la enfermedad se seleccionaron mediante muestreo dirigido, salmones Coho que presentaron anemia e ictericia, extraídos de balsas-jaulas en fase marina de cultivo en la X Región del país durante los años 1999 al 2002.

**TABLA N°1: DISTRIBUCIÓN DE LA POBLACIÓN DE SALMONES COHO MUESTREADOS SEGÚN EL N° DE CASO/ AÑO.**

Caso	N	%
70/99	14	12,72
92/99	9	8,18
121/99	*	*
100/00	20	18,18
111/00	24	21,82
119/00	17	15,45
271/00	*	*
53/01	15	13,64
70/02	*	*
84/02	11	10,00
<b>TOTAL</b>	110	100,00

\* Número no determinado. En estos casos solo se enviaron muestras de órganos de peces.

#### 6.1.2 Material de Laboratorio

Este estudio se realizó en el Laboratorio de Ictiopatología de la Universidad Austral de Chile, donde se ejecutaron las necropsias, tinciones de Gram y Giemsa, microhematocritos, examen bacteriológico y viral. Para la realización del estudio histológico las muestras fueron enviadas al Laboratorio de Anatomía Patológica, ambos del Instituto de Patología Animal de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Austral de Chile. El estudio del perfil metabólico se realizó en el Laboratorio de Patología Clínica del Hospital Clínico Veterinario de esta Universidad.

## 6.2 MÉTODO.

### 6.2.1 Obtención de muestras

De los centros de cultivo afectados que fueron visitados se extrajeron peces vivos en forma dirigida en número de 10 a 15, que presentaron signología clínica de anemia e ictericia. Los peces fueron anestesiados y sacrificados por sobredosis con el producto Benzocaína\*. Posteriormente, cada pez fue examinado externa e internamente completando un formulario de necropsia para tal efecto. Se extrajeron las muestras de tejidos y órganos necesarios para los análisis en los respectivos laboratorios.

### 6.2.2 Procesamiento de las muestras

#### 6.2.2.1 Examen Clínico Externo

Cada pez fue examinado clínicamente mediante inspección directa donde se describió macroscópicamente las alteraciones externas de acuerdo a un protocolo diseñado para tal efecto. Durante este examen se extrajeron las muestras de sangre para el estudio sanguíneo.

#### 6.2.2.2 Examen Clínico Interno

Finalizado el examen externo de los peces se procedió a realizar la necropsia de acuerdo al **Fish Health Blue Book** (Amos, 1985) y a través de la inspección directa se describieron las alteraciones macroscópicas de los órganos examinados, para luego registrar la información en un protocolo diseñado para tal efecto. Durante este examen se extrajeron las muestras para bacteriología, virología, improntes de órganos e histología.

.....  
\* BZ-20®

Laboratorio Veterquímica.

### **6.2.2.3 Estudio Sanguíneo**

De los peces examinados se obtuvo sangre por punción de la vena caudal, para realizar el hematocrito, frotis y perfil metabólico. Se utilizaron tubos con y sin anticoagulante (heparina 1:200) de cada pez examinado. Para realizar el hematocrito la sangre fue colectada en tubos de microhematocrito heparinizados y luego fueron centrifugados durante 5 minutos a 12.000 rpm, para posteriormente realizar la lectura de cada minitubo utilizando una tabla para obtener el porcentaje de volumen globular aglomerado (VGA), considerando como peces anémicos a aquellos que presentaron un VGA menor a 34% (Stoskopf, 1993). Posteriormente se realizaron frotis sanguíneos sobre portaobjetos los cuales fueron fijados con metanol durante 5 minutos y teñidos con tinción Giemsa y observados al microscopio óptico con aceite de inmersión con objetivo 100x con la finalidad de diferenciar y caracterizar el componente celular y detectar la presencia de microorganismos.

### **6.2.2.4 Perfil Metabólico**

Las muestras no heparinizadas se centrifugaron a 12.000 rpm durante 5 minutos y se enviaron al Laboratorio de Patología Clínica del Hospital Clínico Veterinario de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Austral de Chile donde se midió la actividad plasmática de las siguientes enzimas: AST (aspartato amino transferasa), ALT (alanina amino transferasa) y FA (fosfatasa alcalina), también bilirrubina, proteínas totales, albúminas, globulinas y colesterol, para determinación de funcionalidad hepática. Para determinar funcionalidad renal: urea y creatinina y los siguientes electrolitos: fósforo, calcio y magnesio, además de hemoglobina.

### **6.2.2.5 Improntes de Órganos**

Se realizaron improntes de tejido renal, hepático y esplénico los que fueron fijados por calor y teñidos con Gram.

### **6.2.2.6 Estudio Histopatológico**

De aquellos peces que evidenciaban la signología de “Síndrome Ictérico” se procedió a realizar las tomas de muestras para el estudio histológico obteniendo trozos de tejido hepático, renal, esplénico y cardíaco los cuales fueron fijados en formalina bufferizada al 10%. Estas muestras fueron procesadas en autotécnico y teñidas con Hematoxilina-Eosina (H/E) y luego fueron sometidas a estudio histológico con la finalidad de caracterizar microscópicamente la enfermedad.

#### **6.2.2.7 Examen Bacteriológico**

Se realizaron siembras en placas de agar TSA+ sal y agar cerebro corazón de muestras de hígado, riñón y bazo de cada pez examinado. Se incubaron a 20-25 °C por 7 días.

#### **6.2.2.8 Examen Viroológico**

Se formaron pooles de 5 peces cada uno. De los peces se extrajeron muestras de riñón, bazo e hígado o de corazón, riñón y sacos pilóricos en proporción de 3:1:1. Se realizaron diluciones 1:10 y 1:100, las cuales se inocularon en las líneas celulares SHK-1 y CHSE-214 incubando a 15 °C por 15 días. Se realizaron 3 pasajes para evidenciar efecto citopático.

## 7. RESULTADOS.

### 7.1 SIGNOS CLÍNICOS

Mediante muestreo dirigido se realizó la extracción de 110 peces que presentaron un aumento inusual en la mortalidad e ictericia; solo se presentó letargia en casos de gravedad, el apetito no se vio mayormente afectado, el estado de nutrición en los peces observados fue bueno, la conformación de los peces era normal y solamente se presentó una leve distensión abdominal.

En la siguiente tabla se presenta un resumen de los hallazgos a la inspección externa en los peces muestreados.

**TABLA N°2. DISTRIBUCIÓN DE SIGNOS EXTERNOS OBSERVADOS EN SALMONES COHO CON ICTERICIA EXAMINADOS, PROCEDENTES DE CENTROS DE CULTIVO DE LA X REGIÓN DURANTE 1999-2002.**

<b>LESIONES EXTERNAS</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
<b>Ictericia</b>	110	100%
<b>Pérdida escamas</b>	62	56,36%
<b>Tinte amarillento ventral</b>	14	12,73%
<b>Petequias y equimosis abdominal</b>	10	9,09%
<b>Branquias pálidas</b>	38	34,54%
<b>Branquias amarillentas</b>	31	28,18%
<b>Aletas hemorrágicas</b>	24	21,82%
<b>Opacidad corneal</b>	3	2,73%
<b>Exoftalmia bilateral leve</b>	10	9,09%
<b>Quiste líquido seromucoso en vejiga gaseosa</b>	3	2,73%
<b>TOTAL</b>	110	100%

En este cuadro se aprecia las principales lesiones externas asociadas al Síndrome Ictérico como: pérdida de escamas (56,36), branquias pálidas (34,54%), branquias amarillentas (28,18%) y aletas hemorrágicas (21,82%).



