

Efectividad del tratamiento antimicrobiano de la piscirickettsiosis en los salmones de cultivo en los sistemas de acuicultura comercial en Chile

Entregable 3.1: Realización de estudio en Prioridad de investigación 1

Preparado para Sernapesca
Junio de 2018

Descargo de responsabilidad

Este informe es para el uso exclusivo del cliente y se considera como información confidencial. Si ha recibido una copia de este informe por error, por favor elimínela y notifique al remitente. Ausvet no entrega garantías de que la información contenida en este reporte sea correcta o esté completa y no será responsable por ninguna pérdida causada, ya sea por negligencia o por otras circunstancias, que surja del uso de esta información o de la confianza puesta en esta última.

© 2018 Ausvet Pty Ltd

Este trabajo está protegido por derecho de autor y, aparte de cualquier uso legítimo permitido según la *Ley sobre Derecho de Autor de 1968*, ninguna parte de él se puede reproducir sin la autorización por escrito de los editores, Ausvet. Las solicitudes o consultas relacionadas con la reproducción y los derechos se deberían dirigir a Ausvet, a la siguiente dirección.

Ausvet

Level 1, 34 Thynne St, Bruce, ACT 2617 Australia

www.ausvet.com.au

ABN: 64 613 142 9

Contacto: Angus Cameron

angus@ausvet.com.au

Contenidos

Abreviaturas y siglas	vii
Resumen ejecutivo.....	1
1 Introducción.....	5
2 Objetivos	6
3 Métodos.....	7
3.1 Escenario y fuentes de datos.....	7
3.1.1 Fuentes de datos.....	7
3.1.2 Manejo de datos	7
3.2 Diseño del estudio.....	8
3.2.1 Estudio de cohorte histórico usando datos generados por la industria.....	8
3.2.2 Criterios de selección y definición de un brote de piscirickettsiosis	8
3.2.3 Período de seguimiento	11
3.2.4 Exposición primaria: tratamiento antimicrobiano.....	12
3.2.5 Resultados: efectividad del tratamiento sobre la mortalidad atribuida a la piscirickettsiosis	12
3.2.6 Otras variables explicativas.....	12
3.3 Análisis estadísticos.....	13
3.3.1 Estructura de los datos y efectos aleatorios	13
3.3.2 Modelamiento de regresión estadística.....	13
3.3.3 Construcción y selección del modelo	14
4 Resultados.....	15
4.1 Hipótesis a priori.....	15
4.2 Escenario.....	16
4.2.1 Cantidad de datos incluidos en el análisis.....	16
4.2.2 Características generales de los ciclos de producción.....	17
4.3 Brotes de piscirickettsiosis y mortalidad atribuida a piscirickettsiosis	20
4.4 Uso de antimicrobianos.....	275
4.4.1 Características generales del uso de antimicrobianos	275
4.4.2 Tratamientos asociados con brotes de piscirickettsiosis	318
4.5 Factores de manejo y ambientales	32
4.6 Modelamiento de efectos mixtos multinivel de efectividad antimicrobiana	426
4.6.1 Modelo del salmón del Atlántico	426
4.6.2 Modelo de la trucha arcoíris	493
5 Discusión	569
5.1 Resumen e interpretación de resultados.....	569
5.1.1 Salmón del Atlántico.....	49
5.1.2 Trucha arcoíris.....	53

5.2	Características del diseño y los métodos del estudio.....	56
5.2.1	Visión general del enfoque.....	56
5.2.2	Fuentes potenciales de sesgo.....	56
5.2.3	Aplicación de enfoques teóricos de la información	657
6	Otros enfoques potenciales al análisis.....	668
6.1	Alternativas al diseño del estudio.....	668
6.1.1	Enfoque en eventos de tratamiento en vez de en brotes.....	668
6.1.2	Definiciones alternativas de un brote de piscirickettsiosis.....	668
6.1.3	Elección de medida de resultado para efectividad antimicrobiana	668
6.1.4	Período durante el cual se miden los resultados.....	679
6.1.5	Investigación adicional de tratamientos repetidos dentro de un brote.....	679
6.2	Exploración de variables explicativas adicionales.....	679
6.3	Enfoques estadísticos alternativos.....	60
6.3.1	Bosques aleatorios.....	60
6.3.2	Estimaciones bayesianas	60
6.4	Análisis extendidos.....	60
6.4.1	Análisis de gráfica de control	60
6.4.2	Análisis económico	702
7	Conclusión	723
	Agradecimientos	734
Apéndice 1	Diagrama causal.....	745
Apéndice 2	Variables de exposición y explicativas usadas en el modelamiento multivariable.....	16
Apéndice 3	Descripción completa de las hipótesis utilizadas en este estudio.....	69
	Referencias.....	73

Tablas

Tabla 1	Cantidad de ciclos de producción a nivel de jaula excluidos del análisis, por razón	176
Tabla 2	Cantidad de centros de producción en agua marina y ciclos de producción para los que hay datos válidos disponibles, por empresa	187
Tabla 3	Cantidad y porcentaje de cursos de tratamiento antimicrobiano administrados durante ciclos de producción, por especie.....	26
Tabla 4	Antimicrobiano y método de administración para el primer curso de tratamiento antimicrobiano administrado durante brotes de piscirickettsiosis, por especie	328
Tabla 5	Soporte de selección e hipótesis para modelos de efectividad antimicrobiano, usando el enfoque teórico de la información, para ciclos de producción del salmón del Atlántico	437
Tabla 6	Coefficientes de tasa ajustados de mortalidad atribuida a piscirickettsiosis en base al promedio de modelo de los cuatro modelos con mejor soporte para los ciclos de producción de salmón del Atlántico.....	448

Tabla 7	Estadística de ajuste del modelo para los modelos mínimo y de efectividad antimicrobiana con mejor soporte para los ciclos de producción de salmón del Atlántico.....	42
Tabla 8	Resultados de modelamiento post hoc de las asociaciones entre salinidad, oxígeno disuelto y varianza de peso de peces y la efectividad del tratamiento antimicrobiano contra la piscirickettsiosis	493
Tabla 9	Selección y soporte de hipótesis para modelos de efectividad antimicrobiana, usando el enfoque teórico de la información para los ciclos de producción de la trucha arcoíris	43
Tabla 10	Coefficientes de tasa ajustados de mortalidad atribuida a piscirickettsiosis desde los modelos de efectividad antimicrobiana promediados para los ciclos de producción de trucha arcoíris	514
Tabla 11	Estadística de ajuste del modelo para los modelos mínimo y de efectividad antimicrobiana con mejor soporte para los ciclos de producción de la trucha arcoíris.....	548
Tabla 12	Pruebas post hoc y coeficientes de tasa de incidencia de hipótesis omitidas desde el modelo de la trucha arcoíris debido a datos faltantes	558

Figuras

Figura 1	Curvas brutas de mortalidad atribuida a piscirickettsiosis a nivel de jaula con brotes identificados de la enfermedad, en base a nuestra definición de un brote de piscirickettsiosis	10
Figura 2	Ilustración de la definición de un brote de piscirickettsiosis.....	11
Figura 3	Tasa de mortalidad atribuida a piscirickettsiosis durante brotes identificados de piscirickettsiosis (grupo izquierdo) y durante todo el ciclo de producción (grupo derecho), por especie.....	¡Error! Marcador no definido.1
Figura 4	Cantidad de ciclos de producción incluidos en el estudio, por especie y por año.....	207
Figura 5	Extensión del ciclo de producción, por especie	21
Figura 6	Cantidad de brotes de piscirickettsiosis por ciclo de producción, por especie.....	22
Figura 7	Cantidad de ciclos de producción que experimentaron un brote de piscirickettsiosis a lo largo del ciclo, por especie.....	22
Figura 8	Cantidad de brotes de piscirickettsiosis por año, por especie	23
Figura 9	Tiempo (en unidades térmicas acumuladas) desde la entrada de los salmones jóvenes hasta el primer brote de piscirickettsiosis, por especie	20
Figura 10	Proporción de mortalidad total atribuida a piscirickettsiosis que ocurre dentro de períodos de brotes de piscirickettsiosis definidos, por especie	22
Figura 11	Proporción del ciclo de producción que fue clasificada como descendiente dentro de los brotes de piscirickettsiosis, por especie.....	25
Figura 12	Tiempo (en unidades térmicas acumuladas) hasta la recurrencia de un brote de piscirickettsiosis en la misma jaula, por especie y número de brote	23
Figura 13	Características (unidades térmicas acumuladas) de brotes de piscirickettsiosis sin tratamiento y con tratamiento, por especie: duración (unidades térmicas acumuladas, panel superior) y tasa de mortalidad durante el brote (panel inferior). El plano inferior se	

truncó a 1500 muertes por 100 000 semanas de peces; la mortalidad sobre este nivel se registró para 150 brotes.	24
Figura 14 Cantidad de ciclos de producción en los que se usaron tratamientos antimicrobianos, por especie y por año.....	25
Figura 15 Duración de cursos de tratamiento antimicrobiano oral, por tipo de tratamiento.....	27
Figura 16 Cantidad de días en los que se administró un tratamiento antimicrobiano oral, por especie y por año.....	31
Figura 17 Duración de cursos de tratamiento antimicrobiano orales, para el primer tratamiento administrado durante un brote de piscirickettsiosis, por tipo de tratamiento.....	33
Figura 18 Cantidad de unidades térmicas acumuladas entre el comienzo del brote y el comienzo del primer curso de tratamiento antimicrobiano, por especie.....	34
Figura 19 Tasa de mortalidad atribuida a la piscirickettsiosis durante los 21 días antes del comienzo del primer tratamiento antimicrobiano, por especies.....	35
Figura 20 Mortalidad atribuida a la piscirickettsiosis y a causas desconocidas durante el período de seguimiento del tratamiento, por especie y tipo de tratamiento.....	36
Figura 21 Tiempo transcurrido (unidades térmicas acumuladas desde el comienzo del brote de piscirickettsiosis al día 1 el tratamiento) y tasa de mortalidad atribuida a piscirickettsiosis durante el período de seguimiento (día 1 del tratamiento a la resolución del brote de piscirickettsiosis).....	383
Figura 22 Tasa de mortalidad atribuida a piscirickettsiosis durante el período de 21 días antes del tratamiento y el período de seguimiento posterior a este.	34
Figura 23 Tasa de mortalidad atribuida a causas infecciosas diferentes a la piscirickettsiosis durante el período de 21 días anterior al tratamiento, y tasa de mortalidad atribuida a la piscirickettsiosis durante el período de seguimiento posterior al tratamiento.....	35
Figura 24 Temperatura del mar antes del comienzo del tratamiento y mortalidad atribuida a la piscirickettsiosis y a causas desconocidas durante el período de seguimiento posterior al tratamiento.....	35
Figura 25 Duración del tratamiento antimicrobiano en alimento y mortalidad atribuida a piscirickettsiosis a causas desconocidas durante el período de seguimiento posterior al tratamiento.....	36
Figura 26 Gráfico acíclico dirigido que muestra las rutas causales propuestas entre las variables explicativas y la efectividad del tratamiento antimicrobiano contra la piscirickettsiosis	65

Abreviaturas y siglas

Abreviatura	Definición
AICc	Criterio de información de Akaike corregido por sesgo
CI	Intervalo de confianza
IQR	Rango intercuartílico
PIISAC	Plataforma Integrada de Investigación Sanitaria para la Acuicultura Chilena
Sernapesca	Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura
SIFA	Sistema de Información para la Fiscalización de Acuicultura
SRS	Piscirickettsiosis
VPC	Coefficiente de partición de varianza

Resumen ejecutivo

Introducción

La piscirickettsiosis (SRS) es la enfermedad productiva más importante para los salmones de cultivo en Chile, que da cuenta de alrededor de 70% de la mortalidad atribuible a causas infecciosas. En 2017, el tratamiento contra la piscirickettsiosis dio cuenta de alrededor de 95% de uso de antimicrobianos en la industria acuícola chilena. La tasa de uso de antimicrobianos por tonelada de biomasa cosechada fue más de 100 veces mayor a la de una producción salmonera en Escocia o en Noruega. Los impactos combinados de la piscirickettsiosis y el alto nivel de uso de antimicrobianos son una amenaza importante para la rentabilidad y la sustentabilidad de la industria acuícola salmonera chilena.

Este estudio es uno dentro de una serie de estudios epidemiológicos integrados sobre piscirickettsiosis y caligidosis (infestación con caligus), financiado por el gobierno chileno y realizado por Ausvet en colaboración con la industria acuícola salmonera chilena.

Objetivos

El estudio apunta a evaluar la efectividad del tratamiento antimicrobiano contra la piscirickettsiosis en salmones de cultivo en sistemas acuícolas comerciales en Chile. Los objetivos específicos son:

- Describir el uso de antimicrobianos para el tratamiento de brotes de piscirickettsiosis
- Cuantificar el efecto de diferentes regímenes de tratamiento antimicrobiano sobre la mortalidad atribuida a la piscirickettsiosis
- Identificar y cuantificar el efecto de factores de peces, de manejo y ambientales sobre la efectividad de regímenes específicos del tratamiento antimicrobiano
- Recomendar estrategias de tratamiento antimicrobiano que minimicen la mortalidad asociada con brotes de piscirickettsiosis.

Hallazgos clave

Hallazgos clave del estudio

Salmón del Atlántico

Para los productores de salmón del Atlántico, los resultados de este estudio sugieren tres formas prácticas de mejorar la efectividad del tratamiento antimicrobiano contra la piscirickettsiosis:

- **Tratamiento temprano:** comenzar el tratamiento muy cerca al comienzo de un brote de piscirickettsiosis, mientras las tasas de mortalidad siguen siendo bajas, aumentará significativamente la efectividad del tratamiento; esto es especialmente importante cuando se trata con oxitetraciclina en el alimento.
- **Tratamiento sin interrupción:** las interrupciones en la entrega de alimentos medicados (por ejemplo, debido a tormentas), reduce la efectividad del tratamiento.
- **Tratamiento de todas las jaulas infectadas en un centro simultáneamente:** una alta presión de infección de piscirickettsiosis en otras jaulas se asocia con un aumento en la mortalidad. Mientras mayor sea la proporción de jaulas tratadas durante un brote, mejor será la respuesta al tratamiento.

El florfenicol en el alimento parece ser más efectivo que la oxitetraciclina en el alimento, pero la reducción relativa en la mortalidad fue pequeña. La oxitetraciclina inyectable parece ser más efectiva que el florfenicol en la alimentación. Las decisiones sobre qué fármaco utilizar se deberían basar en análisis económicos posteriores.

Trucha arcoíris

Para los productores de trucha arcoíris, los resultados de este estudio sugieren cuatro formas prácticas para mejorar la efectividad del tratamiento antimicrobiano contra la piscirickettsiosis:

- **Tratamiento temprano:** comenzar el tratamiento pronto después del inicio de un brote de piscirickettsiosis, mientras las tasas de mortalidad aún son bajas, aumentará significativamente la efectividad del tratamiento.
- **Tratamiento más duradero si se usa en forma oral:** la efectividad del tratamiento aumenta con duraciones más extensas de tratamiento.
- **La oxitetraciclina inyectable es más efectiva que otros tipos de tratamiento:** las formas inyectables de oxitetraciclina parecen ser más efectivas que las preparaciones en ayunas de florfenicol u oxitetraciclina.
- **Aprender de la experiencia de otras empresas y centros:** después del ajuste de los efectos de otras variables, los tratamientos antimicrobianos fueron más efectivos en algunas empresas y centros más que en otros; esta variación sugiere que existen factores importantes en las empresas y en los sitios que no han sido capturados en este estudio, y existe un alcance para que otras empresas y centros mejoren si se pueden identificar y compartir las buenas prácticas.

Métodos

La evaluación se basó en el análisis de datos generados por la industria recolectados y manejados en una plataforma de investigación segura: la Plataforma Integrada de Investigación Sanitaria para la Acuicultura Chilena (PIISAC).

El estudio identificó brotes de piscirickettsiosis en base a niveles elevados de mortalidad atribuida a esta enfermedad por un período de tres semanas. En base a la consulta con la industria y el examen de los datos, definimos el comienzo de un brote de piscirickettsiosis como el primer día de un período de tres semanas durante el cual la mortalidad atribuida a piscirickettsiosis a nivel de jaulas, semanalmente, fue mayor a 0,05% cuando se promedió a lo largo de aquellas tres semanas consecutivas. Definimos el término de un brote de piscirickettsiosis ("resolución") como el primer día de un período de tres semanas durante las que la mortalidad atribuida a piscirickettsiosis y "causas desconocidas" semanalmente fue de $\leq 0,1\%$, cuando se promedió a lo largo de aquellas tres semanas consecutivas.

El tipo de tratamiento antimicrobiano (ingrediente activo ruta de administración) fue la exposición principal de interés. La efectividad del tratamiento se midió usando la mortalidad atribuida a piscirickettsiosis a causas desconocidas durante el período de seguimiento. El período de seguimiento durante el cual se emitieron los resultados fue el período desde el primer día de tratamiento al comienzo del período de tres semanas que definió la resolución.

Nuestro análisis se enfocó en el examen de la influencia sobre varios factores de peces, de manejo y ambientales sobre la efectividad del tratamiento antimicrobiano, así como en factores asociados con el tratamiento mismo. En base a nuestro conocimiento existente, los estudios publicados y la consulta con la industria, desarrollamos múltiples hipótesis biológicamente plausibles ("hipótesis de trabajo") acerca de cómo, cuándo y por qué diferentes factores influyen sobre la efectividad del tratamiento. Después de la limpieza de datos, y de la producción de resúmenes gráficos y tabulares, desarrollamos una serie de modelos

de regresión de efecto ministro multinivel para cada una de las hipótesis. Estos modelos se clasificaron usando el criterio de información de Akaike y las inferencias estadísticas se realizaron después de promediar los modelos con mejor soporte. Los modelos produjeron estimaciones de los coeficientes de tasa de cada variable, habiendo dado cuenta de los efectos de otras variables en el modelo. Se produjeron modelos independientes para el salmón del Atlántico y la trucha arcoíris; la cantidad relativamente pequeña de datos para salmón Coho nos impidió armar un modelo para esta especie.

Resultados

Al momento de este estudio, 7 de las 21 compañías acuícolas salmoneras con operaciones en el sur de Chile estaban entregando voluntariamente datos sanitarios y de manejo a la plataforma de investigación PIISAC, representando (a marzo de 2018) 36% de la biomasa total de los salmones cultivados en producción y el 27% de los centros activos. El conjunto de datos entregado por una empresa no contenía los registros diarios necesarios para el análisis, por lo que el estudio examinó ciclos productivos de seis empresas. Hubo datos válidos disponibles para 8318 ciclos productivos de salmón del Atlántico, salmón Coho y trucha arcoíris para el período entre agosto de 2003 y mayo de 2018.

En base a nuestra definición de un brote de piscirickettsiosis, se identificaron 7570 brotes individuales a nivel de jaula, de los cuales 4588 (61%) recibieron al menos una ronda de tratamiento antimicrobiano. Los tratamientos entregados durante los brotes de piscirickettsiosis fueron predominantemente florfenicol en el alimento (83% de todos los tratamientos) y oxitetraciclina en el alimento (9% de todos los tratamientos). Otros tratamientos incluyeron florfenicol y oxitetraciclina inyectable y fluoroquinolonas de primera generación en el alimento.

En el modelo de regresión de efectos mixtos multinivel para el salmón Atlántico, se encontró que 15 variables tienen una asociación estadísticamente significativa con la efectividad del tratamiento antimicrobiano. Los factores significativos del tratamiento fueron el tipo de tratamiento y la cantidad de repeticiones de este durante un brote. Los factores significativos de manejo fueron el tiempo desde inicio del brote al comienzo del tratamiento, la tasa de mortalidad atribuida a piscirickettsiosis antes del tratamiento, la tasa de mortalidad por "causa desconocida" antes del tratamiento, la proporción de jaulas tratadas dentro de 21 días antes del tratamiento, la proporción de jaulas tratadas durante el período de seguimiento y la proporción de días totales del período de tratamiento cuando realmente se entregó el tratamiento mediante el alimento. Los factores ambientales significativos fueron la temperatura promedio del mar durante el período de seguimiento, la presión de infección local que surge desde otros centros infectados en un radio de 20 km, la presión de infección local que surge desde otras jaulas infectadas en el centro y la latitud. Otros factores importantes fueron la cantidad de tratamientos anteriores contra el caligus, la clasificación del brote dentro de un ciclo productivo y el día calendario de inicio del brote (o sea, el efecto estacional).

En el modelo de regresión de efectos mixtos multinivel para la trucha arcoíris, se encontró que 9 variables tienen una asociación estadísticamente significativa con la efectividad del tratamiento antimicrobiano. Los factores significativos de tratamiento fueron el tipo y la duración del tratamiento. Los factores de manejo significativos fueron la tasa de mortalidad atribuida a la piscirickettsiosis antes del tratamiento, la tasa de mortalidad por causa desconocida antes del tratamiento y la proporción de jaulas tratadas durante el período de seguimiento. Otras variables importantes fueron la temperatura promedio del mar durante el período de seguimiento, la cantidad de tratamientos anteriores contra el caligus, la clasificación del brote dentro del ciclo productivo y el día calendario de inicio del brote (o sea, el efecto estacional). A diferencia de la situación del salmón del Atlántico, una cantidad moderada de la variación general del resultado residió en el nivel de la empresa y el centro.

Discusión y conclusiones

Los hallazgos de este estudio sugieren formas prácticas (consulte el recuadro anterior) para aumentar la efectividad del tratamiento antimicrobiano de la piscirickettsiosis en el salmón del Atlántico y en la trucha arcoíris.

El estudio demuestra la potencia, eficiencia y múltiple utilidad de la plataforma de investigación PIISAC en el apoyo de estudios epidemiológicos en la acuicultura salmonera chilena.

Los resultados de este análisis demuestran la naturaleza multifactorial de la piscirickettsiosis en los salmones de cultivo y la necesidad de considerar numerosos factores de riesgo al desarrollar modelos estadísticos para evaluar la asociación entre tratamiento antimicrobiano y mortalidad postratamiento. Sin embargo, a pesar de esta complejidad, pareciera que varios factores de riesgo influyen de manera significativa en la efectividad del tratamiento una vez que los efectos de otras variables se toman en cuenta. Lo que es más importante, muchos resultados clave se relacionan a decisiones o prácticas de manejo e indican formas prácticas y accionables en las que la efectividad del tratamiento se podría mejorar.

Recomendaciones sólidas acerca del uso de tratamientos antimicrobianos contra la piscirickettsiosis deberían considerar los hallazgos de este estudio en conjunto con otras investigaciones, además de análisis económicos que consideren los costos y externalidades del tratamiento. El trabajo futuro puede enfocarse en la evaluación de resultados económicos y en el desarrollo de herramientas de soporte a la toma de decisiones basadas en las formas económicamente óptimas de utilizar los tratamientos antimicrobianos.

1 Introducción

La piscirickettsiosis (también conocida como SRS) es una enfermedad severa de los salmones asociada con la infección de bacterias intracelulares conocidas como *Piscirickettsia salmonis* (Rozas & Enríquez 2014). Desde que la enfermedad se describió por primera vez en Chile en 1989 (Fryer & Hedrick 2003), la piscirickettsiosis se ha convertido en una de las enfermedades productivas más importantes de la industria salmonera chilena. En 2017, la piscirickettsiosis dio cuenta de aproximadamente el 70% de toda la mortalidad en el salmón del Atlántico atribuida a causas infecciosas (Sernapesca 2018), y las pérdidas anuales de la industria se han estimado que llegan incluso a los USD\$700 millones (Maisey et al 2016).

Las intervenciones para prevenir y controlar la piscirickettsiosis incluyen la bioseguridad, la vacunación, la reducción del estrés en los peces, la cosecha temprana y el tratamiento antimicrobiano (Evensen & Evensen 2016). En base a reportes mensuales por parte de la industria acuícola salmonera, la cantidad de fármacos antimicrobianos usados en la acuicultura del salmón en Chile en 2017 fue equivalente a 394 toneladas de ingrediente activo; esto es igual a aproximadamente 500 grs. de medicamento antimicrobiano por tonelada de biomasa cosechada (Sernapesca 2017). Aunque esta fue la tasa de uso más baja en cinco años, es sustancialmente mayor a los $\sim 0,02-0,39$ grs. por tonelada usados en la producción salmonera de Escocia y Noruega (Watts et al 2017).

Los impactos combinados de la piscirickettsiosis y el alto nivel de uso de antimicrobianos son una amenaza importante para la rentabilidad y la sustentabilidad de la industria acuícola salmonera chilena. Además de las pérdidas directas asociadas con la piscirickettsiosis, la alta tasa de uso de antimicrobianos ha contribuido a bajar consistentemente el precio del salmón chileno en los mercados internacionales. Globalmente, hay cada vez más preocupación acerca del impacto del uso de antimicrobianos en la acuicultura; el desarrollo de resistencia a los antimicrobianos; y las amenazas asociadas para la salud de las personas, los animales y el medio ambiente marino.

El tratamiento contra la piscirickettsiosis dio cuenta de casi el 95% de los fármacos antimicrobianos usados en la industria acuícola chilena en 2017 (Sernapesca 2017). Esto refleja la alta tasa de ocurrencia de piscirickettsiosis y el hecho de que los salmones infectados tienden a tener una mala respuesta al tratamiento antimicrobiano (Almendras et al 1997, Rozas & Enríquez 2014, Price et al 2016). A pesar de la importancia de la piscirickettsiosis y las sólidas razones para reducir el uso de antimicrobianos, se han publicado pocos estudios sobre la efectividad del tratamiento antimicrobiano contra la piscirickettsiosis y los factores que influyen en la efectividad de los antimicrobianos en la industria acuícola salmonera chilena.

Este estudio es el primero en una serie de estudios epidemiológicos integrados sobre piscirickettsiosis y caligidosis (infestación con caligus) financiado el gobierno de Chile y realizado por Ausvet, en colaboración con la industria acuícola salmonera chilena. Involucra el análisis de datos generados por la industria recolectados en una plataforma de investigación segura, desarrollada específicamente para apoyar estudios epidemiológicos sobre temas sanitarios que son de importancia para la acuicultura salmonera.

2 Objetivos

Este estudio apunta a evaluar la efectividad del tratamiento antimicrobiano contra la piscirickettsiosis en salmones de cultivo en sistemas acuícolas comerciales en Chile. Los objetivos específicos son:

- describir el uso de antimicrobianos para el tratamiento de brotes de piscirickettsiosis
- cuantificar el efecto de diferentes regímenes de tratamiento antimicrobiano sobre la mortalidad atribuida a la piscirickettsiosis
- identificar y cuantificar el efecto de factores de peces, de manejo y ambientales sobre la efectividad de regímenes específicos del tratamiento antimicrobiano.
- recomendar estrategias de tratamiento antimicrobiano que minimicen la mortalidad asociada con brotes de piscirickettsiosis.

Para el primer objetivo, describimos los tipos de tratamientos antimicrobianos utilizados para tratar los brotes de piscirickettsiosis y cómo se administran estos tratamientos. Los análisis relacionados con el segundo objetivo tienen la intención de entregar medidas cuantitativas sobre el efecto de cada régimen de tratamiento antimicrobiano sobre los resultados pertinentes, habiendo dado cuenta de los efectos de otros factores. Para el tercer objetivo, examinamos varias hipótesis a priori acerca de factores que se postula que tienen una influencia sobre la efectividad de regímenes de tratamiento antimicrobiano específicos. El cuarto objetivo se trata de inferencias basadas en los resultados de análisis, y el desarrollo de recomendaciones prácticas para mejorar el uso efectivo y sustentable de antimicrobianos para el tratamiento de la piscirickettsiosis.

3 Métodos

3.1 Escenario y fuentes de datos

3.1.1 Fuentes de datos

Este estudio se realizó en la industria acuícola comercial en el sur de Chile. Actualmente, hay 21 empresas involucradas en el cultivo de salmón del Atlántico, salmón Coho y/o trucha arcoíris en la X región (Los Lagos), XI región (Aysén) y la XII región (Magallanes). De estas, siete empresas entregan voluntariamente datos sanitarios y de manejo detallados desde sus sistemas de manejo de datos rutinarios (Fishtalk, Mercatus/Aquafarmer, Farmcontrol) hacia una plataforma de investigación segura diseñada para dar soporte a estudios epidemiológicos. Una copia de seguridad completa de la base de datos de cada empresa se carga semanalmente a un almacenamiento seguro en la nube, donde se integra y se pone a disposición para el análisis epidemiológico.

3.1.2 Manejo de datos

Limpieza de datos y criterios de exclusión

Los datos desde cada empresa se extrajeron desde las tablas relevantes de su software de manejo, y se compilaron en un solo conjunto de datos. Los códigos comunes como los nombres de las especies, de las enfermedades y de los antimicrobianos, se extrajeron y unificaron para producir una sola denominación para cada elemento. Se inspeccionaron los valores numéricos, se armonizaron las unidades de medición y se eliminaron los valores biológicamente improbables.

Los ciclos de producción se consideraron válidos cuando la duración fue de seis meses o más, y el peso inicial del salmón joven fue inferior a 500 grs. Estos criterios garantizaron que los centros de stock de reproducción no se incluyeran erróneamente en el conjunto de datos.

Definición de un ciclo de producción

En este estudio, solo consideramos la fase en agua marina de la producción, aunque el conjunto de datos integró las vacunaciones realizadas durante la fase en agua dulce.

Un ciclo de producción se definió como desde la primera fecha de siembra a la última fecha de cosecha de un grupo de peces sembrados en una jaula marina dada. Desde el punto de vista administrativo de la empresa, comúnmente se acepta que los ciclos de producción incluyen todas las jaulas en un centro marino dado, sembrados durante un intervalo de tiempo establecido. En nuestra definición, cada jaula contribuyó al análisis como una unidad por separado.

Datos SIFA

Las declaraciones de mortalidad se extrajeron desde la base de datos del Sistema de Información para la Fiscalización de Acuicultura (SIFA), entregada por el Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura. Esto nos permitió calcular la mortalidad atribuida a la piscirickettsiosis semanalmente, declarada por todos los centros activos, y estimar la presión de infección local semanalmente para cada centro.

El identificador de centro SIFA no estuvo disponible para algunos centros marinos presentes en los datos de las empresas. Estos centros se incluyeron en el conjunto de datos usado para el análisis descriptivo exploratorio (conjunto de datos 1); sin embargo, se excluyeron desde el conjunto de datos usado para el modelamiento (conjunto de datos 2), para el que se requirió un conjunto completo de variables explicativas

para cada registro. Se entrega información adicional sobre la composición de cada conjunto de datos en la Sección 4.

3.2 Diseño del estudio

3.2.1 Estudio de cohorte histórico usando datos generados por la industria

Este estudio se basa en la integración y análisis de datos generados de manera rutinaria por parte de las empresas acuícolas. Es un estudio observacional que ocurre en un escenario comercial del "mundo real" y tiene todas las características de un estudio de cohorte histórico ("retrospectivo"): los sujetos (jaulas que experimentan un brote de piscirickettsiosis) se clasifican en base a su estado de exposición (con respecto al tipo de tratamiento antimicrobiano y otros factores) y los resultados relacionados con la piscirickettsiosis se miden durante un período de seguimiento definido.

La unidad epidemiológica de interés es la jaula; este es el nivel en el que ocurre el tratamiento y es el nivel más bajo en el que muchas de las variables se registran. Los cortes consisten de jaulas con el mismo estado de exposición, y los resultados relacionados con la mortalidad atribuida a piscirickettsiosis se miden a nivel de jaula.

3.2.2 Criterios de selección y definición de un brote de piscirickettsiosis

Todos los centros, jaulas y ciclos de producción incluidos en los datos entregados por las empresas participantes pudieron ser parte del análisis: no hay una selección inherente (muestreo) a nivel de empresa, centro, jaula o ciclo de producción.

La población de interés más amplia son todas las jaulas de salmones cultivados en las aguas marinas del sur de Chile. La población de estudio consiste de jaulas que experimentan un brote de piscirickettsiosis. Al igual que con otros niveles de la población, no hubo un muestreo de brotes de piscirickettsiosis: todos los brotes se incluyeron en el estudio.

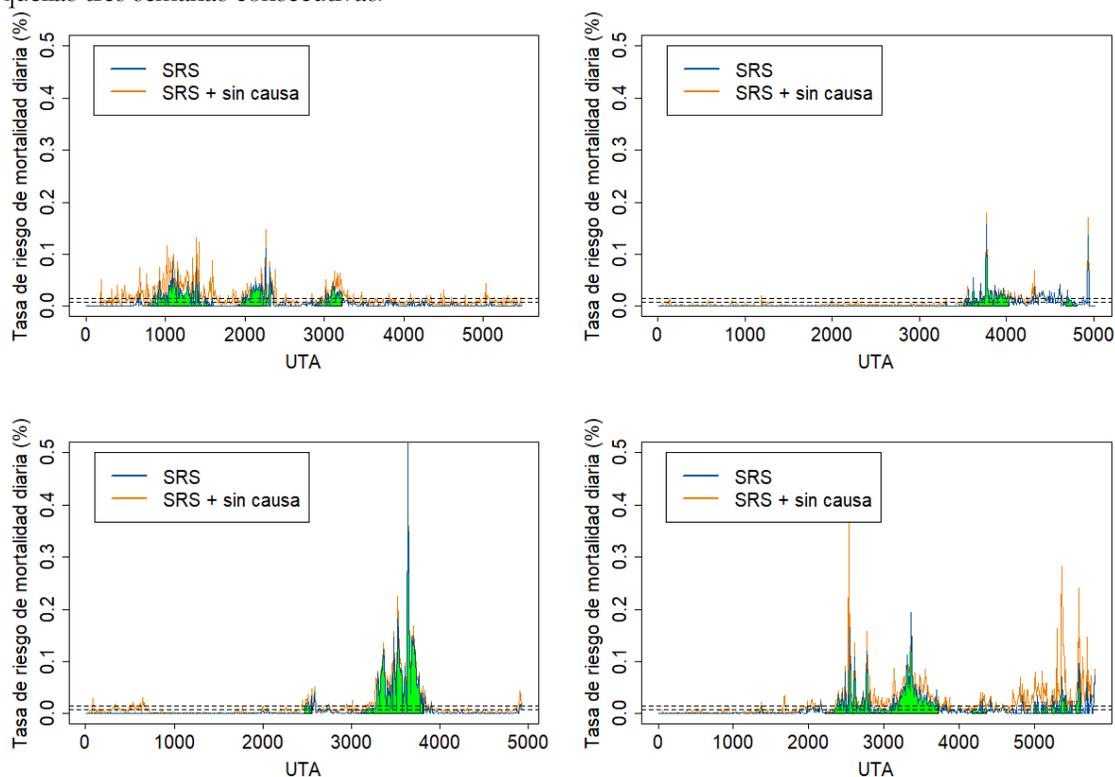
No hay una definición estándar de un brote de piscirickettsiosis. Conceptualmente, estamos interesados en identificar un nivel de mortalidad atribuida a la piscirickettsiosis que esté suficientemente por sobre un nivel de "referencia" aceptable como para que un supervisor de un centro tuviera razones para tomar decisiones acerca de intervenciones para controlar la enfermedad (siendo un resultado posible la decisión de no tomar ninguna acción al respecto). Jakob et al (2014) definieron el comienzo de un brote en una jaula de peces como "una vez que existe un diagnóstico de piscirickettsiosis en el centro y la tasa de mortalidad semanal de la jaula es de $\geq 0,1\%$ por tres semanas consecutivas". Seleccionaron este umbral porque se consideró que estaba "generalmente por sobre el nivel de mortalidad de referencia para los centros de cultivo". En su análisis sobre tratamientos antimicrobianos contra la piscirickettsiosis, Price et al (2016) no definieron un brote de piscirickettsiosis en cuanto a la mortalidad; en vez de eso, examinaron los datos semanales a nivel de jaula para identificar jaulas donde se hubiera usado oxitetraciclina o florfenicol oral.

Desarrollamos una definición de caso para un "brote de piscirickettsiosis" a nivel de jaula en cuanto a un nivel umbral de mortalidad por sobre un período de tiempo definido. Al hacerlo, consideramos las implicancias de diferentes umbrales en la sensibilidad y especificidad de la definición del caso: un umbral más bajo lleva a una sensibilidad más alta (incluyendo así más brotes, pero también incluyendo brotes falsos positivos), mientras que un umbral más alto lleva a menores sensibilidades, pero también a menores brotes falsos positivos. En este contexto, un falso positivo es un alza transitoria en la mortalidad atribuida a la piscirickettsiosis que, en la ausencia de tratamiento, nos lleva a un brote sostenido y sustancial; un "falso negativo" es un brote de mortalidad atribuida a la piscirickettsiosis económicamente sustancial, que no cumple con la definición de caso de un brote de piscirickettsiosis.

Consistente con lo dicho por Jakob et al (2014), aplicamos tres semanas como el período por sobre el cual se examinó la mortalidad atribuida a la piscirickettsiosis para definir el inicio de un brote de la enfermedad. Diferimos de lo dicho por Jakob et al (2014) en que aplicamos un criterio que requiere una mortalidad promedio semanal atribuida a la piscirickettsiosis que esté por sobre el umbral, en vez de que cada una de las tres semanas consecutivas esté por sobre ese umbral, para aumentar la sensibilidad de la definición del brote de piscirickettsiosis.