**TABLA N°3. DISTRIBUCIÓN DE SIGNOS INTERNOS OBSERVADOS EN SALMONES COHO CON ICTERICIA EXAMINADOS, PROCEDENTES DE CENTROS DE CULTIVO DE LA X REGIÓN (1999-2002).**

<b>LESIONES INTERNAS</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
<b>Ascitis amarillenta</b>	79	71,82%
<b>Hígado pálido con aspecto moteado</b>	103	93,64%
<b>Hígado con puntillado anaranjado</b>	7	6,36%
<b>Renomegalia leve</b>	79	71,82%
<b>Esplenomegalia</b>	79	71,82%
<b>Bloat</b>	24	21,82%
<b>Intestino con contenido amarillento</b>	48	43,64%
<b>Enteritis</b>	31	28,18%
<b>Musculatura pigmentada amarillenta</b>	69	62,73%
<b>TOTAL</b>	110	100%

En esta tabla se aprecia principalmente: hígado pálido con aspecto moteado (93,64%), ascitis amarillenta (71,82%), renomegalia leve (71,82%), esplenomegalia (71,82%) y musculatura pigmentada amarillenta (62,73%).

## 7.2 ESTUDIO SANGUÍNEO

### 7.2.1 Hematocrito

De 33 muestras de peces obtenidas por muestreo dirigido a peces con ictericia los valores de hematocrito (VGA) fluctuaron entre de 2.33-34.83% (ver tabla N° 4). Peces con  $VGA < 34\%$  fueron pesquizados en un 84.37% de las muestras. Los detalles de cada caso se pueden apreciar en el anexo N° 1.

**TABLA N° 4. DISTRIBUCIÓN DEL HEMATOCRITO (VGA) POR CASO, EN SALMONES COHO CON ICTERICIA EXAMINADOS PROCEDENTES DE CENTROS DE CULTIVO DE LA X REGION DURANTE 1999-2002.**

CASO	N	VGA(%)	RANGO
70/99	16	20,43	20-60
92/99	4	27	15-31
121/99	*	*	*
100/00	6	34,83	26-50
111/00	*	*	*
119/00	*	*	*
271/00	*	*	*
53/01	4	12,75	2-26
70/02	3	2,33	2-3
84/02	*	*	*
<b>TOTAL</b>	<b>33</b>		

\* Valores no determinados

### 7.2.2 Estudio de frotis sanguíneos (Giemsa)

De los 21 frotis de sangre teñidos con Giemsa como principal hallazgo se observa un 85,71% de eritroblastosis, un 42,85 % células de la línea blanca inmaduras, 38,09% de destrucción celular, 23,81% de eritrocitos con núcleos carioplásticos (ver tabla N°5). Los detalles de cada muestra se pueden apreciar en el anexo N° 2.

**TABLA N°5. DISTRIBUCION DE LOS HALLAZGOS MORFOLÓGICOS MÁS RELEVANTES EN FROTIS DE SANGRE TEÑIDOS CON GIEMSA EN MUESTRAS DE SALMONES COHO CON ICTERICIA PROCEDENTES DE LA X REGIÓN DURANTE 1999-2002.**

<b>N° de muestra.</b>	<b>Total</b>	<b>%</b>
<b>Eritrocitos c/ núcleos carioplásticos</b>	5	23,81%
<b>Ausencia de eritrocitos maduros</b>	2	9,52%
<b>Eritroblastosis</b>	18	85,71%
<b>Destrucción celular</b>	8	38,09%
<b>Cúmulos cél. inmaduras</b>	2	9,52%
<b>Cél. línea blanca inmadura</b>	9	42,85%
<b>Linfocitos</b>	1	4,76%
<b>Macrófagos</b>	2	9,52%

### 7.2.3 Perfil Metabólico

**TABLA N°6. MEDIA (PROMEDIO) DE PERFILES METABÓLICOS POR CASO EN SALMONES COHO CON ICTERICIA EXAMINADOS PROVENIENTES DE CENTROS DE CULTIVO DE LA X REGIÓN DURANTE 1999-2002.**

Caso	PRO T g/L	ALB g/L	GLO g/L	URE Mmol/ L	CRE Umol/ L	COL Mmol /L	AST U/I	ALT U/I	FA U/I	P mmol /L	BIT Umol /L	Ca mmol/ L	Mg mmol/ L	Hb g/dl
70/99	45,86	17,86-	28,00-	1,82+	*	11,44	229,36	22,93+	*	6,28+	*	3,00-	1,51-	6,12-
92/99	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	2,60	*	*	*
121/99	61,20	23,20	38,0	1,86+	*	12,61	504,75+	40,00+	*	6,62+	*	3,05-	1,14-	6,81-
119/00	34,00-	17,67-	16,33-	*	74,00+	9,66	154,83	19,50+	0,70	4,90	0,85	*	*	*
70/02	*	12,00-	*	1,89+	10,33	4,63-	402,33+	23,00+	0,08-	5,08	*	*	*	*
Valores de referencia														
MIN	38	20	32	1,00	10	6,70	60	0	0,10	2,0	0,50	3,50	3,0	7,0
MAX	62	36	56	1,80	70	15,90	260	10	4,00	6,0	8,50	12,50	5,0	13,0

+ o – Indica valor sobre o bajo valor de referencia.

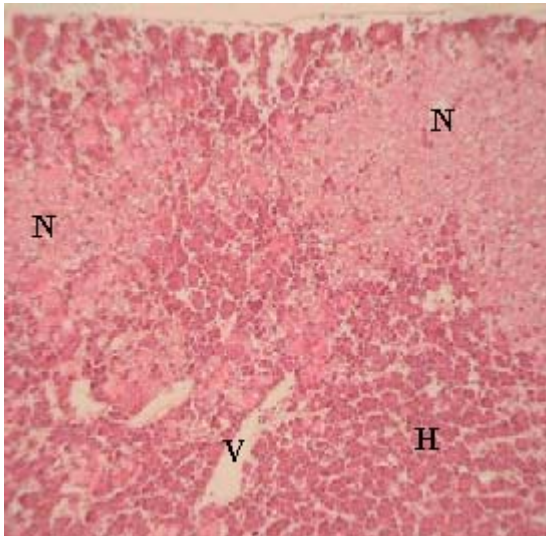
\* Indica valor no determinado.

Los hallazgos más importantes en los perfiles metabólicos de peces con “Síndrome Ictérico” son: Aumento de ALT y urea en todos los casos, AST se encuentra severamente aumentada en dos casos, fósforo se encuentra levemente aumentado en dos casos, disminución de calcio, magnesio, hemoglobina, albúmina se encuentra disminuida en 3 casos y globulinas se encuentra disminuida en dos casos. Los detalles se pueden apreciar en el anexo N° 3.