Para determinar un umbral de nivel de mortalidad adecuado, generamos curvas de mortalidad a nivel de jaula (riesgo de mortalidad atribuido a la piscirickettsiosis diariamente) para 100 signos de producción seleccionados aleatoriamente (consulte los ejemplos en Notas: Los brotes de piscirickettsiosis se muestran en color verde. La línea punteada inferior corresponde al umbral de mortalidad usado para definir el inicio de un brote (riesgo de mortalidad atribuido a piscirickettsiosis semanal promedio de 0,05%, equivalente a un riesgo diario de 0,007%). La línea punteada superior corresponde el umbral de mortalidad usado para definir el fin de un brote (riesgo de mortalidad semanal promedio de piscirickettsiosis y causas desconocidas de 0,1%, equivalente a un riesgo diario de 0.01%).

Figura 1), y examinamos estas curvas para determinar un nivel de mortalidad atribuida a la piscirickettsiosis por sobre tres semanas que razonablemente constituya el inicio de un brote sustancial de piscirickettsiosis. Nuestra intención fue desarrollar una definición de caso que detecte todos los brotes de piscirickettsiosis sustanciales, pero que excluya fluctuaciones menores por sobre la línea de referencia. En base al examen de los datos y tras consulta con la industria, definimos que el comienzo de un brote de piscirickettsiosis es el primer día de un período de tres semanas durante el cual el riesgo de mortalidad atribuida a la piscirickettsiosis a nivel de jaula semanalmente fuera mayor a 0,05%, cuando se promedian lo largo de aquellas tres semanas consecutivas.



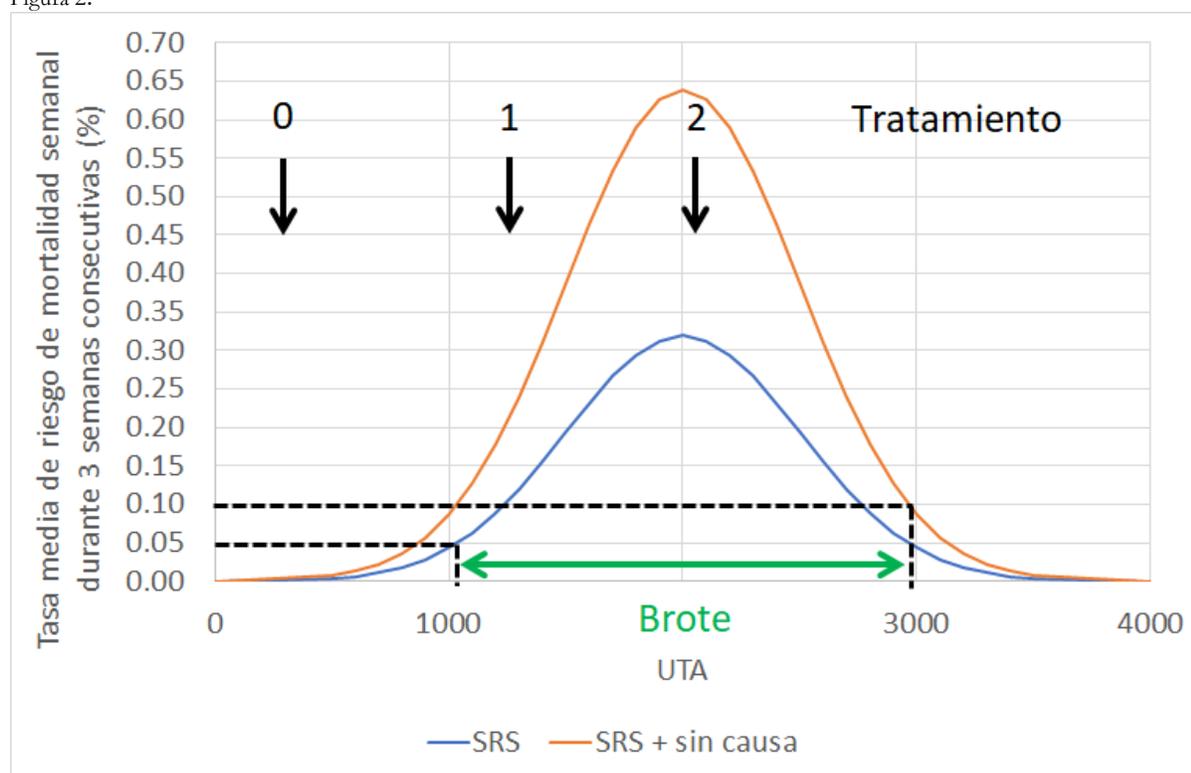
Notas: Los brotes de piscirickettsiosis se muestran en color verde. La línea punteada inferior corresponde al umbral de mortalidad usado para definir el inicio de un brote (riesgo de mortalidad atribuido a piscirickettsiosis semanal promedio de 0,05%, equivalente a un riesgo diario de 0,007%). La línea punteada superior corresponde el umbral de mortalidad usado para definir el fin de un brote (riesgo de mortalidad semanal promedio de piscirickettsiosis y causas desconocidas de 0,1%, equivalente a un riesgo diario de 0.01%).

Figura 1 Curvas brutas de mortalidad atribuida a piscirickettsiosis a nivel de jaula con brotes identificados de la enfermedad, en base a nuestra definición de un brote de piscirickettsiosis

Aunque existe un potencial para la mala clasificación de mortalidad atribuida a la piscirickettsiosis (incluyendo el potencial de mortalidad causada realmente por piscirickettsiosis que se atribuye a alguna otra causa), hemos considerado que es adecuado definir el comienzo de un brote de piscirickettsiosis en base a la mortalidad atribuida a ella, en vez de a una mortalidad atribuida a toda causa una vez diagnosticada la piscirickettsiosis, en el supuesto de que las decisiones de manejo para controlar la piscirickettsiosis se basan en la mortalidad atribuida a esta última.

Definimos el término de un brote de piscirickettsiosis ("resolución") como el primer día de un período de tres semanas durante las que la mortalidad combinada atribuida a piscirickettsiosis y "causas desconocidas" semanalmente fue de $\leq 0,1\%$, cuando se promedió a lo largo de aquellas tres semanas consecutivas. Decidimos incluir las mortalidades atribuidas a causas desconocidas debido a la creencia de mucho del personal de la industria de que la mayoría de las mortalidades debido a "causas desconocidas" durante un brote de piscirickettsiosis están, de hecho, asociadas a ella. El umbral de mortalidad semanal que define el final de un brote de piscirickettsiosis ($0,1\%$) se seleccionó más arriba del umbral de la mortalidad semanal que define el comienzo de un brote de piscirickettsiosis ($0,05\%$), debido al que el final de un brote se basa en la mortalidad atribuida tanto a la piscirickettsiosis como a "otras causas". Esta definición se ilustra en Notas: Los umbrales que definen el inicio y el fin de un brote se muestran mediante líneas entrecortadas. Usando el marco de trabajo de nuestro estudio, el tratamiento 1 es el tratamiento principal para este brote, mientras consideramos que el tratamiento 2 es un tratamiento de repetición.

Figura 2.



Notas: Los umbrales que definen el inicio y el fin de un brote se muestran mediante líneas entrecortadas. Usando el marco de trabajo de nuestro estudio, el tratamiento 1 es el tratamiento principal para este brote, mientras consideramos que el tratamiento 2 es un tratamiento de repetición.

Figura 2 Ilustración de la definición de un brote de piscirickettsiosis

Los brotes de piscirickettsiosis no excluyeron si el tratamiento antimicrobiano se entregó antes del inicio del brote; sin embargo, el tratamiento anterior se incluyó como una covariable en el análisis.

En este análisis, decidimos enfocarnos en el evento del primer tratamiento dentro de un brote de piscirickettsiosis, como la exposición primaria, e incluir los tratamientos de repetición como una covariable. Sólo los brotes con al menos un curso de tratamiento registrado se usaron en el análisis.

La tasa de mortalidad atribuida a piscirickettsiosis durante los brotes identificados de piscirickettsiosis fue significativamente más alta que la tasa de mortalidad atribuida a piscirickettsiosis en todo el ciclo de producción (Figura 3). Esto respalda nuestra definición de brote de piscirickettsiosis, que fue diseñada para capturar episodios de mortalidad atribuida a piscirickettsiosis anormalmente alta, en comparación con un nivel endémico de referencia. La cifra podría no haber mostrado una diferencia clara entre la mortalidad del brote y los niveles de mortalidad del ciclo, lo que indica que la mayor parte de la mortalidad de piscirickettsiosis durante los ciclos de producción se debe a la baja incidencia de la actividad de mortalidad endémica. En este caso, un enfoque basado en brotes no habría sido relevante. La Figura 3 muestra que nuestra definición capta la ocurrencia de eventos de niveles de mortalidad más altos que los niveles base, en los que es probable que los productores contemplen el tratamiento. El análisis de la eficacia de los tratamientos con antibióticos aplicados en este contexto proporcionará, por lo tanto, recomendaciones relevantes para el contexto en el que se aplican estos tratamientos en los sitios de agua de mar.

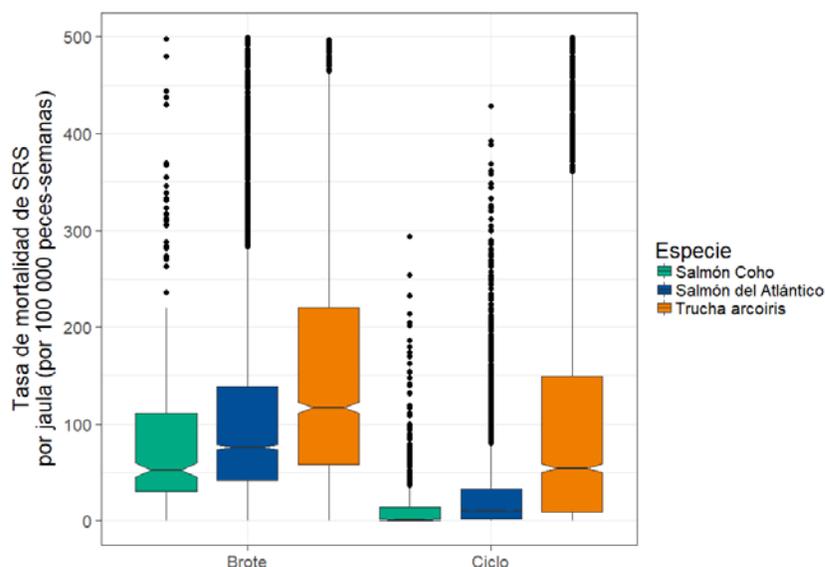


Figure 3 Tasa de mortalidad atribuida a piscirickettsiosis durante brotes identificados de piscirickettsiosis (grupo izquierdo) y durante todo el ciclo de producción (grupo derecho), por especie

3.2.3 Período de seguimiento

El período de seguimiento se refiere al tiempo (en días) durante el cual se miden los resultados. Definimos un periodo de seguimiento como un período posterior al tratamiento, específicamente el período desde el primer día de tratamiento al primer día del periodo de tres semanas que define la resolución. Consideramos este período de seguimiento posterior al tratamiento como el más adecuado durante el cual se puede evaluar la

efectividad del tratamiento antimicrobiano, habiendo dado cuenta de los potenciales factores de confusión como el nivel de mortalidad inmediatamente antes del tratamiento.

El fin del período de seguimiento se define como la fecha de resolución o de delimitación (cosecha); por ende, la duración del período de seguimiento se mide en una escala continua. Identificamos brotes truncados por cosecha e incluimos una variable de indicación para brotes truncados en el análisis. Esta variable tomó el valor cero cuando se identificó el final del brote antes de que finalizara el ciclo de producción, uno de lo contrario. Como los brotes truncados representaban una gran proporción de los datos (31%), se mantuvieron en el conjunto de datos para su análisis. La inclusión o exclusión de la variable de regresión de truncamiento no alteró significativamente las estimaciones de coeficientes, sus errores estándar o valores de p.

3.2.4 Exposición primaria: tratamiento antimicrobiano

Los registros de tratamiento antimicrobiano incluyen el nombre del fármaco, la vía de administración (en el alimento o por inyección) y el fabricante. Los antimicrobianos usados de manera poco frecuente y los registros de tratamiento para los que no se pudo determinar el compuesto activo se agruparon como "otros". En base al componente activo y a la vía de administración, se identificaron ocho tipos de tratamiento antimicrobiano únicos: por ejemplo, florfenicol en alimento, florfenicol por inyección, oxitetraciclina en alimento y oxitetraciclina por inyección.

Un "evento de tratamiento antimicrobiano" se definió (en principio) como los días consecutivos de administración de un antimicrobiano específico mediante una vía específica de administración. Sin embargo, la experiencia de la industria sugiere que las brechas en el tratamiento de hasta siete días pueden ocurrir, por ejemplo, si el mal tiempo impide el envío programado del alimento medicado. Por esta razón, consideramos que múltiples días de tratamiento con el mismo antimicrobiano constituyen un solo evento de tratamiento si la brecha entre los días de tratamiento fue <7 días.

Aunque la dosis del fármaco es un factor esencial en la evaluación del impacto de los tratamientos antimicrobianos, los datos sobre dosis obtenidos desde las empresas no pudieron ser usados directamente en el análisis. Los métodos de registro varían mucho entre empresas en cuanto a la unidad de tratamiento para la que aplica la dosis (pez, jaula o centro), la unidad de fármaco (por ejemplo, miligramos de sustancia activa, kilogramos de alimento medicado, litros de fármaco comercial) y la unidad temporal (dosis diaria o dosis para todo el tratamiento). Debido a que los protocolos de registro no estuvieron disponibles fácilmente, nos distinga de mayor detalle la dosificación antimicrobiana en este estudio.

3.2.5 Resultados: efectividad del tratamiento sobre la mortalidad atribuida a la piscirickettsiosis

El primer resultado de interés fue la mortalidad combinada atribuida a la piscirickettsiosis y a causas desconocidas durante el período de seguimiento. Las mortalidades atribuidas a causas desconocidas se incluyeron por las razones explicadas anteriormente. La tasa de mortalidad atribuida a la piscirickettsiosis a causas desconocidas durante el período de seguimiento se calculó como sigue:

$$\text{tasa de mortalidad} = \frac{\text{suma de conteo de mortalidad atribuida a piscirickettsiosis y a causas desconocidas durante el período de seguimiento}}{\text{cantidad total de peces-semanas en riesgo durante el período de seguimiento}}$$

Multiplicamos la tasa de mortalidad por 100 000, para expresar una tasa por 100 000 peces-semana en riesgo. La tasa (en vez del riesgo) se usó para dar cuenta de los cambios en la población a nivel de jaula durante períodos de seguimiento de extensión variable.

3.2.6 Otras variables explicativas

Se identificaron otras variables explicativas, a priori, desde revisiones bibliográficas y tras consulta con personas familiarizadas con la producción salmoneera y/o la epidemiología de la piscirickettsiosis. Se desarrollaron diagramas causales (gráficos acíclicos dirigidos) para indicar relaciones causales postuladas entre diferentes factores y la mortalidad atribuida a la piscirickettsiosis, incluyendo factores relacionados con el tratamiento antimicrobiano. La exploración inicial de los datos generados por la industria en la plataforma de investigación se realizó para confirmar cuáles de estas variables explicativas estaban disponibles para su análisis. Las variables explicativas pueden estar asociadas con el período de pre-tratamiento, el período posterior al tratamiento, el brote completo o todo el ciclo de producción. Además, las variables explicativas se dividieron en cinco bloques: variables de tratamiento, variables de manejo, variables de peces, variables ambientales y cofactores de locación o temporales.

Se entrega una lista completa de variables de exposición explicativas, junto con sus definiciones y otros nombres, en el Apéndice 2. En ausencia de datos directos y confiables sobre parámetros importantes, tales como la carga de caligus y la calidad del alevín, utilizamos ciertas variables como proxies:

- El tiempo desde el último tratamiento de caligus y el número total de tratamientos de caligus desde la entrada del alevín hasta el brote de piscirickettsiosis se utilizaron en el modelo como un proxy para la carga de caligus. De hecho, los recuentos de caligus no son registrados por las compañías en su software de producción (de hecho, se registran por separado en hojas de cálculo) y no se habían integrado en la plataforma de investigación en el momento del análisis.
- Se cree que varias variables, como el peso del alevín y la mortalidad inicial después de la entrada al mar, son indicadores aceptables de la calidad del caligus y la salud. En ausencia de una medida universal y estandarizada de la calidad del alevín, utilizamos la mortalidad por todas las causas durante las primeras 4 semanas en el mar como un proxy.

La mortalidad relacionada con los depredadores antes del tratamiento y la mortalidad atribuida a los depredadores durante el período de seguimiento fueron en su mayoría nulas durante los períodos de brote. Por consiguiente, estos factores se excluyeron del análisis y no se pudo investigar el impacto de la mortalidad relacionada con los depredadores sobre la efectividad de los antimicrobianos. Los datos de mortalidad relacionada con depredadores actualmente disponibles se basan únicamente en las declaraciones de mortalidad. La presencia de depredadores, incluso si no causan mortalidad, puede inducir estrés en los peces. La recolección de datos sobre la presencia de depredadores permitiría probar esta hipótesis.

Aunque la plataforma de investigación PIISAC todavía no contiene datos de todas las empresas, pudimos utilizar datos reglamentarios en la base de datos SIFA de Sernapesca para identificar el estado de infección por piscirickettsiosis de todos los sitios activos y calcular la presión de infección del vecindario. Esta variable se calculó como el promedio de densidad ponderada de la tasa de mortalidad por piscirickettsiosis durante los 21 días antes del comienzo del tratamiento, en todos los sitios marinos dentro de un radio de 20 km (Rees et al, 2014). La ponderación estaba inversamente relacionada con las distancias marítimas entre sitios.

3.3 Análisis estadísticos

3.3.1 Estructura de los datos y efectos aleatorios

Se definió un modelo mínimo, que incluye cofactores de ubicación o temporales que representan la naturaleza agrupada de los datos (espacial y temporalmente), así como otras variables incluidas porque pueden confundir la asociación entre el tratamiento y el resultado. Todos los modelos incluidos en la selección se construyeron a partir de este modelo mínimo. Incluía los siguientes efectos fijos: longitud, latitud, rango de brote y día calendario del inicio del brote (valores 1-366, para modelar efectos estacionales con una función cúbica) (ver

el Apéndice 2 para más detalles). Se incluyeron los siguientes efectos aleatorios: región, barrio, empresa, sitio y jaula. La estructura de efecto aleatorio para las variables de ubicación se anidó: jaula dentro del centro, dentro del barrio y dentro de la región. Estas variables de ubicación normalmente se cruzan con el identificador de la empresa (empresaid). Sin embargo, debido a que la región y la empresa tienen pocos valores únicos, estos se modelaron como efectos fijos. La jaula, el centro y el barrio tuvieron más valores únicos y se modelaron como efectos aleatorios anidados.

El examen de la varianza a diferentes niveles de agrupamiento es útil porque indica dónde se produce una variación inexplicable en el resultado de interés. Esto es importante desde la perspectiva de la gestión porque las intervenciones dirigidas a los niveles donde la varianza es mayor pueden tener la mayor probabilidad de éxito (Dohoo et al 2003).

El salmón del Atlántico y la trucha arcoíris se modelaron por separado. Se incluyeron datos para el salmón Coho en el análisis descriptivo, pero se excluyeron desde el modelamiento de regresión debido a una cantidad inadecuada de brotes.

3.3.2 Modelamiento de regresión estadística

Los datos se describieron primero a través de resúmenes gráficos explicativos, como se reporta en las secciones 0–0. Luego, el modelamiento multivariable aplicó modelos binomiales negativos de los datos de conteo de mortalidad atribuida a la piscirickettsiosis y a causas desconocidas durante el periodo de seguimiento posterior al tratamiento, dado que las pruebas para la sobredispersión de conteo relativa a la distribución de Poisson fueron estadísticamente significativas ($P < 0,01$ en una prueba de chi cuadrado entre modelos binomiales negativos y de Poisson). El modelamiento adoptó un marco de trabajo de regresión de efecto mixto y lineal generalizado (Bates et al 2014), implementado en el ambiente estadístico R (R Development Core Team 2008). La suma de los conteos de mortalidad atribuidos a la piscirickettsiosis a causas desconocidas fue compensada por la cantidad total de peces-días observados durante el periodo de seguimiento efectivamente modelando el resultado como una tasa de mortalidad. Además, cada variable explicativa valorizada continuamente se escaló a un puntaje z (o sea, centrado en tener una media de 0 y escalado para tener una desviación estándar de 1).

3.3.3 Construcción y selección del modelo

Se identificó un modelo final a través del enfoque teórico de la información propuesto por Burnham & Anderson (2002). Este enfoque primero identifica, a priori, un conjunto de hipótesis biológicamente plausible para las que se construyen modelos individuales. Luego, estos modelos se clasifican según sus puntajes del criterio de información de Akaike (AICc) con su sesgo corregido (Akaike 1974). Las ponderaciones de Akaike son luego computadas desde los puntajes AICc. Estas ponderaciones reflejan la importancia relativa de cada modelo, dado el conjunto de hipótesis a priori consideradas, y se aplican en el promedio ponderado de los modelos, generando así el modelo (o modelos) final desde donde se obtienen las inferencias y predicciones del modelo. El enfoque está diseñado para minimizar la tasa de error relacionada con la familia; o sea, la probabilidad de realizar uno o más descubrimientos falsos de relevancia estadística durante el proceso de selección de variables. Como los modelos se ponderan por su peso de Akaike en la estimación del modelo final, solo los modelos con un peso de Akaike distinto de cero están contribuyendo efectivamente a los coeficientes del modelo final.

Los modelos a priori considerados fueron modelos de hipótesis de una sola variable, que agregaron una sola variable explicativa al modelo mínimo descrito anteriormente, o modelos en bloque que incluyeron todas las variables relacionadas (por ejemplo, todas las variables consideradas como variables de manejo se incluyeron juntas dentro del modelo del bloque de manejo). Los cuatro bloques de variables se agregaron individualmente, en pares, de a tres a la vez y los cuatro juntos al modelo mínimo para definir un total de 16 combinaciones de bloques separadas. El modelo que contiene los cuatro bloques de variables se denominó

modelo máximo. Note que una interacción entre dos variables explicativas, principalmente el antimicrobiano y el método de entrega que interactúan con co-factores de manejo, ambientales y de peces, se incluyó como una hipótesis de una sola variable independiente, según se definió en el Apéndice 2.

Se implementaron diagnósticos de modelos simplemente a través de un diagrama de residuos de modelo en valores ajustados. Se identificó un solo brote con una influencia excepcionalmente grande a través de un valor ajustado, que era varias órdenes de magnitud más grande que el siguiente valor ajustado más grande para el modelo máximo de salmón del Atlántico. Este brote (ciclo de producción id 8709) se eliminó desde el análisis y los modelos se volvieron a ajustar.

Se calcularon los factores de inflación de varianza para cada variable explicativa continua incluida en los modelos. Las variables con un factor de inflación de varianza alto (> 3) indican una colinealidad alta y se eliminaron de los modelos en los que aparecen (Zuur et al 2010). Se eliminaron dos variables en este proceso en los modelos de salmón del Atlántico: la temperatura antes del tratamiento (TemperatureBefore) y la longitud del sitio (Longitude). En los modelos de trucha arcoiris, la temperatura antes del tratamiento (TemperatureBefore) y el tiempo transcurrido desde el último tratamiento de caligus (TimeSinceLiceTreatment) se eliminaron del análisis.

4 Resultados

4.1 Hipótesis a priori

En base a la literatura publicada, a los aportes de la industria y a otras opiniones expertas, desarrollamos un diagrama causal (gráfico acíclico dirigido) para ilustrar las relaciones entre factores que pueden tener una influencia sobre la efectividad del tratamiento antimicrobiano contra la piscirickettsiosis (Notas: Las flechas en un gráfico acíclico dirigido (DAG) representan efectos causales directos de una variable sobre otra, sean perjudiciales o protectores. Las flechas y su dirección se basan en conocimiento a priori. Los DAG son acíclicos porque las variables causales preceden a sus efectos; esto significa que ninguna ruta causal puede formar un bucle cerrado.

Figura 20, en el Apéndice 1). Usando el diagrama causal, desarrollamos múltiples hipótesis biológicamente plausibles acerca de cómo, cuándo y por qué diferentes factores influyen sobre la efectividad del tratamiento antimicrobiano contra la piscirickettsiosis. Estas hipótesis se agrupan en varias categorías: el grupo 1 contiene hipótesis relacionadas con el tratamiento antimicrobiano; el grupo 2 contiene hipótesis relacionadas con factores que influyen en la salud de los peces y su susceptibilidad; el grupo 3 contiene hipótesis relacionadas con factores de manejo y decisiones acerca de cuándo realizar el tratamiento; y el grupo 4 contiene hipótesis relacionadas con la influencia de las condiciones ambientales. Consistente con un enfoque teórico de la información, las hipótesis a priori se enfocaron en los análisis estadísticos posteriores. Las múltiples hipótesis de trabajo se enumeran a continuación y se proporciona más información sobre cada uno de ellos en el Apéndice 3.

Grupo de hipótesis 1 - factores del tratamiento antimicrobiano:

- Ciertos antimicrobianos son más efectivos que otros en el tratamiento de brotes de piscirickettsiosis.
- Los antimicrobianos son más efectivos si se administran mediante inyección que si se hace oralmente (en el alimento).
- La administración oral de antimicrobianos es más efectiva si la duración del tratamiento es mayor.

Grupo de hipótesis 2 - factores nivel-peces:

- La presencia de otras enfermedades infecciosas reduce la efectividad del tratamiento antimicrobiano.
- El tratamiento antimicrobiano es menos efectivo si la carga de caligus es alta.
- El tratamiento antimicrobiano es más efectivo en peces pequeños más que en peces más grandes.
- El tratamiento antimicrobiano es más efectivo en ciclos de producción con salmones jóvenes de mejor calidad.
- El tratamiento antimicrobiano es más efectivo cuando la vacunación contra la piscirickettsiosis más reciente fue hecha hace poco.

Grupo de hipótesis 3 - factores de manejo:

- El tratamiento antimicrobiano es más efectivo si el tratamiento comienza pronto después del comienzo del brote de piscirickettsiosis.
- El tratamiento antimicrobiano es más efectivo si el tratamiento comienza cuando la mortalidad atribuida a la piscirickettsiosis es relativamente baja.
- El tratamiento antimicrobiano es más efectivo cuando se aplica simultáneamente a todas las jaulas en un centro.

- El tratamiento antimicrobiano es más efectivo cuando la variabilidad de peso entre peces dentro de la jaula es más pequeña.
- El tratamiento antimicrobiano es más efectivo cuando hay pocos días de interrupción de la administración del antimicrobiano.

Grupo de hipótesis 4 - factores ambientales:

- Los tratamientos antimicrobianos orales son menos efectivos cuando la temperatura del mar es más alta. Este efecto puede depender del tipo de tratamiento.
- Los tratamientos antimicrobianos orales son menos efectivos cuando la turbidez del mar es mayor.
- El tratamiento antimicrobiano es menos efectivo cuando la salinidad es más alta.
- El tratamiento antimicrobiano es menos efectivo cuando la mortalidad relacionada con los depredadores es más alta.
- El tratamiento antimicrobiano es menos efectivo frente a una presión de infección más alta desde otras jaulas infectadas con piscirickettsiosis en el mismo centro.
- El tratamiento antimicrobiano es menos efectivo frente a una presión de infección más alta desde centros infectados con piscirickettsiosis dentro de 20 km a la redonda.

4.2 Escenario

4.2.1 Cantidad de datos incluidos en el análisis

Al momento de este estudio (junio de 2018), siete empresas acuícolas fueron participantes voluntarios de la plataforma de investigación, representando 36% de la biomasa total del salmón de cultivo en producción y 27% de los centros activos a marzo de 2018. El conjunto de datos entregado por una empresa no contenía los registros diarios necesarios para realizar el análisis, por lo que este se basó en los ciclos de producción de seis empresas.

Los datos considerados como válidos se describen en Tabla 1.

Tabla 1 Cantidad de ciclos de producción a nivel de jaula excluidos del análisis, por razón

Cantidad de ciclos de producción a nivel de jaulas disponible		10 468
De los cuales, la cantidad de ciclos de producción con:	Duración de ciclo anormal	1 630
	Peso de siembra anormal	406
	Mortalidad no registrada diariamente	114
Cantidad de ciclos de producción incluidos en los resultados descriptivos (conjunto de datos 1)		8 318
De los cuales, la cantidad de ciclos de producción:	Donde faltaban datos de ubicación espacial	185
	En salmón Coho (con datos de ubicación válidos)	649
Cantidad de ciclos de producción incluidos en los resultados analíticos (conjunto de datos 2)		7 484

El conjunto de datos 1 se usó para el resto de esta sección, así como las otras secciones descriptivas (secciones 0 y 00), mientras que los resultados analíticos y las secciones 0 y 0 se basan en el conjunto de datos 2.

El conjunto de datos fue desde el 24 de agosto de 2003 hasta el 5 de mayo de 2018, e incluyó 8 318 ciclos de producción y 196 centros en agua marina en 49 barrios. La distribución de los centros y los ciclos, por empresa, se presenta en Tabla 2.

Tabla 2 Cantidad de centros de producción en agua marina y ciclos de producción para los que hay datos válidos disponibles, por empresa

Empresa	Cantidad de centros incluidos	Cantidad de ciclos de producción a nivel de jaula incluidos
1	45	844
2	23	452
3	38	2 209
4	33	1 804
5	28	1 571
6	29	1 438
Total	196	8 318

4.2.2 Características generales de los ciclos de producción

De los 8 318 ciclos de producción nivel de jaula en el conjunto de datos, la mayoría fueron de salmón del Atlántico (4 842 ciclos) con un número menor de trucha arcoíris (2 755 ciclos) y un número pequeño de salmón Coho (721 ciclos) (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**4) El conjunto de datos incluyó relativamente pocos ciclos de producción anteriores al 2010 y más de 900 sitios por año desde 2011 a 2015. El menor número de ciclos en 2017 se puede explicar parcialmente por el hecho de que algunos ciclos de producción comenzaron a finales de 2017 y nos incluyeron en el conjunto de datos, ya que hubo menos de

seis meses de datos disponibles para aquellos ciclos al momento del análisis.

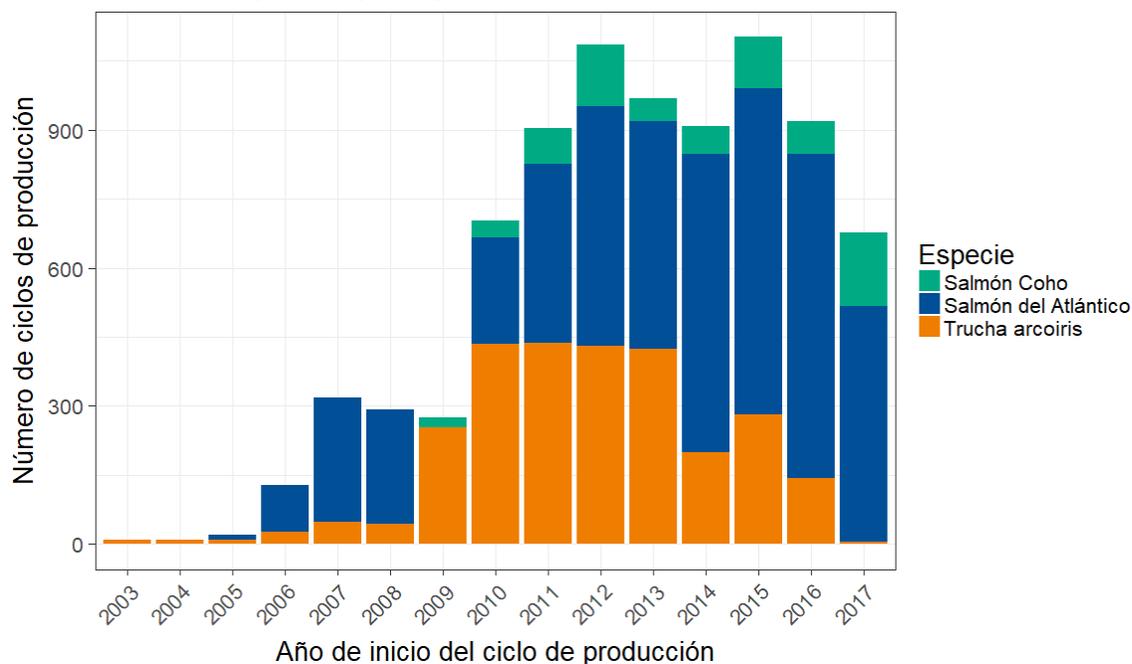
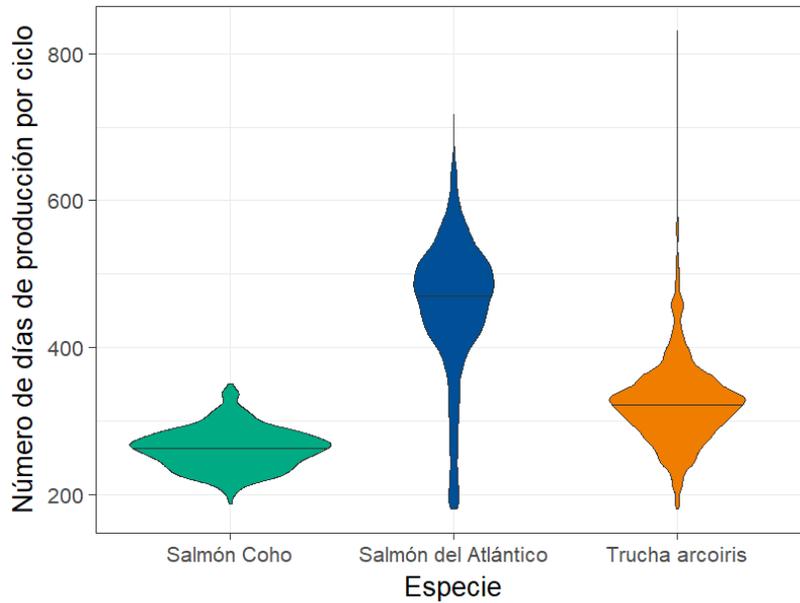


Figura 4 Cantidad de ciclos de producción incluidos en el estudio, por especie y por año

Durante todo el período de estudio, la mediana de duración del ciclo de producción fue de 459 días (rango intercuartil [IQR] 410-504) para el salmón del Atlántico, 263 días (IQR 243-278) para el salmón Coho 322 días (IQR 292-349) para trucha arcoíris (Nota: Las barras horizontales representan la mediana de valores.

Figura 5). Nota: Las barras horizontales representan la mediana de valores.

Figura 5 muestra algunos valores atípicos para la trucha arcoíris (con una cola larga, que corresponde a ciclos anormalmente largos). Estos ciclos podrían corresponder a centros de reproducción que no fueron identificados como tales en los datos y se incluyeron en el conjunto de datos de estudio. Se observaron ciclos muy cortos para el salmón del Atlántico; esto podría deberse a una cosecha temprana como resultado de enfermedad o una mala clasificación de las transferencias de peces en los datos (por ejemplo, un ciclo de producción en agua marina que contiene una transferencia de jaulas que fue identificada por error como dos ciclos independientes). Tales anomalías representaron solo una pequeña proporción del conjunto de datos y es poco probable que tengan una influencia sustancial en los resultados analíticos.



Nota: Las barras horizontales representan la mediana de valores.

Figura 5 Extensión del ciclo de producción, por especie

4.3 Brotes de piscirickettsiosis y mortalidad atribuida a piscirickettsiosis

Usando las definiciones del estudio de un brote de piscirickettsiosis, 62% de las jaulas de salmón Atlántico y 78% de las jaulas de trucha arcoiris experimentaron al menos un brote de piscirickettsiosis durante el ciclo de producción. Solo 37% de los ciclos de producción del salmón Coho experimentaron un brote de piscirickettsiosis (Figura 6). Entre los 8 318 ciclos de producción a nivel de jaula en el conjunto de datos, se detectaron 7 570 brotes de piscirickettsiosis.

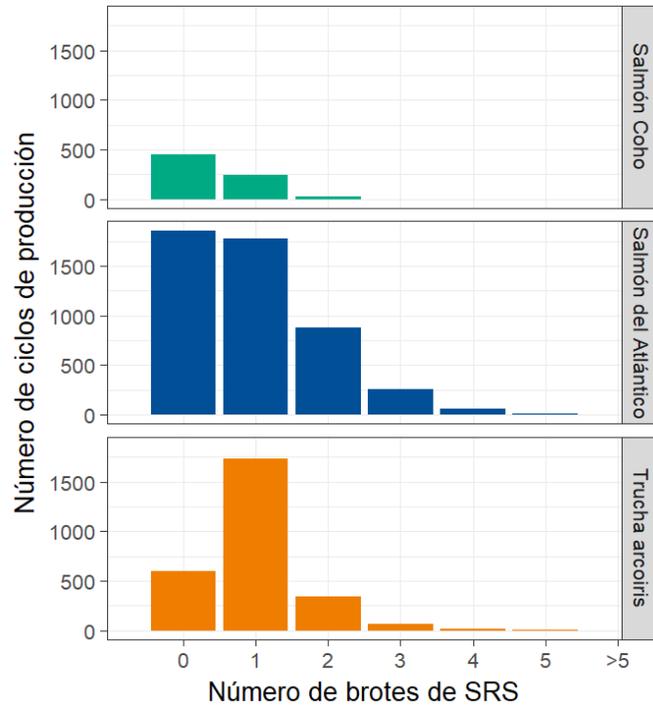


Figura 6 Cantidad de brotes de piscirickettsiosis por ciclo de producción, por especie

En el salmón del Atlántico, la cantidad de jaulas que experimentaron un brote de piscirickettsiosis aumentó desde aproximadamente 700 unidades térmicas acumuladas desde el comienzo del ciclo de producción, para llegar a un máximo de alrededor de 4 000 unidades térmicas acumuladas. En la trucha arcoíris, el máximo ocurrió alrededor de 2 800 unidades térmicas acumuladas (Figura 7). Esta figura muestra que los brotes de piscirickettsiosis son más comunes en las etapas tardías del ciclo de producción.