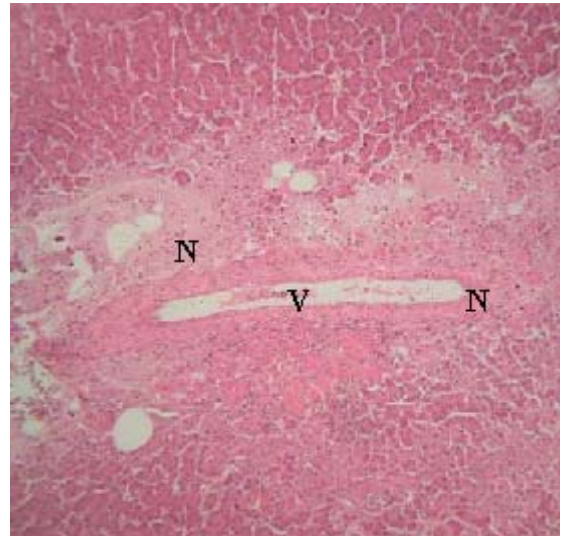
### 7.3 ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO

A continuación se presentan las características histológicas correspondientes al análisis efectuado en hígado, bazo, riñón, corazón y musculatura en salmones Coho afectados con Síndrome Ictérico.

**Hígado (9):** Los hepatocitos muestran atrofia difusa que va de moderada a severa, presentan tumefacción turbia y degeneración vacuolar moderada. Se observan múltiples áreas de necrosis, las cuales coalescen comprometiendo irregularmente al parénquima. En algunas de las zonas de necrosis se encuentra infiltrado macrofágico. La mayoría de estas zonas de necrosis son vecinas a grandes vasos sanguíneos. En algunos espacios portales se encuentra marcado infiltrado inflamatorio mixto perivascular, correspondiendo a una necrosis hepática aguda multifocal confluyente y hepatitis periportal multifocal.

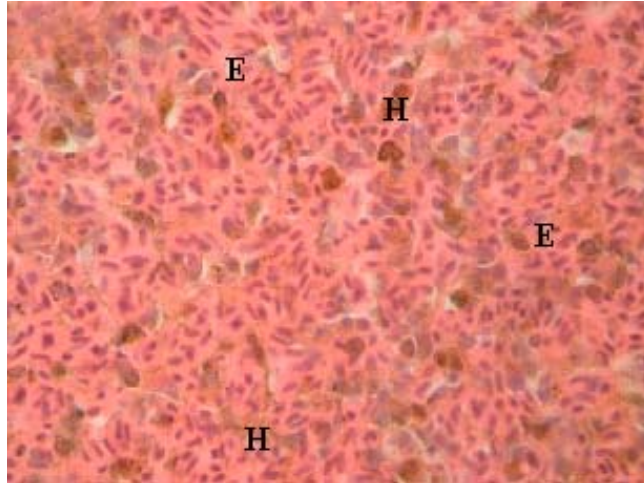


**FIGURA N°1 (100x).** Necrosis hepática (N) multifocal confluyente. Se observan zonas de necrosis vecinas a vasos sanguíneos y hepatocitos normales (H).



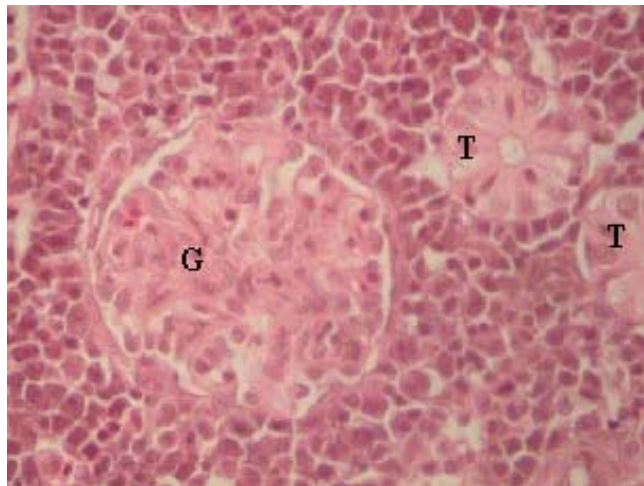
**FIGURA N°2 (100x).** Necrosis (N) alrededor de los vasos sanguíneos (V).

**Bazo (6):** Congestión severa difusa con fuerte hemosiderosis. Infiltrado celular heterogéneo mononuclear perivascular; correspondiendo a una congestión esplénica severa con hemosiderosis.



**FIGURA N° 3 (100x).** Congestión (E) esplénica severa con hemosiderosis (H).

**Riñón (4):** Marcada proliferación de células mononucleares a nivel insterticial especialmente denso alrededor de vasos sanguíneos, con pequeños focos de necrosis en algunas zonas y algo de hemorragia. Glomerulonefritis severa con fibrosis capsular y de algunos ovillos glomerulares de tipo crónica. Los túbulos se encuentran dilatados, con degeneración de los epitelios tubulares y en algunos casos fibrosis peritubular; correspondiendo a una glomerulonefritis crónica severa y nefritis difusa con focos de necrosis.



**FIGURA N°4 (100x).** Glomerulonefritis crónica (G) con fibrosis capsular y nefritis difusa con focos de necrosis (T).

**Corazón (2):** Moderado infiltrado inflamatorio en epicardio acompañado de congestión y entre fibras musculares; correspondiendo a una epi y miocarditis moderada.

**Musculatura (1):** Marcada atrofia y degeneración de algunas fibras musculares; correspondiendo a atrofia y degeneración muscular.

## 7.4 EXAMEN BACTERIOLÓGICO

### 7.4.1 Cultivo Bacteriológico

Se realizaron 55 siembras en placas de agar TSA+ sal y cerebro corazón de muestras de hígado, riñón y bazo de cada pez examinado. Se incubaron a 20-25 °C por 7 días. Todas resultaron negativas.

### 7.4.2 Tinción de Gram

**TABLA N° 7. HALLAZGOS MICROBIOLÓGICOS MÁS RELEVANTES EN FROTIS DE ÓRGANOS TEÑIDOS CON SOLUCIÓN GRAM EN MUESTRAS DE SALMONES COHO CON ICTERICIA PROCEDENTES DE LA X REGIÓN DURANTE 1999-2002.**

ÓRGANO.	N°	TIPO RICKETTSIAS		TIPO FLAVOBACTERIAS	
		N	%	N	%
<b>Hígado.</b>	8	1		1	
<b>Riñón</b>	24				
<b>Bazo</b>	3				
<b>TOTAL</b>	35	1	2,85%	1	2,85%

De 35 muestras obtenidas, 2,85% presentaron bacterias tipo rickettsias y 2,85% presentaron bacterias tipo flavobacterias.

## **7.5 EXAMEN VIROLÓGICO**

De 58 pooles de órganos cultivados en CHSE-214 y SHK-1 se presentó efecto citopático en 4, todos fueron negativos a IFAT-ISA, posteriormente se sometieron a IFAT-IPN, resultando positivos a IPN virus.



## 8. DISCUSIÓN.

El hallazgo de una nueva condición en la salmonicultura nacional, conocida como Síndrome Ictérico del Salmón Coho (SISC) ha ocasionado pérdidas en peces de 400-900 g. en fase marina. Frente a esto, se ha llevado a cabo esta investigación a fin de contribuir al conocimiento de esta patología de etiología aún en controversia.