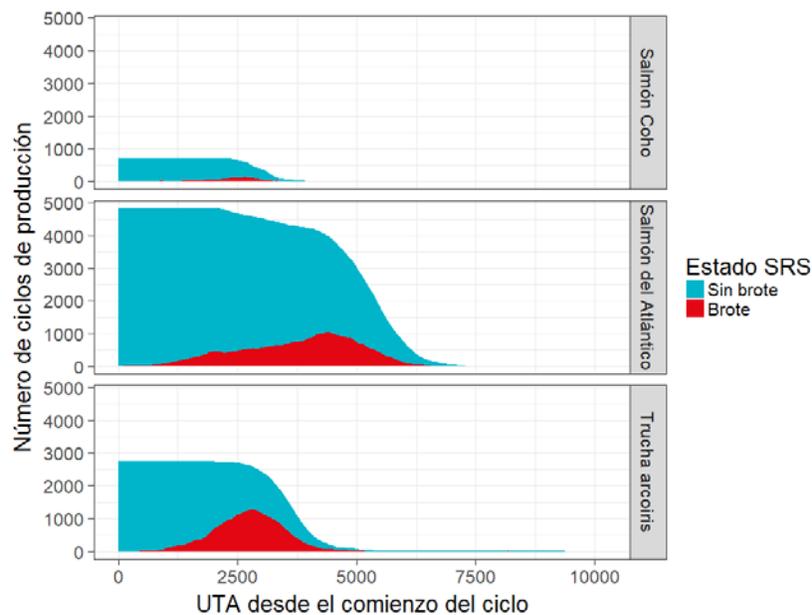


Figura 7 Cantidad de ciclos de producción que experimentaron un brote de piscirickettsiosis a lo largo del ciclo, por especie

La distribución de brotes de piscirickettsiosis por año y por especie (Figura 8) muestra un patrón similar a la distribución de los ciclos de producción por año y especie (¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.4), con la excepción de que la prevalencia de brotes de piscirickettsiosis es menos común en el salmón Coho que en las otras especies. La menor cantidad de brotes en 2017 en relación a los seis años anteriores se puede explicar por el hecho de que la cantidad de ciclos de producción incluidas en el conjunto de datos fue menor para 2017 que para los años anteriores.

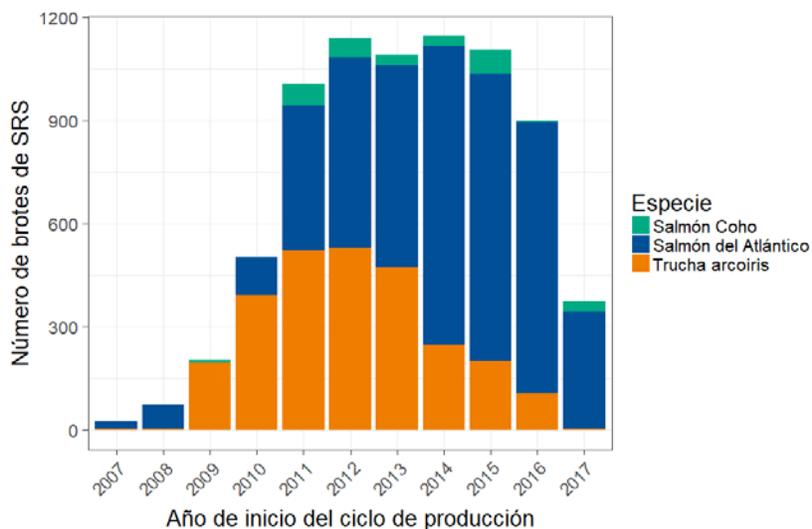
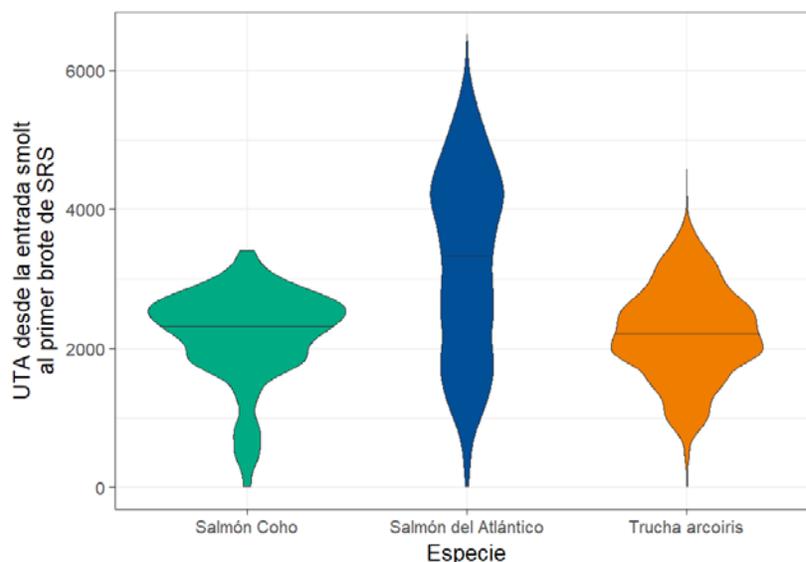


Figura 8 Cantidad de brotes de piscirickettsiosis por año, por especie

El tiempo (en unidades térmicas acumuladas) desde la entrada de los salmones jóvenes hasta el comienzo del primer brote de piscirickettsiosis varió sustancialmente en todas las especies. En el salmón Coho y en la trucha arcoíris, la mediana de tiempo hasta el primer brote fue aproximadamente 2 300 unidades térmicas acumuladas, aunque algunos brotes ocurrieron dentro de las 1 000 unidades térmicas acumuladas de la entrada en salmones jóvenes. En el salmón del Atlántico, la mediana de tiempo hasta el primer brote fue de aproximadamente 3 300 unidades térmicas acumuladas, estando el tiempo de la mayoría de los primeros brotes dispersado uniformemente por sobre un período de entre 1 800 y 4 300 unidades térmicas acumuladas. Al igual que con otras especies, algunos brotes en el salmón del Atlántico aparecieron dentro de las 1 000 unidades térmicas acumuladas desde la entrada de los salmones jóvenes. En todas las especies, estos brotes tan tempranos fueron inesperados y pueden reflejar errores en los datos relacionados con la transferencia de salmones jóvenes entre jaulas marinas.



Notas: El ancho del "violín" indica la frecuencia del valor en el eje y. El área de cada violín es la misma para todas las especies, aunque la cantidad real de brotes varía sustancialmente entre especies (consulte Figura 8).

Figura 9 Tiempo (en unidades térmicas acumuladas) desde la entrada de los salmones jóvenes hasta el primer brote de piscirickettsiosis, por especie

La tasa de mortalidad atribuida a piscirickettsiosis durante los brotes identificados de esta fue significativamente mayor que la tasa de mortalidad atribuida a piscirickettsiosis a lo largo del ciclo de producción completo (Figura 10). Esto soporta nuestra definición de brote de piscirickettsiosis, que fue diseñada para capturar episodios de mortalidad atribuida a piscirickettsiosis anormalmente alta.

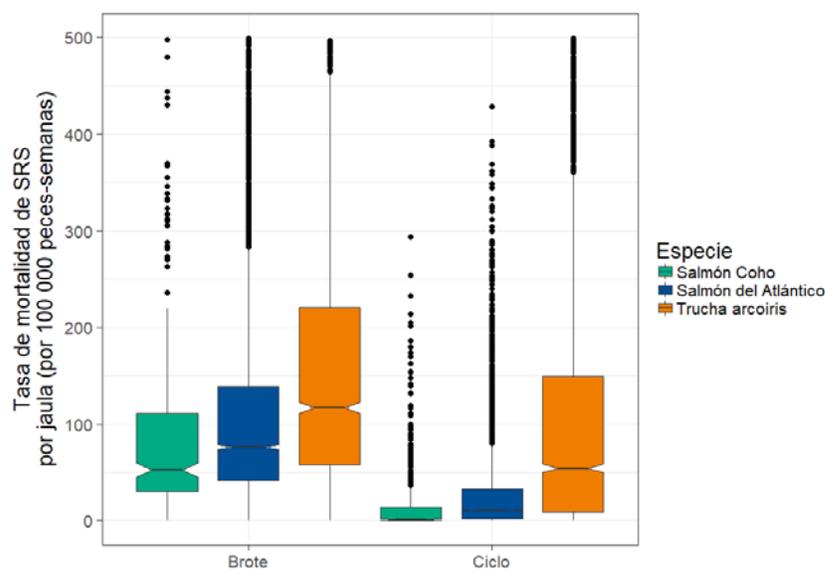


Figura 10 Tasa de mortalidad atribuida a piscirickettsiosis durante los brotes identificados de esta (grupo a la izquierda) y durante el ciclo de producción completo (grupo a la derecha), por especie

En la trucha arcoíris, una gran proporción (~62%) de toda la mortalidad atribuida a la piscirickettsiosis ocurrió en períodos de brotes definidos. La proporción fue menor en el salmón del Atlántico (~37%). En el

salmón Coho, solo un pequeño porcentaje de mortalidad atribuida a piscirickettsiosis ocurrió durante períodos que satisfacen nuestra definición de un brote (Figura 4).

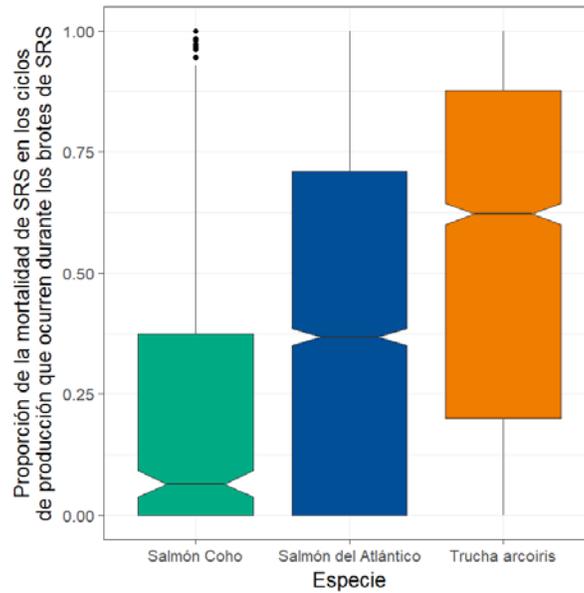


Figura 4 Proporción de mortalidad total atribuida a piscirickettsiosis que ocurre dentro de períodos de brotes de piscirickettsiosis definidos, por especie

La proporción del ciclo de producción completo durante el que la jaula se clasifica como que está dentro de un periodo de brote es una función de la frecuencia de brotes y su duración. La proporción media fue mayor en la trucha arcoíris, seguida por el salmón del Atlántico y el salmón Coho (Figura 5).

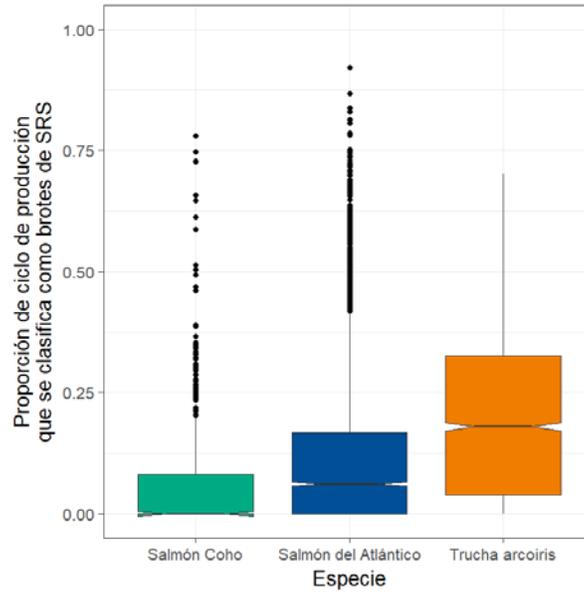


Figura 5 Proporción del ciclo de producción que fue clasificada como descendiente dentro de los brotes de piscirickettsiosis, por especie

El promedio de tiempo de recurrencia entre brotes (tiempo entre el final de un brote y el comienzo del siguiente) dentro del mismo ciclo de producción fue de 586 (95% intervalo de confianza (CI): 376-797), 770 (95% CI: 733-807), y 486 (95% CI: 437-534) unidades térmicas acumuladas para el salmón Coho, el salmón del Atlántico y la trucha arcoiris, respectivamente. El tiempo hasta la recurrencia fue significativamente más corto para la trucha arcoiris que para el salmón Atlántico (prueba U de Mann-Whitney con ajuste de Bonferroni para comparaciones múltiples, $p < 0,01$). El tiempo hasta la recurrencia no fue significativamente diferente entre ninguna de las dos especies y el salmón Coho (prueba U de Mann-Whitney con ajuste de Bonferroni para comparaciones múltiples, $p = 0,4$ y $1,0$, respectivamente). La Figura 6 muestra la gran variabilidad del tiempo hasta la recurrencia, con un rango intercuartil de 868, 678 y 445 unidades térmicas acumuladas para el salmón Coho, el salmón del Atlántico y la trucha arcoiris, respectivamente.

En el salmón del Atlántico, el tiempo hasta la recurrencia tendió a ser más breve con cada brote sucesivo y hubo una diferencia significativa entre los rangos de brotes (prueba de suma de rangos Kruskal-Wallis, $p < 0,01$). Para la trucha arcoiris, el tiempo hasta la recurrencia fue similar hasta el tercer brote, después del cual el intervalo fue levemente más extenso. Sin embargo, no hubo diferencias significativas entre los rangos de

brotos para esta especie (prueba de suma de rangos Kruskal-Wallis, $p = 0.12$). No se detectaron más de dos brotes por ciclo de producción en el salmón Coho.

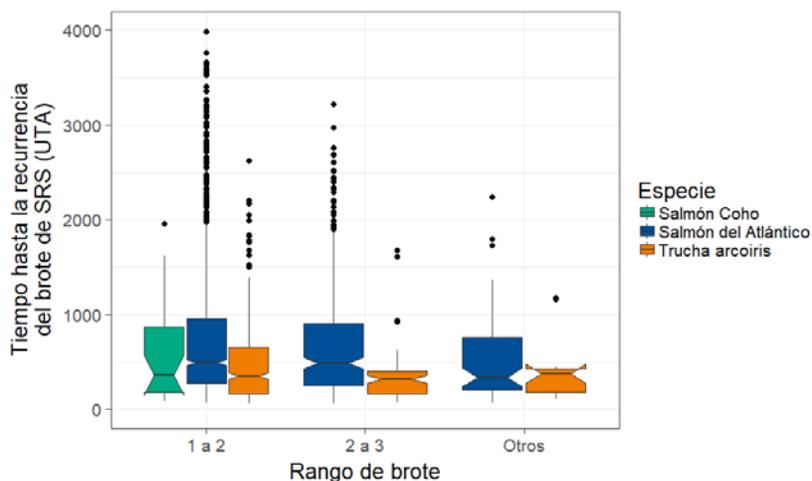


Figura 6 Tiempo (en unidades térmicas acumuladas) hasta la recurrencia de un brote de piscirickettsiosis en la misma jaula, por especie y número de brote

La duración de los brotes de piscirickettsiosis varió considerablemente y los datos estuvieron positivamente asimétricos. En todas las especies, los brotes de piscirickettsiosis tendieron a ser más extensos en jaulas que recibieron tratamiento antimicrobiano que en jaulas que no recibieron ningún tratamiento (Figura 7 panel superior). La mediana de duración de brotes sin tratamiento en el salmón del Atlántico (220 unidades térmicas acumuladas) y en el salmón Coho (208 unidades térmicas acumuladas) fue sustancialmente más breve que los brotes con tratamiento en aquellas especies (544 y 493 unidades térmicas acumuladas, respectivamente). Los brotes no tratados también fueron más cortos que los brotes tratados en la trucha arco iris, pero la diferencia fue menor que para otras especies (524 y 745 días-grado, respectivamente). Además, en la trucha arcoiris, la duración media de los brotes tratados y los brotes no tratados fue mucho mayor que en las otras especies.

La duración promedio de los brotes también se puede expresar en días naturales. Las siguientes cifras no son directamente proporcionales a las duraciones equivalentes expresadas en unidades térmicas acumuladas, ya que las variaciones de la temperatura del mar no son idénticas para todos los brotes. La mediana y el rango intercuartílico de la duración de los brotes no tratados fueron 20 (IQR: 10-31), 18 (IQR: 12-29) y 46 (IQR: 23-92) días naturales en salmón del Atlántico, salmón Coho y trucha arcoiris, respectivamente. La mediana y el rango intercuartílico de la duración de los brotes no tratados fueron 46 (IQR: 31-74), 41 (IQR: 23-60) y 64 (35-101) días naturales en salmón del Atlántico, salmón Coho y trucha arco iris, respectivamente. La mayor duración de los brotes tratados frente a los no tratados. Este puede ser un ejemplo de "causalidad inversa", queriendo decir que la mortalidad elevada por un período más extenso de tiempo puede, en sí misma, ser una causa para que se administre tratamiento antimicrobiano. Dada la definición de un brote, no es inesperado que algunos brotes tengan una duración muy breve.

La intensidad de los brotes se muestra en la Figura 13 (panel inferior) como la tasa de mortalidad por piscirickettsiosis durante los brotes tratados y no tratados. En el salmón Coho, la tasa de mortalidad fue significativamente mayor en los brotes tratados que en los brotes no tratados (tasas promedio de 129 y 72 muertes por 100.000 semanas de peces, respectivamente, prueba U de Mann-Whitney, $p < 0,01$). Este fue también el caso del salmón del Atlántico, con tasas medias de 170 y 90 muertes por 100.000 semanas-peces, respectivamente (prueba U de Mann-Whitney, $p < 0,01$). Sin embargo, los brotes de trucha arcoiris mostraron un patrón diferente, con mayores tasas de mortalidad en brotes no tratados que tratados (tasas medias de 432 y 336 muertes por 100.000 semanas de peces, respectivamente, prueba U de Mann-Whitney, $p = 0,04$). En

general, los brotes fueron más largos y más severos que los brotes no tratados en Coho y salmón del Atlántico, mientras que fueron más largos pero más suaves en la trucha arcoiris. En cuanto al parámetro de duración del brote, es difícil interpretar la interacción entre el tratamiento y la intensidad del brote. La causalidad inversa también podría desempeñar un papel, ya que un brote más grave tiene más probabilidades de recibir tratamiento.

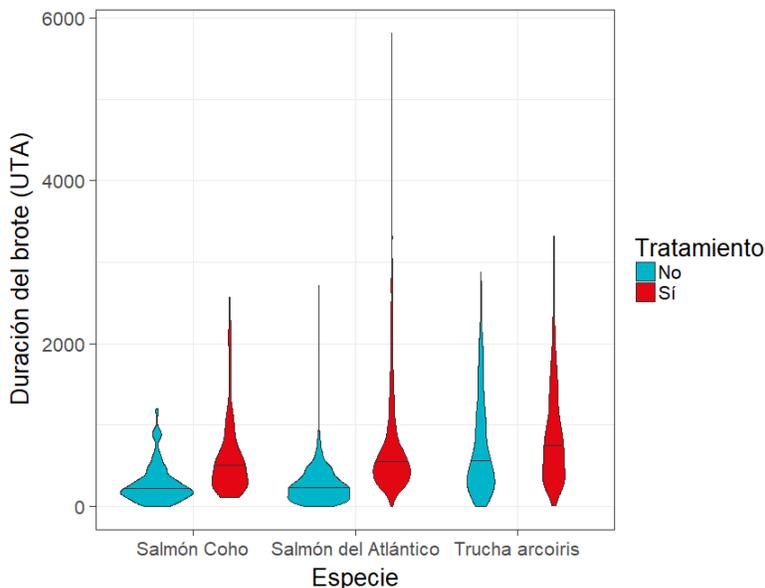


Figura 7 Características (unidades térmicas acumuladas) de brotes de piscirickettsiosis sin tratamiento y con tratamiento, por especie: duración (unidades térmicas acumuladas, panel superior) y tasa de mortalidad durante el brote (panel inferior). El plano inferior se truncó a 1500 muertes por 100 000 semanas de peces; la mortalidad sobre este nivel se registró para 150 brotes.

4.4 Uso de antimicrobianos

4.4.1 Características generales del uso de antimicrobianos

En esta sección, se consideraron todos los tratamientos antimicrobianos administrados durante el curso del ciclo de producción. Se identificó un total de 19 809 cursos de tratamiento antimicrobiano en los 8 318 ciclos de producción. El tratamiento antimicrobiano se utilizó en la mayoría de los ciclos de producción en todas las especies (Figura 8).

Para el salmón del Atlántico, el 95% de los ciclos de producción involucró al menos un curso tratamiento antimicrobiano, comparado con el 67% de los ciclos de producción de la trucha arcoiris y el 56% de los ciclos de producción del salmón Coho. Esta diferencia puede reflejar la duración más extensa del ciclo de producción del salmón del Atlántico. Ocurrió una variación sustancial en la proporción de ciclos de producción que usan tratamiento antimicrobiano a lo largo de los años para cada especie, sin tendencias consistentes a lo largo del tiempo. Esto se puede atribuir a diferentes impactos de enfermedades infecciosas, diferentes prácticas de tratamiento en el tiempo o a una combinación de ambos.

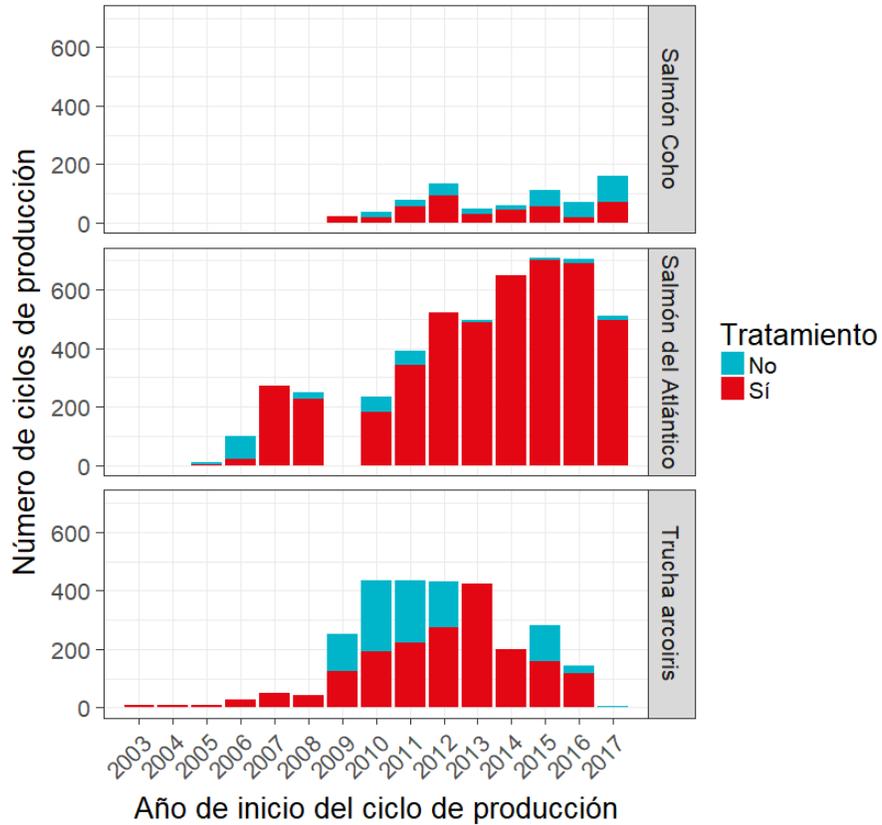


Figura 8 Cantidad de ciclos de producción en los que se usaron tratamientos antimicrobianos, por especie y por año

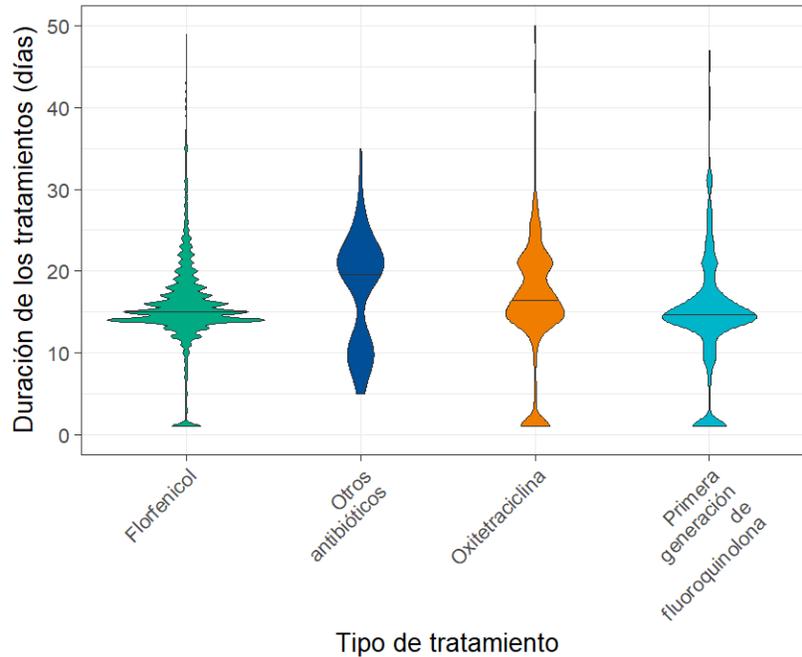
Los tratamientos de florfenicol u oxitetraciclina oral constituyeron el 88% de todos los cursos de tratamiento antimicrobiano en todas las especies. Esto varió desde el 92% de cursos de tratamiento antimicrobiano en el salmón del Atlántico a 91% en el salmón Coho y 73% en la trucha arcoiris. Otros tipos de tratamiento antibiótico incluyeron oxitetraciclina inyectable (7% de todos los tratamientos), fluoroquinolonas orales de primera generación (3%), florfenicol inyectable (1%) y algunos otros tratamientos con otros antibióticos como la eritromicina (menos del 1%). Las distribuciones de cursos de tratamiento antimicrobiano por método de tratamiento y tipo de antimicrobiano se presentan en Tabla 3.

Tabla 3 Cantidad y porcentaje de cursos de tratamiento antimicrobiano administrados durante ciclos de producción, por especie

Método de tratamiento	Antimicrobiano	Todas las especies	Salmón del Atlántico	Salmón Coho	Trucha arcoiris
En alimento	Oxitetraciclina	3 356 (17%)	2 412 (16%)	153 (20%)	791 (19%)
	Florfenicol	14 084 (71%)	11 261 (76%)	546 (71%)	2 277 (54%)
	Fluoroquinolonas de primera generación	612 (3%)	489 (3%)	0 (0%)	123 (3%)
	Otros antimicrobianos	76 (<1%)	68 (<1%)	2 (<1%)	6 (<1%)
Inyección	Oxitetraciclina	1 446 (7%)	582 (4%)	71 (9%)	793 (19%)
	Florfenicol	234 (1%)	31 (<1%)	0 (0%)	203 (5%)
	Fluoroquinolonas de primera generación	1 (<1%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (<1%)
	Otros antimicrobianos	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Todos los tratamientos		19 809	14 843	772	4 194

Las medianas de duración de los cursos de tratamiento antimicrobiano a lo largo de los tipos de tratamiento oral fueron de entre 15 a 20 días (Notas: Los gráficos de violín presentan la mediana de duración del tratamiento (línea horizontal) y la densidad relativa de las duraciones del tratamiento en cada nivel, entre las duraciones mínimas y máximas (representadas por los anchos gráficos proporcionalmente variables). La duración puede incluir días en los que el curso de tratamiento se interrumpió, si esta interrupción fue < 7 días. Estos gráficos se truncaron a 50 días de duración; la duración del curso de tratamiento de florfenicol oral se registró como >50 días para 17 cursos.

Figura 9). El curso de tratamiento antimicrobiano oral registrado más breve fue de un día, y el más largo fue de 100 días. Estas duraciones del curso de tratamiento antimicrobiano inferidas pueden incluir días en los que el curso del tratamiento se interrumpió, si la interrupción llegó a un total < 7 días.

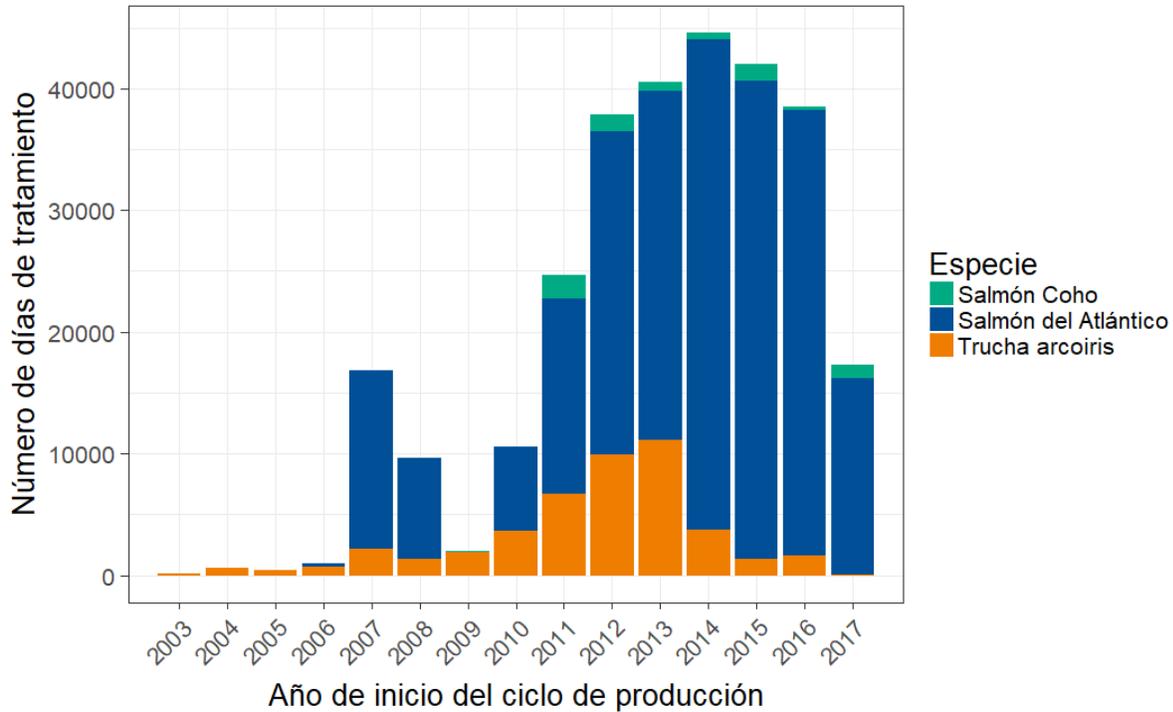


Notas: Los gráficos de violín presentan la mediana de duración del tratamiento (línea horizontal) y la densidad relativa de las duraciones del tratamiento en cada nivel, entre las duraciones mínimas y máximas (representadas por los anchos gráficos proporcionalmente variables). La duración puede incluir días en los que el curso de tratamiento se interrumpió, si esta interrupción fue < 7 días. Estos gráficos se truncaron a 50 días de duración; la duración del curso de tratamiento de florfenicol oral se registró como >50 días para 17 cursos.

Figura 9 Duración de cursos de tratamiento antimicrobiano oral, por tipo de tratamiento

La cantidad total de días de tratamiento antimicrobiano oral administrado nivel de jaulas en el Nota: Cada jaula tratada por 1 día aporta con 1 unidad al total.

Figura 10. La mayoría de los tratamientos antimicrobianos orales, considerando la frecuencia del tratamiento, la cantidad de jaulas tratadas y la duración del curso, se realizaron en la producción de salmón del Atlántico



Nota: Cada jaula tratada por 1 día aporta con 1 unidad al total.

Figura 10 Cantidad de días en los que se administró un tratamiento antimicrobiano oral, por especie y por año

4.4.2 Tratamientos asociados con brotes de piscirickettsiosis

Esta sección aborda los cursos de tratamiento antimicrobiano asociados con los brotes de piscirickettsiosis definidos; los cursos de tratamiento antimicrobiano que no coinciden con brotes de piscirickettsiosis se excluyeron y, para cada brote de piscirickettsiosis, solo se consideró el primer tratamiento (consulte los detalles de la selección de datos en la Sección 0).

De los 7 570 brotes detectados, 2 982 (39%) no recibieron tratamiento antimicrobiano durante el período del brote; puede que estos brotes se hayan resuelto sin tratamiento antimicrobiano o que los peces se hayan cosechado antes de la resolución. De los 4 588 brotes tratados, 3 459 (75%) recibieron un solo tratamiento antimicrobiano durante el período del brote, 813 (18%) recibieron dos tratamientos y 316 (7%) recibieron tres o más tratamientos.

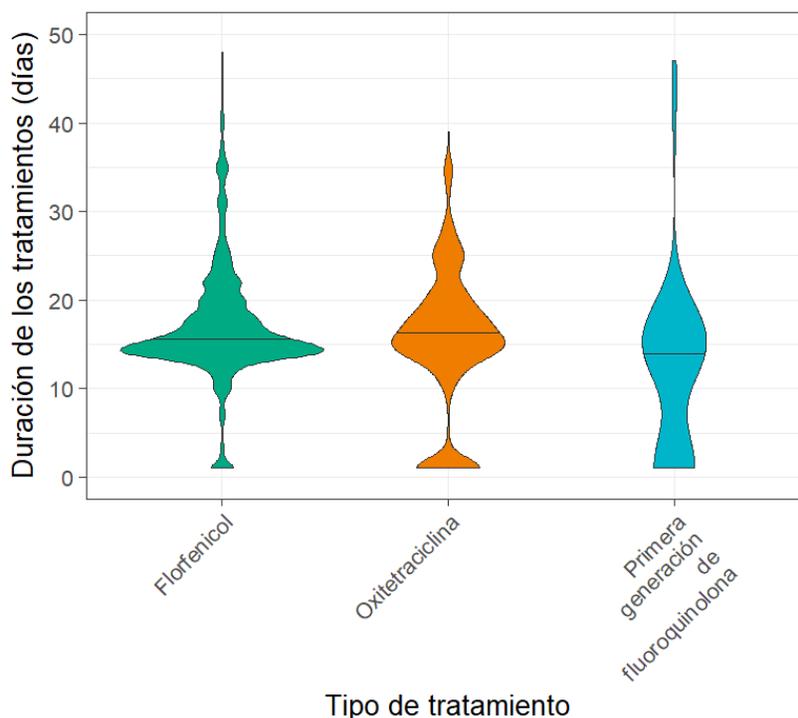
El primer tratamiento antimicrobiano más comúnmente utilizado durante brotes de piscirickettsiosis fue el florfenicol oral, en todas las especies (83% de todos los brotes) (Tabla 4). Otros antibióticos orales usados durante brotes de piscirickettsiosis fueron la oxitetraciclina y las fluoroquinolonas de primera generación. Los antibióticos inyectables (florfenicol y oxitetraciclina) se usaron en 7% de los brotes de SRS.

Tabla 4 Antimicrobiano y método de administración para el primer curso de tratamiento antimicrobiano administrado durante brotes de piscirickettsiosis, por especie

Método de tratamiento	Antimicrobiano	Todas las especies	Salmón del Atlántico	Salmón Coho	Trucha arcoíris
En alimento	Oxitetraciclina	423 (9%)	297 (9%)	3 (2%)	123 (10%)
	Florfenicol	3 798 (83%)	2 878 (89%)	137 (98%)	783 (65%)
	Fluoroquinolonas de primera generación	45 (1%)	17 (<1%)	0 (0%)	28 (2%)
Inyección	Oxitetraciclina	187 (4%)	47 (1%)	0 (0%)	140 (12%)
	Florfenicol	135 (3%)	5 (<1%)	0 (0%)	130 (11%)
	Fluoroquinolonas de primera generación	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Todos los tratamientos		4 588	3 244	140	1 204

Las medianas de duración de los cursos de tratamiento a lo largo de los tipos de tratamiento antimicrobianos orales fueron de entre 14 y 16 días (Notas: Los gráficos de violín presentan la mediana de duración del tratamiento (línea horizontal) y la densidad relativa de las duraciones del tratamiento en cada nivel, entre las duraciones mínimas y máximas (representadas por el ancho gráfico proporcionalmente variable). La duración puede incluir días en los que el curso de tratamiento se interrumpió, si esta interrupción fue < 7 días.

Figura 11). La duración registrada más breve de tratamiento antimicrobiano oral fue de 1 día, y la más larga fue de 53 días. Estas duraciones del curso de tratamiento antimicrobiano inferidas pueden incluir días en los que el curso del tratamiento se interrumpió, si la interrupción llegó a un total < 7 días.