Según los resultados obtenidos en el estudio realizado, al total de los peces analizados para el examen clínico externo, se apreció que el hallazgo más frecuente fue la ictericia (100%), cabe señalar que uno de los criterios para la extracción de los peces por muestreo dirigido, fue esta característica.

La ictericia en mamíferos es una manifestación clínica que se presenta frecuentemente en enfermedades hepáticas y de las vías biliares, aunque también aparece en afecciones ajenas a dichos órganos. La diferenciación más simple entre los tipos de ictericia es definir si cursan o no con alteración del flujo biliar. La ictericia sin alteración del flujo biliar se denomina ictericia por sobreproducción o hemolítica. La ictericia producida por alteración del flujo biliar se produce por degeneración de los hepatocitos (hepatitis) o por colestasis intrahepática primitiva (Blood y Radostits, 1992).

Clínicamente se conoce como ictericia la acumulación de bilirrubina en el suero o en tejidos. Se puede determinar la concentración sérica de bilirrubina total, o bien de sus fracciones (directa e indirecta). La bilirrubina indirecta aumenta en casos de hemólisis (ictericia prehepática) y alteración hepatocelular (ictericia hepática). La bilirrubina directa esta aumentada en alteración hepatocelular y colestasis (Ictericia posthepática) (Wittwer y Bohmwald, 1983).

En este estudio el valor de bilirrubina total fue de 2.6  $\mu\text{mol/L}$  (rango 1.82-3.38  $\mu\text{mol/L}$ ) estos valores se encuentran dentro de los rangos de referencia (0.50-8.50  $\mu\text{mol/L}$ ) (Stoskopf, 1993). Sin embargo, se debe tomar en cuenta que la muestra para la determinación de bilirrubina debe ser suero libre de hemólisis, condición que no se cumplió en todas las muestras, por lo tanto se pudo determinar bilirrubina en un reducido número de peces.

Los valores de bilirrubina fueron normales y hasta disminuidos, pero este dato no es confiable, por lo reducido de la muestra y los factores anteriormente mencionados.

La ictericia no es comúnmente observada en peces. Se puede encontrar en deficiencias hepáticas por tóxicos y enfermedades hemolíticas (Ferguson, 1989), como por ejemplo en el Síndrome de Cuerpos de Inclusión Intraeritrocitarios (EIBS: Erythrocytic Inclusion Body Syndrome), ictiopatología presente en Chile que afecta al salmón Atlántico y al salmón Coho. Esta enfermedad cursa clínicamente con anemia e hiperbilirrubinemia (Sakai y col., 1994) y con mortalidades que van de 1-50% (Plumb, 1999). Estos cuerpos de inclusión son intracitoplasmáticos y son detectados por frotis de sangre y de riñón usando las tinciones Giemsa- Pinacianol (Leek, 1987). En ninguno de los frotis teñidos con Giemsa observados en este estudio se encontraron cuerpos de inclusión intracitoplasmáticos.

La principal lesión externa asociada al SISC fue la pérdida de escamas en un 56.36% de los peces. Estas descamaciones epidérmicas se manifiestan ante todo en cultivos intensivos y en animales jóvenes; puede tener un origen físico-químico del agua o parasitario. Este tipo de lesión se aprecia en diferentes cuadros patológicos y en peces normales sometidos a condiciones de estrés ambiental (De Kinkelin, 1991). También se observa en peces con deficiencias osmorregulatorias producidas por disfunciones renales (Folmar y col., 1982).

La palidez branquial se observó en un 34.54% de los peces, este es el principal signo indicativo de anemia (Roberts, 1981), la cual corresponde a la expresión externa de esta, detectada en peces mediante valoración del hematocrito. A pesar de que este es un signo importante, no es totalmente certero, ya que no siempre los peces con palidez branquial presentan valores bajos de hematocrito. Por consiguiente, peces que no presentan palidez branquial pueden dar hematocritos disminuidos (Flores, 1996).

Otras lesiones al examen clínico externo fueron: branquias amarillentas 28.18% y aletas hemorrágicas 21.82%, esta última sucede frecuentemente en peces que cursan con enfermedades septicémicas de origen viral o bacteriano y por mal manejo (De Kinkelin, 1991).

Si bien cualquiera sea la combinación e intensidad en su expresión, las manifestaciones clínicas externas en los peces raramente son patognomónicas, sin embargo al hacer una comparación con ISA (Anemia Infecciosa del Salmón) las lesiones externas clásicas descritas por Poppe (1997), coinciden con el cuadro de Síndrome Ictérico del Salmón Coho excepto por la ictericia de los tejidos, la cual no se presenta en ISA.

En relación con las alteraciones macroscópicas observadas en los órganos internos, se aprecia hígado pálido con aspecto moteado (93.64%), las lesiones son multifocales, se alternan zonas claras con zonas oscuras, lo que indica claramente una lesión en este órgano, que se confirma con el análisis histológico, ascitis amarillenta (71,82%), renomegalia leve (71,82%), esplenomegalia (71,82%), musculatura pigmentada amarillenta (62,73%). Las alteraciones

macroscópicas internas descritas por Poppe (1997) para ISA, coinciden con las del SISC excepto en el hígado, el que en ISA se presenta de color negro e inflamado con apariencia de nuez moscada por la falla circulatoria y la hemorragia del parénquima. La ascitis es un hallazgo bastante constante en ISA pero va de típicamente amarillenta a hemorrágica, además del aumento de volumen y congestión del bazo y riñón.

De 33 muestras obtenidas por muestreo dirigido a salmones Coho con ictericia, los valores de hematocrito (VGA) fluctuaron entre de 2,33-34,83 %. En los frotis de sangre teñidos con Giemsa como principal hallazgo se observa un 85,71% de eritroblastosis, 42% de células inmaduras de la línea blanca, 38,09% destrucción celular y 23,81% de eritrocitos con núcleos carioplásticos. Con estos datos podemos concluir que la anemia producida por este cuadro es regenerativa (desviación a la izquierda) y se sugiere que debido a la destrucción celular y la presencia de eritrocitos con núcleos carioplásticos es de tipo hemolítica. Estos hallazgos concuerdan con lo descrito en ISA, donde el hematocrito está fuertemente reducido (menor al 10%) (Poppe, 1997) y la anemia es de tipo hemolítica intravascular (Simko y col., 2000).

La hemoglobina se encuentra disminuida. No se pudieron obtener los Índices de Wintrobe para una clasificación más específica de la anemia, porque no se midió el Recuento Total de Eritrocitos y los valores de hemoglobina no se obtuvieron de los mismos peces de los cuales se midió el hematocrito.