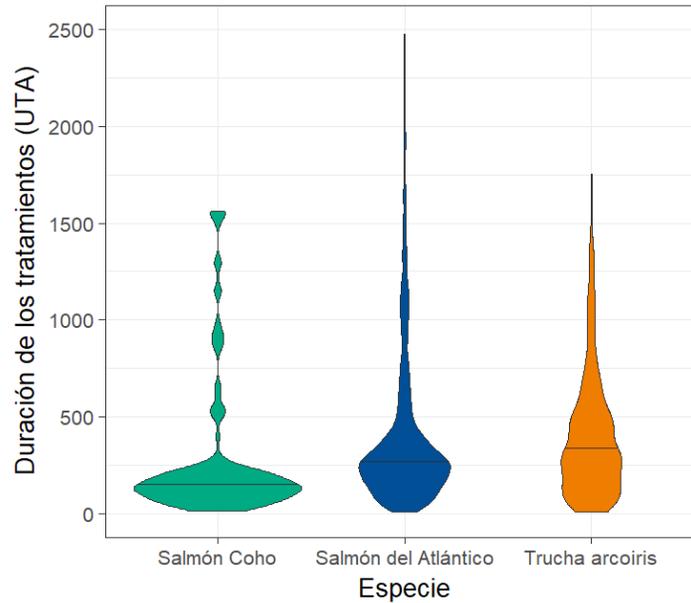


Notas: Los gráficos de violín presentan la mediana de duración del tratamiento (línea horizontal) y la densidad relativa de las duraciones del tratamiento en cada nivel, entre las duraciones mínimas y máximas (representadas por el ancho gráfico proporcionalmente variable). La duración puede incluir días en los que el curso de tratamiento se interrumpió, si esta interrupción fue < 7 días.

Figura 11 Duración de cursos de tratamiento antimicrobiano orales, para el primer tratamiento administrado durante un brote de piscirickettsiosis, por tipo de tratamiento.

El retraso entre el comienzo de un brote de piscirickettsiosis y el comienzo del primer curso de tratamiento antimicrobiano fue variable dentro y entre las especies (Nota: los gráficos de violín presentan el tiempo medio de retraso (línea horizontal) y la densidad relativa de los tiempos de retardo en cada nivel entre los tiempos de retardo mínimo y máximo (representados por el ancho de la gráfica proporcionalmente variable). (Nota: Los gráficos de violín presentan la mediana del retraso de tiempo (línea horizontal) y la densidad relativa de los tiempos de retraso en cada nivel entre los tiempos de retraso mínimos y máximos (representados por los anchos gráficos proporcionalmente variables).

Figura 12). Entre las especies, la mediana de los tiempos de retraso fue 144 unidades térmicas acumuladas para el salmón Coho, 268 unidades térmicas acumuladas para la salmón del Atlántico y 315 unidades térmicas acumuladas para la trucha arcoíris.

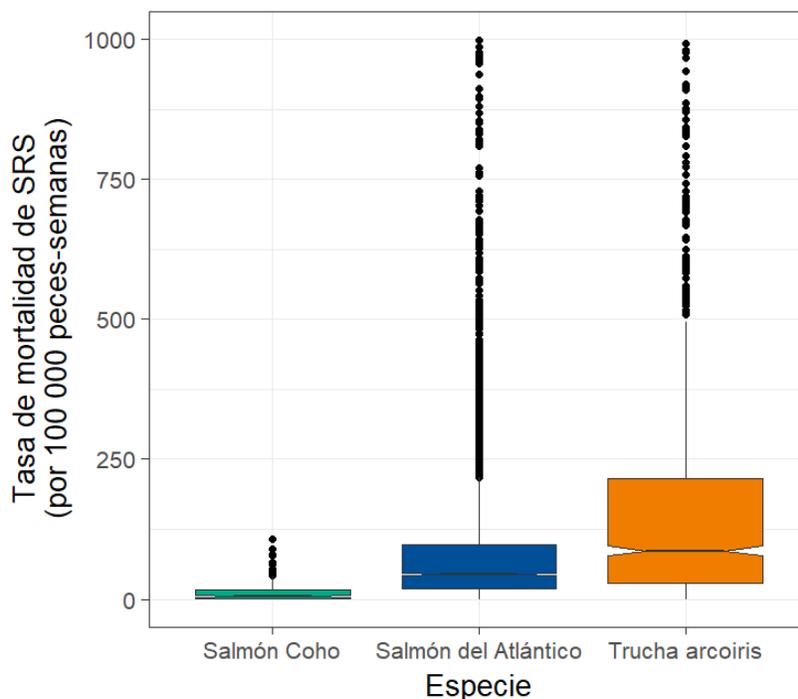


Nota: Los gráficos de violín presentan la mediana del retraso de tiempo (línea horizontal) y la densidad relativa de los tiempos de retraso en cada nivel entre los tiempos de retraso mínimos y máximos (representados por los anchos gráficos proporcionalmente variables).

Figura 12 Cantidad de unidades térmicas acumuladas entre el comienzo del brote y el comienzo del primer curso de tratamiento antimicrobiano, por especie

La tasa de mortalidad atribuida a la piscirickettsiosis durante los 21 días antes del inicio del primer curso de tratamiento antimicrobiano varió significativamente entre especies (Notas: Los gráficos se centran en las medianas de valores, con los cortes en V alrededor de las medianas mostrando un intervalo de confianza (CI) de 95% alrededor de la mediana. Las cajas representan el rango intercuartil y los bigotes presentan valores que no son más de 1,5 veces el rango intercuartil de la caja; los valores más allá de esto se gráfica como valores anormales. Las marcas en V alrededor de las medianas (CI 95%) no se superponen, indicando que las medianas difieren entre especies.

Figura 13). El salmón Coho tendió a tener tasas de mortalidad atribuidas a la piscirickettsiosis relativamente bajas antes del primer curso de tratamiento antimicrobiano, mientras que la trucha arcoíris tendió a tener tasas relativamente altas.



Notas: Los gráficos se centran en las medianas de valores, con los cortes en V alrededor de las medianas mostrando un intervalo de confianza (CI) de 95% alrededor de la mediana. Las cajas representan el rango intercuartil y los bigotes presentan valores que no son más de 1,5 veces el rango intercuartil de la caja; los valores más allá de esto se gráfica como valores anormales. Las marcas en V alrededor de las medianas (CI 95%) no se superponen, indicando que las medianas difieren entre especies.

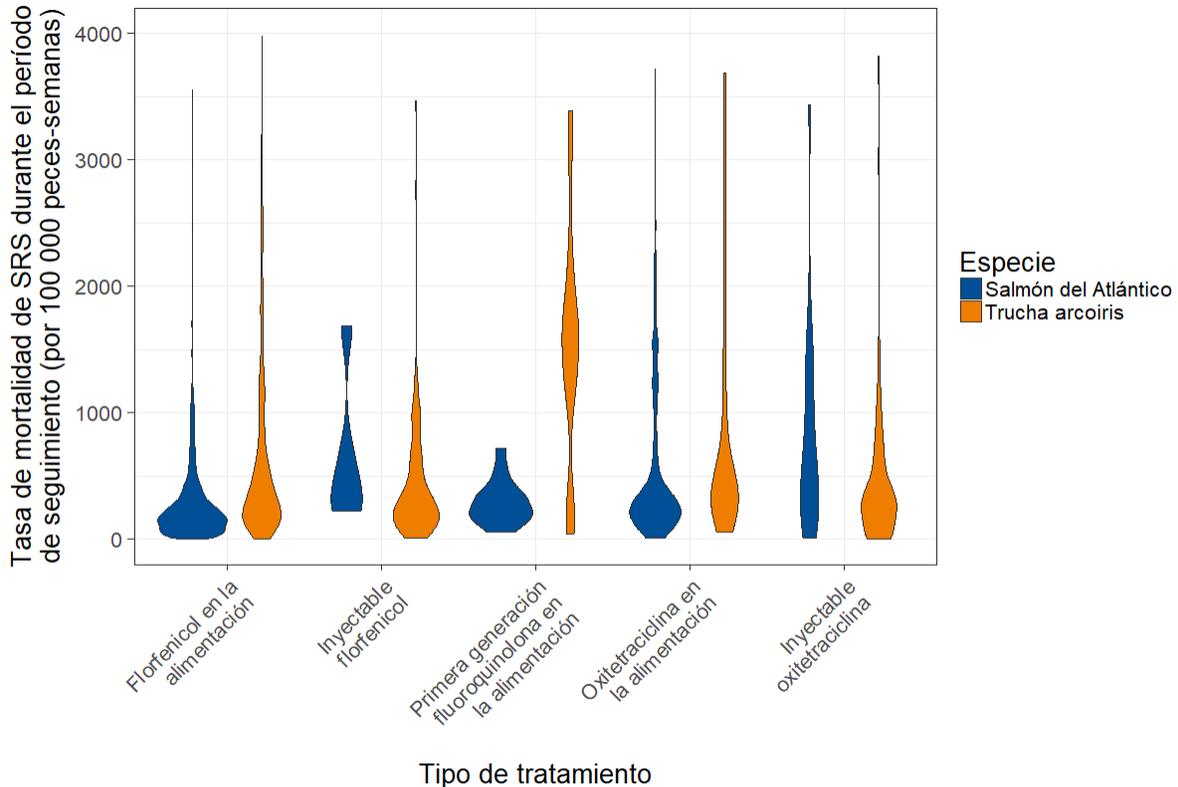
Figura 13 Tasa de mortalidad atribuida a la piscirickettsiosis durante los 21 días antes del comienzo del primer tratamiento antimicrobiano, por especies.

Para la mayoría de los tipos de tratamiento, la mediana de la tasa mortalidad atribuida a la piscirickettsiosis y a causas desconocidas durante el período de seguimiento fue menor a 600 por cada 100 000 peces-semanas, pero las distribuciones son altamente asimétricas, con una cantidad menor de tratamientos con tasas de mortalidad de seguimiento muy altas (Notas: El eje vertical está truncado en las 4 000 muertes por cada 100 000 peces-semanas, para mejorar la legibilidad de esta figura; consecuentemente, los valores anormales por sobre este valor ($n= 66$) no se representan. Las observaciones del salmón Coho no se muestran debido al pequeño número de observaciones por tipo de tratamiento para esta especie (consulte Tabla 4).

Figura 14). Las colas de las distribuciones tienden a ser más largas para la trucha arcoíris.

Para el salmón del Atlántico, el análisis única variable mostró que la tasa de mortalidad atribuida a la piscirickettsiosis y a causas desconocidas durante el período de seguimiento fue menor en jaulas tratadas con florfenicol en el alimento (mediana 193, IQR 101-345) que con oxitetraciclina en el alimento (mediana 281, IQR 173-606) o con las fluoroquinolonas de primera generación en el alimento (mediana 267, IQR 172-363).

Para la trucha arco iris, el análisis univariable mostró que la tasa de mortalidad atribuida a piscirickettsiosis y de causa desconocida durante el período de seguimiento fue mayor en las jaulas tratadas con florfenicol en la alimentación (promedio 354, IQR 172-878) que con florfenicol inyectable (promedio 282, IQR 156-557). Se observó una situación similar para la oxitetraciclina, donde la tasa de mortalidad fue mayor para las jaulas tratadas en alimento (mediana 432, IQR 281-1494) que para las jaulas tratadas por inyección (promedio 336, IQR 175-757).



Notas: El eje vertical está truncado en las 4 000 muertes por cada 100 000 peces-semanas, para mejorar la legibilidad de esta figura; consecuentemente, los valores anormales por sobre este valor ($n= 66$) no se representan. Las observaciones del salmón Coho no se muestran debido al pequeño número de observaciones por tipo de tratamiento para esta especie (consulte Tabla 4).

Figura 14 Mortalidad atribuida a la piscirickettsiosis y a causas desconocidas durante el período de seguimiento del tratamiento, por especie y tipo de tratamiento

4.5 Factores de manejo y ambientales

Esta sección describe algunas de las variables clave de manejo y ambientales relevantes para la hipótesis examinada. Los análisis se basan en el conjunto de datos 2; los mismos datos usados para el trabajo de modelamiento presentado en la sección 4.6. Dada la baja cantidad de brotes de piscirickettsiosis relacionados con el salmón Coho ($n=140$), los resultados en esta sección se presentan solo para el salmón del Atlántico y para la trucha arcoíris. La tasa de mortalidad atribuida a la piscirickettsiosis presentada en el eje vertical en Nota: El eje vertical está truncado a 2000 muertes por cada 100 000 peces-semana para mejorar la legibilidad de esta figura: consecuentemente, los valores anormales por sobre este valor ($n=181$) no se representan.

Figura 15-Nota: El eje vertical está truncado a 5 000 muertes por cada 100 000 peces-semana para mejorar la legibilidad de esta figura: consecuentemente, los valores anormales por sobre este valor ($n=36$) no se representan.

Figura 19 incluye la mortalidad debido a causas desconocidas, consistente con la definición de nuestra medición del resultado primario en este estudio (consulte la sección 0).

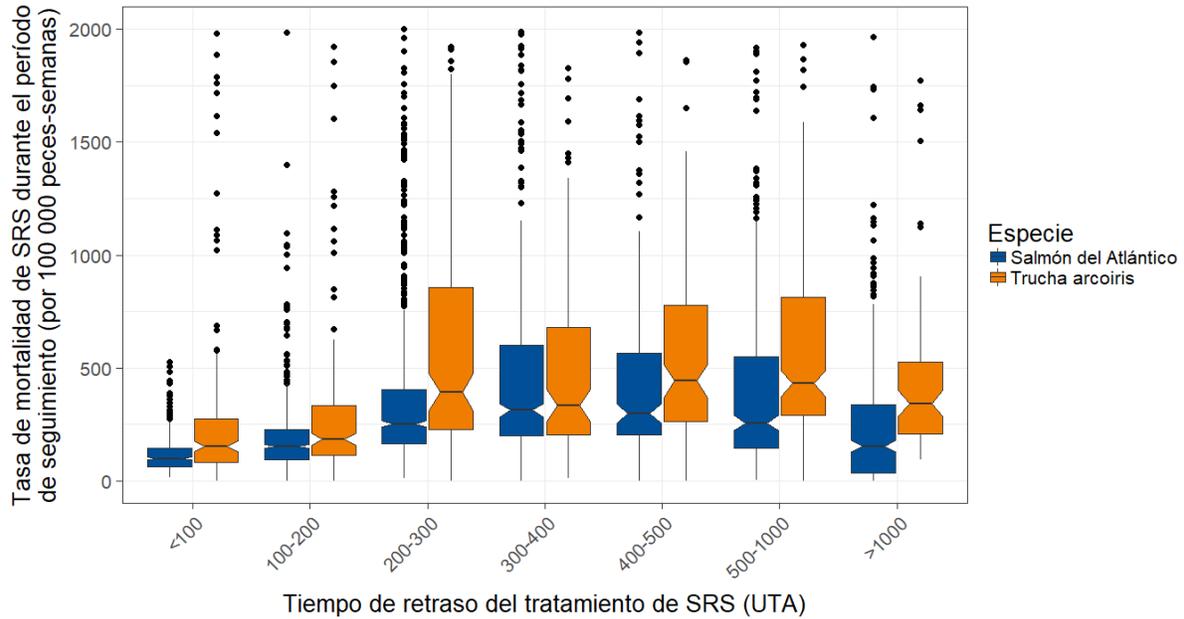
Los retrasos en el inicio del tratamiento antimicrobiano después del comienzo de un brote de piscirickettsiosis parecen estar asociados con una mayor tasa de mortalidad durante el período de seguimiento posterior al tratamiento (Nota: El eje vertical está truncado a 2000 muertes por cada 100 000 peces-semana para mejorar la legibilidad de esta figura: consecuentemente, los valores anormales por sobre este valor ($n=181$) no se representan.

Figura 15) cuando los brotes fueron tratados a 500 unidades térmicas acumuladas o menos después de que comenzaron (76% de los brotes). En dichos brotes hubo una correlación positiva moderada entre la tasa de mortalidad durante el período de seguimiento y el tiempo hasta el tratamiento, que fue estadísticamente significativa en ambas especies (coeficiente de correlación de Spearman: 0,38 y 0,48 en trucha arcoiris y salmón del Atlántico, respectivamente), $p < 0.01$.

Sin embargo, la relación entre el tiempo de tratamiento y la tasa de mortalidad durante el período de seguimiento no fue monótona. En los brotes tratados 500 unidades térmicas acumuladas o más después de que comenzaron, hubo una correlación débil o negativa entre estas variables (coeficiente de correlación de Spearman: -0.14 y -0.28 en la trucha arcoiris y el salmón del Atlántico, respectivamente, $p < 0.01$). Es menos directo interpretar esta tendencia negativa, y las posibles explicaciones incluyen:

- Los veterinarios pueden suspender el tratamiento por un período más largo si el brote es leve (es decir, con una tasa de mortalidad más baja), mientras que estarán más inclinados a tratar temprano cuando el brote sea más agresivo. Este sería otro caso de causalidad inversa, como se discutió previamente.
- Es posible que los brotes tratados posteriormente ya estén en una fase de eliminación natural en el momento del tratamiento y, por lo tanto, tengan una tasa de mortalidad más baja durante el período de seguimiento en comparación con los brotes que aún estaban activos en el momento del tratamiento.

En resumen, la asociación unimodal observada aquí es un compuesto de dos tendencias. En los brotes tratados en una etapa temprana (antes de la 500^{ma} unidad térmica acumulada), la correlación es positiva y los brotes tratados anteriormente tienen una tasa de mortalidad más baja en el período de seguimiento. Es probable que esto esté relacionado con la mortalidad atribuida al piscirickettsiosis en el momento del tratamiento, que se analiza en el siguiente párrafo. En los brotes tratados en etapas posteriores, la correlación se vuelve negativa y se observan tasas de mortalidad más bajas durante el período de seguimiento, ya sea porque los brotes fueron más leves o porque ya se encontraban en la fase de desvanecimiento.



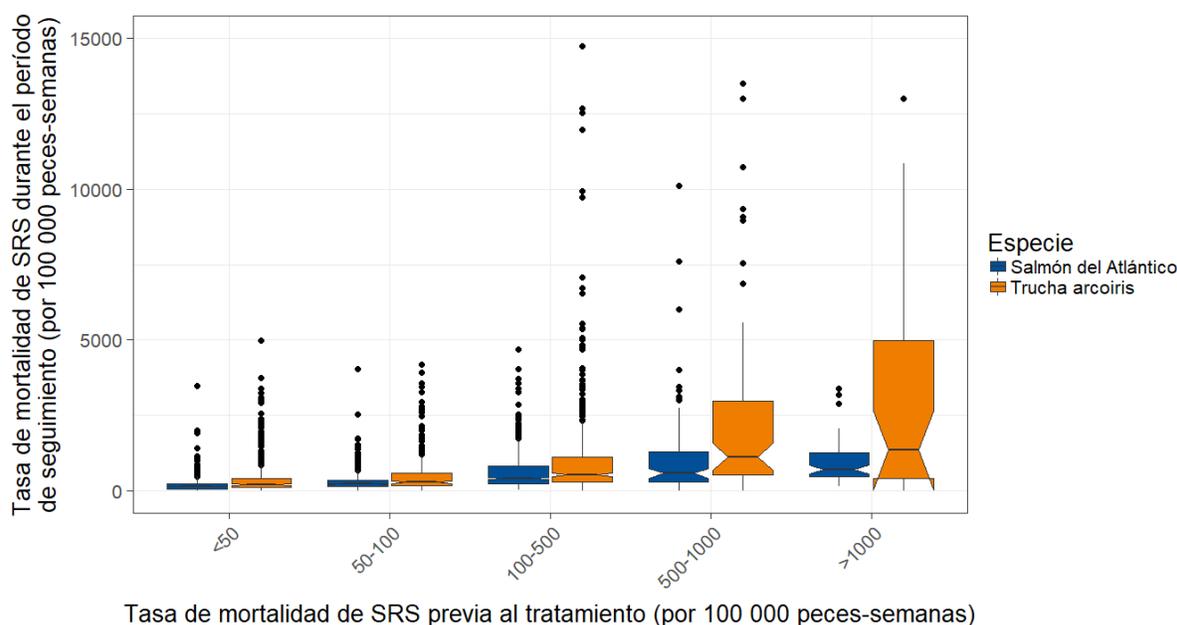
Nota: El eje vertical está truncado a 2000 muertes por cada 100 000 peces-semana para mejorar la legibilidad de esta figura: consecuentemente, los valores anormales por sobre este valor ($n=181$) no se representan.