Normalmente un bajo número de eritrocitos son constantemente removidos por los macrófagos del bazo y tejido hematopoyético del riñón. En la anemia hemolítica la tasa de destrucción es mucho más alta y la tasa de producción aumenta para compensar la deficiencia, por lo tanto hay circulación de eritrocitos inmaduros, depósito de hemosiderina en los centros melanomacrófagos del bazo y puede haber desarrollo de tejido hematopoyético metastásico en el área periportal del hígado (Robert, 1981). Todas estas alteraciones patológicas descritas anteriormente concuerdan con los cambios observados en SISC

Las anemias de tipo hemolíticas en peces también resultan de la exposición a hemolisinas de origen bacteriano (*Vibrio* spp). También a infestaciones masivas con hematozoos como *Trypanosoma*, *Cryptobia* o *Haemogregarina*. Infecciones virales como el Virus de la Necrosis Eritrocítica (VEN) también causa lisis del eritrocito y anemia hemolítica (Ferguson, 1989). Situaciones tóxicas pueden resultar en hemólisis. Destrucción masiva de eritrocitos y formación de Metahemoglobina aparecen con la exposición al Cloro. Formación de Metahemoglobina con o sin destrucción eritrocitaria puede observarse en intoxicaciones con Nitritos, Anilina y Nitrobenzeno (Robert, 1981).

Las enzimas hepáticas AST (aspartato amino transferasa) y ALT (alanina amino transferasa), se encuentran aumentadas en SISC, lo que coincide con lo descrito por Poppe (1997) para ISA. Esto corrobora el daño hepático detectado en el examen clínico interno donde se observa el hígado pálido de aspecto moteado y se confirma con el análisis histológico.

Las proteínas plasmáticas en forma individual, albúminas y globulinas, se encuentran levemente disminuidas debido a la disfunción hepática y al aumento de la permeabilidad capilar producida por el daño endotelial. No así el recuento de proteínas totales, contrario a lo reportado por Simko y col., (2001) y Byrne y col., (1998), que demuestran una estrecha correlación entre anemia e hipoproteinemia. Pero este resultado se puede explicar por el momento en el tiempo que fueron medidas, ya que el daño hepático al inicio de la enfermedad no causa una depleción significativa en la composición de las proteínas plasmáticas, no así en un período tardío, donde se produce la necrosis hepática.

La disminución de las proteínas plasmáticas son atribuidas a daño renal, pero deben interpretarse con precaución. La causa de la baja en estas puede ser por la inanición, disminución en la síntesis debido a disfunción hepática, aumento de la permeabilidad capilar y/o por degradación causada por enzimas proteolíticas liberadas por bacterias o virus que dañan las células endoteliales (Roberts, 1981).

Los electrolitos plasmáticos, calcio y magnesio se encuentran disminuidos en SISC. La disminución de calcio ocurre en enfermedades generalizadas, la disminución de calcio asociada a la disminución de albúmina revela daño hepático (Casillas y col., 1986). Esto sucede probablemente porque la albúmina ligada al calcio plasmático actúa como transportador. La disminución del magnesio plasmático está descrito por Byrne y col. (1998) en ISA y es producida por la pérdida de la capacidad osmorregulatoria.

Urea se encuentra aumentada en SISC debido principalmente a la falla renal, ya que es este órgano el encargado de eliminarla. Creatinina, colesterol y fosfatasa alcalina se encontraron dentro de los rangos normales.

Una de las limitantes de la patología clínica en peces, son los valores de referencia, debido a la enorme variabilidad de los parámetros obtenidos como consecuencia de la gran capacidad que tiene el pez de reaccionar a diferentes estímulos tales como alimentación, manejo, estrés, medio ambiente, etc. (Bentinck-Smith y col., 1987). Esta es la razón de la gran amplitud de los valores referenciales mínimos y máximos. También se debe considerar para interpretar cuidadosamente estos resultados la falta de valores actualizados y estandarizados a la realidad local para que las comparaciones sean más objetivas.

Histológicamente el hígado de peces con SISC presenta principalmente múltiples áreas de necrosis, las cuales coalescen comprometiendo irregularmente al parénquima, con infiltrado macrofágico en algunas de estas, la mayoría son vecinas a grandes vasos sanguíneos. En algunos espacios portales se encuentra un marcado infiltrado inflamatorio mixto perivascular.

Estos hallazgos son concordantes con los estudios histológicos realizados en hígados de salmones del Atlántico afectados con ISA por Simko y col. (2000), donde se presentan tres modelos de alteraciones hepáticas: Necrosis individual de hepatocitos e inflamación, necrosis multifocal y congestión con peliosis hepática.

En los salmones Coho estudiados se presentó necrosis multifocal confluyente, alteración hepática que concuerda con uno de los tres modelos descritos por Simko y col. (2000) y a lo descrito por Poppe (1997) y Evensen y col., (1991) en ISA.

La necrosis hepática en peces generalmente se presenta en pequeñas zonas de uno o más hepatocitos frente a enfermedades tóxicas y/o septicémicas. Los cambios se evidencian primariamente con la rápida condensación de la cromatina nuclear, seguida del incremento en la eosinofilia citoplasmática y la individualización de los hepatocitos viables. Los remanentes celulares pueden ser fagocitados por células adyacentes. Estos cambios necróticos pueden ser acompañados por infiltrado inflamatorio. La necrosis en zonas más extensas, multifocales y alrededor de vasos sanguíneos se describen en ISA (Ferguson, 1989).

La necrosis alrededor de vasos sanguíneos en SISC demuestra el daño de los endotelios que también se describen en ISA, y que se asemeja a la anemia microangiopática en humanos (alteración en los pequeños vasos) clasificada como anemia hemolítica intravascular que resulta en un fuerte daño eritrocítico e incremento en la eritrofagocitosis (Simko y col., 2001).

El bazo presenta congestión difusa severa con fuerte hemosiderosis, esta última es característica de cuadros que cursan con hemólisis. El pigmento rodea los elipsoides esplénicos y también se puede encontrar una gran acumulación de estos en los centros melanomacrofágicos. Otro hallazgo es el infiltrado celular heterogéneo, el cual se encuentra más denso a nivel perivascular como consecuencia de la eritrofagocitosis. La congestión del bazo y la eritrofagocitosis está descrita por Bouchard y col. (2001), Simko y col. (2000) y Poppe (1997) en ISA.

En el riñón de salmones Coho con SISC se observaron pequeños focos de necrosis intersticial y algo de hemorragia y glomerulonefritis severa con fibrosis capsular de algunos

ovillos glomerulares de tipo crónica. Los túbulos se encontraron dilatados, con degeneración de los epitelios tubulares y en algunos casos fibrosis peritubular.

En peces las lesiones a nivel glomerular no son muy comunes, comparadas con las lesiones a nivel intersticial. La glomerulonefritis se describe en anguilas (*Anguilla anguilla*) causada por un virus semejante a IPN que se asocia también a necrosis intersticial renal (Ferguson, 1989).

Los cambios descritos para ISA por Byrne y col. (1998) concuerdan parcialmente con los cambios renales observados en este estudio. En el Síndrome del Riñón Hemorrágico (HKS) producida por ISAV que afecta a salmones Atlánticos en etapa de smolt en Canadá, las lesiones renales son mucho más severas, produciéndose necrosis tubular aguda, degeneración tubular y hemorragia intersticial. Sin embargo, cualquier enfermedad renal severa, deteriora el control sobre el volumen sanguíneo y la osmorregulación, esto explica la pérdida de escamas, ascitis y la congestión de órganos observados al examen clínico.

De los análisis adicionales, todas las placas sembradas para cultivo bacteriológico fueron negativas. Los improntes de órganos teñidos con Gram presentaron en 1 muestra de hígado bacterias tipo flavobacterias y en otra muestra de hígado bacterias tipo rickettsias. Estas bacterias son endémicas en salmones cultivados en fase marina en nuestro país y los signos clínicos observados asociados a estas enfermedades no se asemejan al cuadro producido por SISC.

El examen viral realizado a peces con SISC demostró la presencia de IPN virus en 4 de los 58 pooles cultivados. De lo anterior la Ictericia del Salmón Coho no corresponde a una manifestación del virus IPN ya que los signos clínicos asociados a este virus, no concuerdan con los signos clínicos observados en este estudio. ISAV no se detectó mediante los cultivos celulares empleados en este estudio.

Entre las limitantes de este estudio para la detección de ISAV se puede apreciar: ausencia de una línea celular donde el virus pueda ser capaz de evidenciar efecto citopático u otro tipo de alteración, y utilización de métodos de detección más sensibles al virus.

Si bien el RT-PCR es uno de los métodos diagnósticos más sensibles en la detección del ISAV, no se realizó en este estudio por no estar disponible en el Laboratorio.

En la actualidad existen elementos productivos que han permitido implementar manejos para el control de SISC. La restricción alimentaria, sigue siendo la estrategia de control más

eficaz para este síndrome, aún cuando en el último tiempo la aparición en el mercado de protectores hepáticos han contribuido a restablecer la condición de salud.

Finalmente, cabe mencionar que el presente estudio revela importantes aspectos acerca del Síndrome Ictérico del Salmón Coho (SISC) en relación al cuadro clínico e histopatológico. Por otra parte esta investigación abre nuevas interrogantes respecto a la etiología, ya que si bien el virus ISA se ha aislado en salmones Coho con SISC, ISA solo se ha descrito en salmones Atlántico .

De la presente investigación se concluye que:

En Chile existe una patología diagnosticada como Síndrome Ictérico del Salmón Coho (SISC) en la X y XI región y que corresponde a una enfermedad que cursa con anemia de tipo hemolítica y con severo daño hepático.

Clínicamente la enfermedad se caracteriza por la presencia de Ictericia, pérdida de escamas, palidez branquial, hígado pálido con aspecto moteado y esplenomegalia.

Al estudio sanguíneo se aprecia una anemia de tipo hemolítica regenerativa y aumento de ALT y AST que demuestran un daño hepático severo y urea que demuestra daño renal.

Histológicamente se presenta principalmente necrosis hepática multifocal, congestión esplénica severa con hemosiderosis y glomerulonefritis crónica con pequeños focos de necrosis intersticial

Los exámenes bacteriológico y virológico no demostraron la presencia de ningún microorganismo en este estudio.

## 9. BIBLIOGRAFIA.

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

**BENTINCK-SMITH, J., M.H. BELEAU, P. WATERSTRAT. 1987.** Biochemical reference ranges for commercially reared channel catfish. *Progr. Fish Cult.* 49: 108-114.

**BLAKE, S., D. BOUCHARD, W. KELEHER, M. OPITZ, B.L. NICHOLSON. 1999.** Genomic relationships of first North American isolation of infectious salmon anaemia virus (ISAV) to the Norwegian strain of ISAV. *Dis. Aquat. Org.* 35: 139-144.

**BLOOD, C., J. RADOSTITS. 1992.** Medicina Veterinaria. Ed. Interamericana M.C. Graw-Hill. Madrid, España.

**BOUCHARD, D., E. KELEHER, H.M. OPITZ, S. BLAKE, K.C. EDWARDS, B.L. NICHOLSON. 1999.** Isolation of infectious salmon anaemia virus (ISAV) from Atlantic salmon in New Brunswick, Canadá. *Dis. Aquat. Org.* 35: 131-137.

**BOUCHARD, D.A., K. BROCKWAY, C. GIRAY, W.Y. KELEHER, P.L. MERRILL. 2001.** First report of Infectious salmon anaemia (ISA) in the United State. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.* 21: 86-88.

**BUSTOS, P. 1993.** Nuevo desafío para la acuicultura. *Aquanoticias Internacional* 16: 53.

**BYRNE, P.J., D.D. MACPHEE, V.E. OSTLAND, G. JOHNSON, H.W. FERGUSON. 1998.** Haemorrhagic Kidney syndrome of Atlantic salmon, (*Salmo salar* L). *J. Fish Dis.* 21:81-91.

**CASILLAS, E., M.S. MYERS, L.D. RHODES, B.B. MCCAIN. 1986.** Serum chemistry of disease English sole, (*Parophrys vetulus*) Girard, from polluted of Puget Sound, Washington. *J. Fish Dis.* 8:437-449.



**CUSACK, R., I. BRICKNELL, A. NYLUND, M. BINDE. 1999.** Infectious salmon anaemia. *Bull. Eur. Ass Fish Pathol.* 19: 286-288.

**DANNEVIG, B.H., K. FALK, E. NAMORK. 1995.** Isolation of the causal virus of infectious salmon anaemia (ISA) in a long- term cell line from Atlantic salmon head kidney. *Journal Gen. Virol.* 76: 1353-1359.

**DE KINKELIN, P., CH. MICHEL, P. GHITTINO. 1991.** Tratado de las enfermedades de peces. Ed. Acribia S.A. Zaragoza, España.

**EVENSEN, O., K. E. THORUD, A. OLSEN. 1991.** A morphological study of the gross and light microscopic lesions of infectious anaemia in Atlantic salmon (*Salmo salar L.*). *Res. Vet. Sci.* 51: 215-222.

**FALK, K., B.H. DANNEVIG. 1995.** Demonstration of a protective immune response in infectious salmon anaemia (ISA) infected Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Dis. Aqua. Org.* 21: 1-5.

**FALK, K., E. NAMORK, E. RIMSTAD, S. MJAALAND, B. DANNEVIG. 1997.** Characterization of Infectious salmon Anaemia virus, an Orthomyxo-Like Virus Isolated from Atlantic Salmon (*Salmo salar L.*). *J. Virol.* 71: 9016-9023.

**FERGUSON, H. W. 1989.** Systemic Pathology of fish. Iowa State University Press/ Ames. USA

**FLORES, A. M. 1996.** Estudio de las patologías vírales intraeritrocitarias en salmonídeos de cultivo intensivo en el sur de Chile. Tesis, M.V., Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.

**FOLMAR, L.C., W.W. DICKHOFF, C.V.W. MAHNKEN, F.W. WAKNITZ. 1982.** Stunting and parr- reversion during smoltification of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Aquaculture*, 28: 91-104.

**JARP, J., E. KARLSEN. 1997.** Infectious salmon anaemia (ISA) risk factors in sea-cultured Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Dis. Aqua. Org.* 28:79-86.

**KIBENGE, F.S., J. LYAKU, D. RAINNIE, L. HAMMELL. 2000.** Growth of infectious salmon anaemia virus in CHSE-214 cells and evidence for phenotypic differences between virus strains. *J. Gen. Virol.* 81: 143-150.

**KIBENGE, F.S., O.N. GÁRATE, G. JOHNSON, R. ARRIAGADA, M. KIBENGE, D. WADOWSKA. 2001.** Isolation and identification of Infectious Salmon Anaemia (ISAV) from Coho salmon in Chile. *Dis. Aquat. Org.* 45:9-18.

**LARRAÍN, C. 1993.** Nutrición en salmonídeos. *Arch. Med. Vet.* 25: 111-125.

**LEEK, S. L. 1987.** Viral erythrocytic inclusion body syndrome (EIBS) occurring in juvenile spring chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) reared in fresh water. *Can. J. Fish. Aqua. Sci.* 44: 685-688.

**LEONG, J.C., J.L. FRYER. 1993.** Viral Vaccines for Aquaculture. *Annual Rev. of Fish Diseases.* 3:225-240.

**LOZANO, M. 2001.** Acuicultura y Pesca, Compendio y Directorio. Ed. Aqunoticias, Santiago. Chile.

**MACCHIAVELO, 1992.** Control de enfermedades vírales en Chile. *Chile pesquero.* 6:39-42.

**MELVILLE, K.J., S.G. GRIFFITHS. 1999.** Absence of vertical transmission of infectious salmon anaemia virus (ISAV) from individually infected Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Dis. Aqua. Org.* 38:231-234.

**MENDEZ, R. 1988.** Desarrollo y situación actual de los cultivos salmonídeos. *Chile pesquero.* 39: 21-24.

**MENDEZ, R., L. VIDAL. 1994.** La salmonicultura chilena en 1993. *Aqunoticias Internacional.* 40: 24:39.

**MULLINS, J. E., D. GROMAN, D. WADWOSKA. 1998.** Infectious salmon anaemia in salt water Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in New Brunswick, Canada. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.* 19:110-114.

**NYLUND, A., S. ALEXANDERSEN, P. LOVIK, P. JACOBSEN. 1994.** The respons of brown trout (*Salmo trutta L.*) to repeated challenge with infectious salmon anaemia (ISA). *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.* 14: 167-170.

**NYLUND, A., P. JAKOBSEN. 1995.** Sea trout as a carrier of infectious salmon anaemia virus. *J. Fish Biol.* 47: 174-176.

**NYLUND A., A. KVENSETH, B. KROSSOY, K. HODNELAND. 1997.** Replication of the infectious salmon anaemia virus (ISAV) in rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss* )(Walbaum). *J. Fish Dis.* 20: 275-279.

**NYLUND A., B. KROSSOY, M. DEVOLD, V. ASPEHAUG, N.O. STEINE, T. HOVLAND. 1999.** Outbreak of ISA during first feeding of salmon fry (*Salmo salar*). *Bull. Eur. Ass. Fish Path.* 19: 70-74.

**OIE. OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES, 1997.** Infectious salmon anaemia. In: Diagnostic Manual for Aquatic Animal Diseases, 2nd ed., Paris, France. pp. 119-126.

**PLUMB, JOHN A. 1999.** Healt maintenance and principal microbial diseases of cultured fishes. State University Pres, Ames, Iowa, USA.

**POPPE, T.T. 1997.** Infectious salmon anaemia (ISA), clinical and pathological manifestation. Workshop on Infectious Salmon Anaemia, St. Andrews, NB, Norway. pp. 14-17.

**POST, G. 1983.** Texbook of the fish health. Ed. TFH. USA.

**REYES, X. 1983.** Rol de la enfermedad en el desarrollo de los cultivos intensivos de salmónidos. Análisis de pesquerías chilenas. Valparaíso. Chile. pp. 62-69.

**REYES, X. 1985.** Bases técnicas para la formulación de un control sanitario en los cultivos de salmónideos. Estudio de pesquerías chilenas. Escuela de Ciencias del Mar, UCV, Valparaíso. Chile. pp. 62-69.

**ROBERTS, R. J. 1981.** Patología de los Peces. Ediciones Mundi Prensa, Madrid, España.

**RODGER, H. D., T. TURNBULL, F. MUIR, S. MILLAR, R.H. RICHARDS. 1998.** Infectious salmon anaemia virus (ISA) in the United Kingdom. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.* 18: 115-116.

**ROLLAND, J.B., A. NYLUND. 1998.** Infectiousness of organic materials originating in ISA-infected fish and transmission of the disease via salmon lice (*Lepeophtheirus salmonis*). *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.* 18: 173-179.

**SAKAI, T., H. MURATA, K. YAMAUCHI, K. TAKAHASHI, N. OKAMOTO, K. KIHIRA, T. HOSHITA, Y. TANAKA.. 1994.** Hyperbilirrubinemia of Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) Infected with Erythrocytic Inclusion Body Syndrome (EIBS) Virus. *Fisheries Science* 60: 519-521.

**SIMKO, E., L.L. BROWN, A.M. MACKINNON, P.J. BYRNE, V.E. OSTLAND, H.W. FERGUSON. 2000.** Experimental infection of Atlantic salmon, *Salmo salar L.*, with infectious salmon anaemia virus: a histopathological study. *J. fish Dis.* 23: 27-32.

**SIMKO, E., K. FALK, T.T. POPPE, H.H. FERGUSON. 2001.** Plasma Protein changes in Atlantic salmon (*Salmo salar L.*), with infectious salmon anaemia. *J. Fish dis.* 24: 293-298.

**STOSKOPF, MICHAEL K. 1993.** Fish medicine. Ed Saunder Company. North of Carolina. USA.

**THORUD, K.E., H.O. DJUPVIK. 1988.** Infectious anaemia in Atlantic salmon (*Salmo salar L.*) *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.* 8:109-111.

**THORUD, K. 1991.** Infectious salmon anaemia. Transmission trials, haematological, clinical, chemical and morphological investigations. Ph.D thesis, Norwegian College of Veterinary Medicine, Oslo, Norwegian.

**WITTWER, F., H. BÖHMWALD. 1983.** Manual de Patología Clínica Veterinaria. Ed. Universidad Austral de Chile. Valdivia, Chile.

## 10. ANEXOS

### ANEXO N° 1: DISTRIBUCIÓN DEL HEMATOCRITO (VGA) POR CASO, EN SALMONES COHO CON ICTERICIA EXAMINADOS PROCEDENTES DE CENTROS DE CULTIVO DE LA X REGIÓN DURANTE 1999-2002.

N	70/99	92/99	121/99	100/00	111/00	119/00	271/00	53/01	70/02	84/02
1	5	15	*	27	*	*	*	4	2	*
2	8	31	*	50	*	*	*	19	2	*
3	15	28	*	29	*	*	*	26	3	*
4	5	34	*	45	*	*	*	2	*	*
5	60	*	*	32	*	*	*	*	*	*
6	5	*	*	26	*	*	*	*	*	*
7	17	*	*	*	*	*	*	*	*	*
8	20	*	*	*	*	*	*	*	*	*
9	5	*	*	*	*	*	*	*	*	*
10	49	*	*	*	*	*	*	*	*	*
11	16	*	*	*	*	*	*	*	*	*
12	32	*	*	*	*	*	*	*	*	*
13	5	*	*	*	*	*	*	*	*	*
14	5	*	*	*	*	*	*	*	*	*
15	60	*	*	*	*	*	*	*	*	*
16	20	*	*	*	*	*	*	*	*	*
<b>MEDIA</b>	20.43	27	*	34.83	*	*	*	12.75	2.33	*
<b>D.E</b>	18.91	7.24	*	9.26	*	*	*	10.08	0.47	*

\* No realizado.

**ANEXO N° 2: DISTRIBUCIÓN DE LOS HALLAZGOS MORFOLÓGICOS MÁS RELEVANTES EN FROTIS DE SANGRE TEÑIDOS CON GIEMSA EN MUESTRAS DE SALMONES COHO CON ICTERICIA, PROCEDENTES DE LA X REGIÓN DURANTE 1999-2002.**

N° muestra	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	12	14	15	16	17	18	19	20	21	total	%	
Eritrocitos c/ Núcleos Cariolíticos							+	+										+	+	+		5	19,04	
Ausencia Eritrocitos maduros					+					+													2	9,52
Eritroblastosis		+	+	+	+				+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	18	85,71
Destrucción Celular	+				+							+	+		+			+					8	38,09
Cúmulos cél. Inmaduras	+								+														2	9,52
Cél. línea Blanca Inmadura	+		+			+						+						+	+	+	+		9	42,85
Linfocitos																			+				1	4,76
Macrófagos																			+	+			2	9,52

**ANEXO N° 3: MEDIA (PROMEDIO) DE PERFILES METABÓLICOS POR CASO EN SALMONES COHO CON ICTERICIA PROVENIENTES DE CENTROS DE CULTIVOS DE LA X REGIÓN DURANTE 1999-2002.**

**CASO70/99**

ANIMAL	COL mmol/l	URE mmol/ L	PRO g/L	ALB g/L	GLO g/L	CA Mmol/ l	P mmol/ l	MG mmol/ l	HEM g/dl	AST U/l	ALT U/l
1	13,11	2,14+	48	18-	30-	2,57-	6,73+	1,52-	10,83	0*	22+
2	5,18-	1,83+	34-	12-	22-	2,49-	5,65	1,04-	3,84-	0*	20+
3	12,91	1,99+	53	20-	33	2,99-	6,50+	1,15-	5,66-	204	9
4	14,97	2,06+	57	22	35	3,21-	6,78+	1,15-	9,81	0*	16+
5	14,92	1,93+	61	23	38	3,23-	6,52+	1,17-	7,57	288+	25+
6	9,32	1,51	40	16-	24-	2,71-	5,91	0,91-	4,69-	220	20+
7	11,34	1,67	45	18-	27-	3,07-	6,46+	0,97-	6,24-	308+	29+
8	14,87	1,77	52	20-	32-	3,01-	6,87+	1,58-	6,38-	183	26+
9	9,40	1,36	39	15-	24-	3,03-	5,80	2,60-	4,04-	181	19+
10	11,87	2,11+	48	21	27-	2,98-	7,02+	1,78-	8,52	229	19+
11	14,86	1,70	58	21	37	3,08-	5,95	1,77-	7,75	241	76+
12	16,21+	1,90+	61	24	37	3,57	6,50+	2,34-	8,34	355+	23+
13	5,95-	1,77	26-	11-	15-	3,06-	5,54	1,34-	1,00-	188	10+
14	5,30-	1,75	20-	9-	11-	2,96-	5,64	1,75-	1,00-	126	7
<b>MEDIA</b>	11,44	1,82	45,86	17,86	28,00	3,00	6,28	1,51	6,12	229,36	22,93
<b>D.E.</b>	3,70	0,21	12,29	4,49	7,95	0,26	0,49	0,49	2,87	62,64	15,99
<b>H</b>	0,06	2,10	-0,69	-2,54	-2,67	-2,50	2,28	-2,50	-2,59	1,39	7,17
<b>Valores de referencia</b>											
<b>MIN</b>	6,70	1,00	38	20	32	3,50	2,00	3,00	7,00	60	0
<b>MAX</b>	15,90	1,80	62	36	56	12,50	6,00	5,00	13,00	260	10

**CASO 92/99**

ANIMAL	BIL Umol/L
P2	0,00*
P4	3,38
S1	11,47*
S3	1,82
<b>MEDIA</b>	2,60
<b>D.E.</b>	0,78
<b>H</b>	-0,95
<b>Valores de referencia</b>	
<b>MIN</b>	0,50
<b>MAX</b>	8,50





**CASO 70/02**

<b>ANIMAL</b>	<b>AST U/l</b>	<b>ALT U/l</b>	<b>FA U/l</b>	<b>BIT Umol/l</b>	<b>ALB g/L</b>	<b>URE mmol/L</b>	<b>CRE Umol/L</b>	<b>COL mmol/L</b>	<b>P mmol/L</b>
<b>1</b>	508+	24+	0,09-	0,00*	11-	1,73	13	4,40	5,19
<b>2</b>	361	19+	0,07-	0,00*	12-	1,58	5-	4,25	5,11
<b>3</b>	338	26+	0,08-	0,00*	13-	2,36+	13	5,25	4,94
<b>MEDIA</b>	402,33	23,00	0,08	0,00	12,00	1,89	10,33	4,63	5,08
<b>D.E.</b>	75,31	2,94	0,01	0,00	0,82	0,34	3,77	0,44	0,10
<b>H</b>	2,03	4,00	-1,92	0,00	-4,00	2,45	-1,98	-1,77	0,08
<b>Valores de referencia</b>									
<b>MIN</b>	100	0	0,10	0,50	20	1,00	10	4,00	3,00
<b>MAX</b>	400	15	4,00	8,50	36	1,80	70	15,00	7,00

Donde H = Media Grupo – Media de Referencia.  
+ o – Indica valor sobre o bajo valor de referencia.  
\* Indica valor no considerado.

**ANEXO N°4: EFECTO CITOPÁTICO E IFAT EN CULTIVOS VIRALES DE PECES  
CON ICTERICIA EN MUESTRAS PROVENIENTES DE LA X REGIÓN DURANTE  
1999-2002**

Caso	N° de muestra		CPE	IFAT-ISAV	IFAT-IPNV
<b>70/99</b>	405	1			
	406	2			
<b>92/99</b>	712	3			
	713	4			
<b>121/99</b>	1200	5			
	1201	6			
	1202	7	+	-	+
	1203	8			
	1204	9			
	1205	10			
	1206	11			
	1207	12			
	1208	13			
	1209	14			
	<b>100/00</b>	281	15		
282		16			
<b>111/00</b>	294	17			
	295	18			
	296	19			
	297	20			
	298	21	+	-	+
<b>119/00</b>	344	22			
	345	23			
	346	24			
	347	25	+	-	+
	348	26			
	349	27			
	350	28			
	351	29			
	352	30			
	353	31			
	354	32			
355	33				
<b>84/02</b>	286	34			
	288	35			
<b>271/00</b>	909	36			
	909.1	37			
	909.2	38			
<b>53/01</b>	068	3			
	069	40			
	070	41			
	071	42			
	072	43			
	073	44			
	074	45			
	075	46			
	076	47			
	077	48			
	078	49			
	079	50			
	080	51			
	081	52			
	082	53			
083	54				

<b>70/02</b>	206	55			
	207	56			
	208	57			
	209	58	+	-	+
<b>TOTAL</b>	58		4		