Figura 15 Tiempo transcurrido (unidades térmicas acumuladas desde el comienzo del brote de piscirickettsiosis al día 1 del tratamiento) y tasa de mortalidad atribuida a piscirickettsiosis durante el período de seguimiento (día 1 del tratamiento a la resolución del brote de piscirickettsiosis)

Los niveles en aumento de mortalidad atribuida a piscirickettsiosis durante los 21 días antes del comienzo del tratamiento parecen estar asociados con una mayor mortalidad atribuida a piscirickettsiosis durante el período de seguimiento posterior al tratamiento (Nota: El eje vertical está truncado a 15 000 muertes por cada 100 000 peces-semana para mejorar la legibilidad de esta figura: consecuentemente, los valores anormales por sobre este valor ($n=11$) no se representan).

Figura 16). Hubo una correlación moderada y positiva entre la tasa de mortalidad durante el período de seguimiento y la mortalidad atribuida a piscirickettsiosis durante los 21 días previos al inicio del tratamiento, que fue estadísticamente significativa en ambas especies (coeficiente de correlación de Spearman: 0.47 y 0.52 en la trucha arcoiris y salmón del Atlántico, respectivamente, $p < 0.01$). Si nos fijamos en la escala del eje y en Nota: El eje vertical está truncado a 15 000 muertes por cada 100 000 peces-semana para mejorar la legibilidad de esta figura: consecuentemente, los valores anormales por sobre este valor ($n=11$) no se representan.

Figura 16, los aumentos relativamente pequeños en el nivel de mortalidad anterior al tratamiento parecen estar asociados con grandes aumentos en la tasa de mortalidad durante el periodo de seguimiento. Esto es particularmente evidente si la mortalidad previa al tratamiento es mayor a 100 por cada 100 000 peces-semanas.

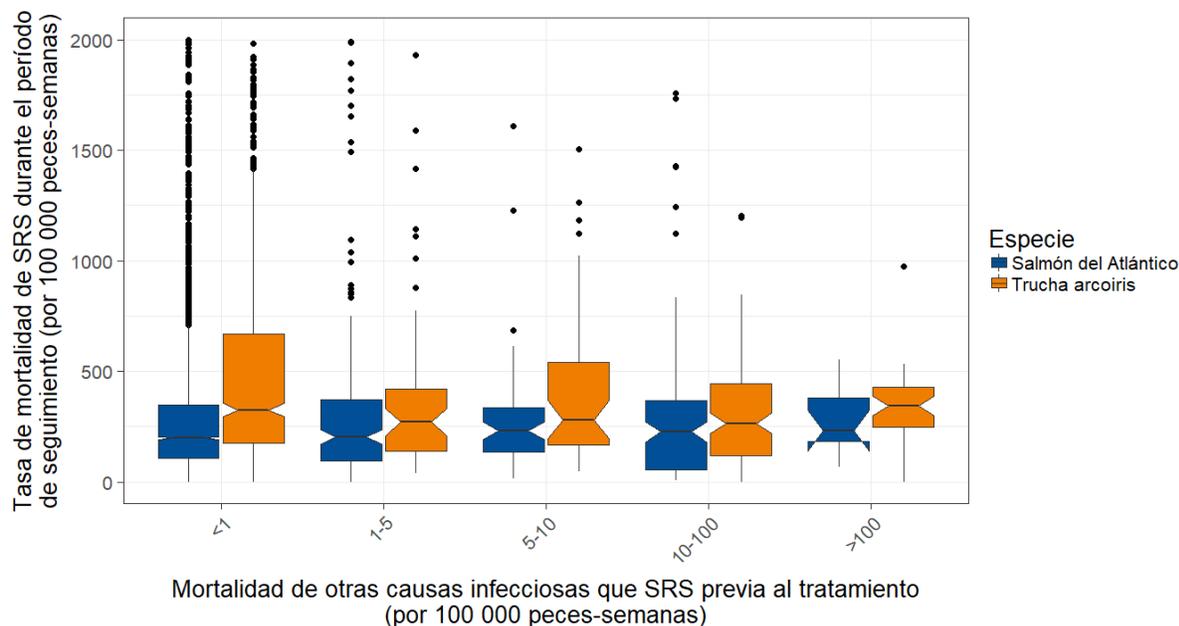


Nota: El eje vertical está truncado a 15 000 muertes por cada 100 000 peces-semana para mejorar la legibilidad de esta figura: consecuentemente, los valores anormales por sobre este valor ($n=11$) no se representan.

Figura 16 Tasa de mortalidad atribuida a piscirickettsiosis durante el período de 21 días antes del tratamiento y el período de seguimiento posterior a este.

El nivel de mortalidad atribuido a otras causas infecciosas en el período de 21 días antes del tratamiento no parece estar asociada con la mortalidad atribuida a la piscirickettsiosis durante el período de seguimiento (Nota: El eje vertical está truncado a 2000 muertes por cada 100 000 peces-semana para mejorar la legibilidad de esta figura: consecuentemente, los valores anormales por sobre este valor ($n=181$) no se representan).

Figura 17). Hubo una correlación negativa muy débil entre la tasa de mortalidad durante el período de seguimiento y la mortalidad por otras enfermedades infecciosas durante los 21 días previos al inicio del tratamiento, que fue estadísticamente significativa en ambas especies (coeficiente de correlación de Spearman: -0,16). ($p < 0.01$) y -0.04 ($p = 0.01$) en trucha arcoiris y salmón del Atlántico, respectivamente). Dicha asociación negativa podría ser falsa y debido a la clasificación errónea de las mortalidades en causas sospechosas. Cuando se produce más de una infección con signos generales no específicos en un sitio, es más difícil asignar mortalidad a la verdadera causa de muerte.

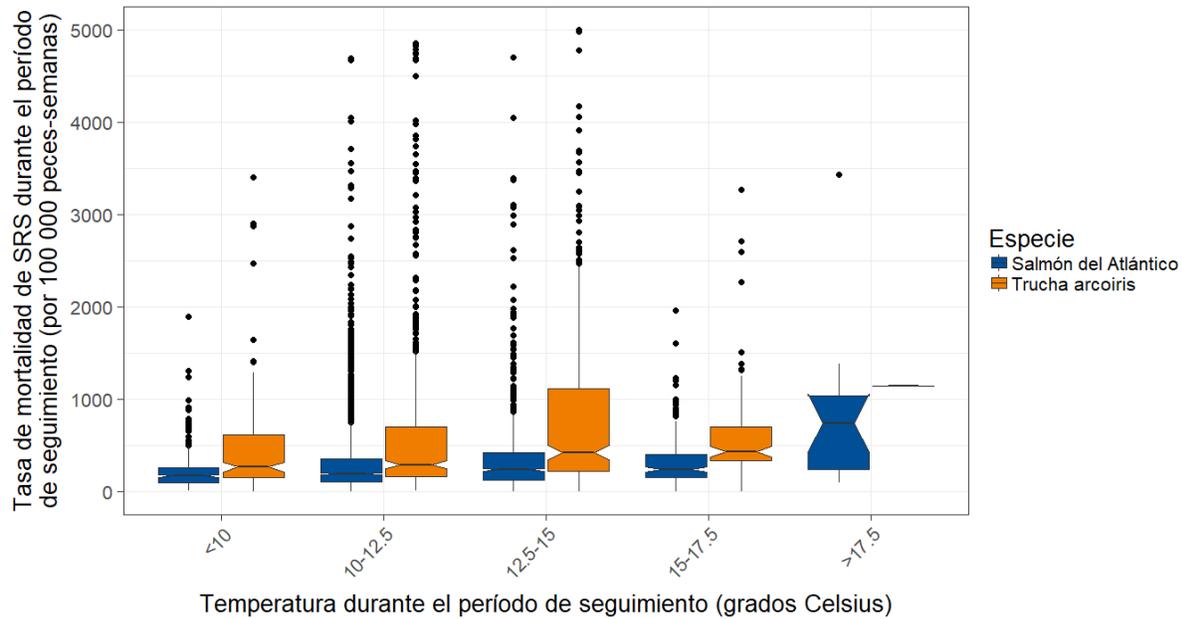


Nota: El eje vertical está truncado a 2000 muertes por cada 100 000 peces-semana para mejorar la legibilidad de esta figura: consecuentemente, los valores anormales por sobre este valor ($n=181$) no se representan.

Figura 17 Tasa de mortalidad atribuida a causas infecciosas diferentes a la piscirickettsiosis durante el período de 21 días anterior al tratamiento, y tasa de mortalidad atribuida a la piscirickettsiosis durante el período de seguimiento posterior al tratamiento

Una temperatura mayor del agua del mar parece estar asociada con una mayor mortalidad atribuida a la piscirickettsiosis en el período de seguimiento posterior al tratamiento (Nota: El eje vertical está truncado a 5 000 muertes por cada 100 000 peces-semana para mejorar la legibilidad de esta figura: consecuentemente, los valores anormales por sobre este valor ($n=46$) no se representan.

Figura 18). Esta tendencia es más evidente cuando la temperatura sube y llega a los 15 °C. Hubo una correlación positiva débil entre la tasa de mortalidad durante el período de seguimiento y la temperatura del mar durante el período de seguimiento, que fue estadísticamente significativa en ambas especies (coeficiente de correlación de Spearman: 0.16 y 0.26 en trucha arcoiris y salmón atlántico, respectivamente, $p < 0.01$). Hubo una correlación positiva similar entre la tasa de mortalidad durante el período de seguimiento y la temperatura promedio del mar durante los 21 días anteriores al tratamiento.

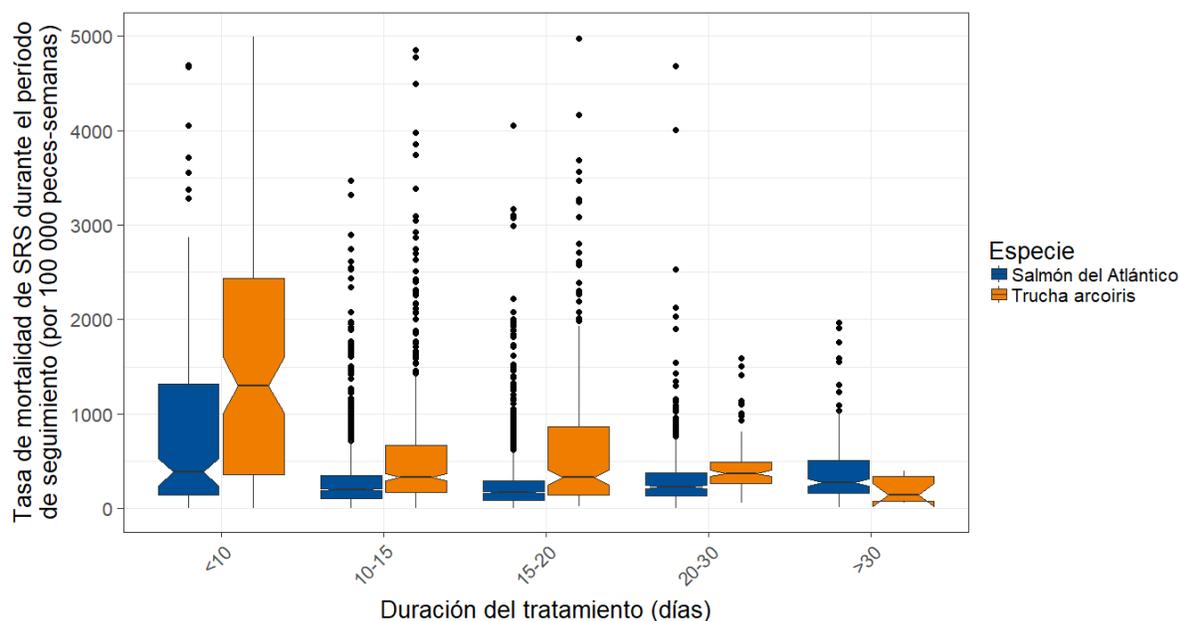


Nota: El eje vertical está truncado a 5 000 muertes por cada 100 000 peces-semana para mejorar la legibilidad de esta figura: consecuentemente, los valores anormales por sobre este valor ($n=46$) no se representan.

Figura 18 Temperatura del mar y mortalidad atribuida a la piscirickettsiosis y a causas desconocidas durante el período de seguimiento posterior al tratamiento

La provisión de tratamiento antimicrobiano en el alimento por períodos <10 días parece estar asociada con una tasa de mortalidad atribuida a la piscirickettsiosis sustancialmente más alta durante el período de seguimiento (Nota: El eje vertical está truncado a 5 000 muertes por cada 100 000 peces-semana para mejorar la legibilidad de esta figura: consecuentemente, los valores anormales por sobre este valor ($n=36$) no se representan.

Figura 19). Para duraciones de tratamiento más extensas a 10 días, no hay una tendencia evidente en la relación entre la duración del tratamiento y la tasa de mortalidad posterior a este. Hubo una correlación negativa muy débil entre la tasa de mortalidad durante el período de seguimiento y la duración del tratamiento para los cursos de tratamiento en la alimentación, que fue estadísticamente significativa en la trucha arcoiris (coeficiente de correlación de Spearman: $-0,03$ ($p = 0,10$) y $0,25$ ($p < 0,01$) en la trucha arcoiris y salmón del Atlántico, respectivamente).



Nota: El eje vertical está truncado a 5 000 muertes por cada 100 000 peces-semana para mejorar la legibilidad de esta figura: consecuentemente, los valores anormales por sobre este valor ($n=36$) no se representan.

Figura 19 Duración del tratamiento antimicrobiano en alimento y mortalidad atribuida a piscirickettsiosis a causas desconocidas durante el período de seguimiento posterior al tratamiento

4.6 Modelamiento de efectos mixtos multinivel de efectividad antimicrobiana

Dada la baja cantidad de brotes tratados disponibles para el salmón Coho ($n= 140$), no pudimos ajustar un modelo robusto para esta especie que incluyera las diferentes variables explicativas de interés. Consecuentemente, los resultados del modelamiento estadístico en esta sección se entregan solo para el salmón del Atlántico y la trucha arcoiris.

4.6.1 Modelo del salmón del Atlántico

Selección del modelo

Los únicos modelos con soporte de efectividad antimicrobiana en el salmón del Atlántico fueron los tres modelos de bloque multivariable, incluyendo al menos todas las variables explicativas desde los grupos de hipótesis de peces, manejo y ambientales así como el modelo máximo (Tabla 5). Hubo una diferencia AICc de menos de catorce puntos entre estos cuatro modelos, mientras que los otros modelos tenían una diferencia AICc de al menos 147 puntos con los modelos admitidos. En particular, los modelos con una sola variable no fueron bien compatibles en comparación con los modelos que incorporan numerosas variables de exposición (como lo demuestra la gran diferencia en las estimaciones AICc). Esto destaca la naturaleza multifactorial de la eficacia antimicrobiana y la falta de un único factor de riesgo importante. Las estimaciones de los parámetros que se presentan a continuación se obtuvieron a través de un promedio de las estimaciones del modelo del componente, ponderadas por los respectivos pesos de Akaike de cada modelo. En consecuencia, los cuatro modelos con un peso Akaike distinto de cero contribuyeron efectivamente a la estimación final del modelo (modelos en gris en la Tabla 5).

Tabla 5 Soporte de selección e hipótesis para modelos de efectividad antimicrobiano, usando el enfoque teórico de la información, para ciclos de producción del salmón del Atlántico. Los modelos que contribuyeron al promedio ponderado final se resaltan en gris

Especificación del modelo	df	AICc	$\Delta AICc$	Ponderación
Grupos de hipótesis 3 (manejo) y 4 (ambiental)	39	44053	0	0.71
Grupos de hipótesis 1 (tratamiento), 3 (manejo) y 4 (ambiental)	48	44056	2	0.27
Grupos de hipótesis 2 (pez), 3 (manejo) y 4 (ambiental)	51	44060	7	0.02
Modelo máximo	60	44067	14	0.01
Grupos de hipótesis 1 (tratamiento) y 3 (manejo)	37	44200	147	0.00
Grupos hipótesis 1 (tratamiento), 2 (pez) y 3 (manejo)	49	44214	162	0.00
Grupos de hipótesis 2 (pez) y 3 (manejo)	40	44220	167	0.00
Un grupo de hipótesis 3 (manejo)	28	44263	210	0.00
SVH: MortalidadPorSRSPre-tratamiento	23	44487	435	0.00
Grupos de hipótesis 1 (tratamiento), 2 (pez) y 4 (ambiental)	55	44611	558	0.00
Grupos de hipótesis 1 (tratamiento) y 4 (ambiental)	43	44614	561	0.00
Grupos de hipótesis 2 (pez) y 4 (ambiental)	46	44632	579	0.00
Grupo de hipótesis 4 (ambiental)	34	44660	607	0.00
SVH: MortalidadDesconocidaPre-tratamiento	23	44743	691	0.00
SVH: PresiónInfecciónCentro	23	44761	708	0.00
Grupos de hipótesis 1 (tratamiento) y 2 (pez)	43	44860	807	0.00
Grupo de hipótesis 1 (tratamiento)	31	44885	832	0.00
SVH: MétodoFármaco	26	44905	853	0.00
SVH: interacción MetodoFármaco:DuraciónTratamiento	27	44905	853	0.00
SVH: DensidadBiomasa	23	44909	856	0.00
SVH: interacción MétodoFármaco:TiempoAlTratamiento	27	44928	876	0.00
SVH: NombreFármaco	24	44931	878	0.00
Grupo de hipótesis 2 (pez)	34	44931	879	0.00
SVH: MétodoTratamiento	23	44939	886	0.00
SVH: TiempoAlTratamiento	23	44941	888	0.00
SVH: interacción MétodoFármaco:TemperaturaSeguimiento	27	44949	897	0.00
SVH: TiempoEnElMar	23	44954	902	0.00
SVH: TemperaturaSeguimiento	23	44956	903	0.00
SVH: TemperaturaAntes	23	44961	908	0.00
SVH: PresiónInfecciónÁrea	23	44976	923	0.00
SVH: Pre-coberturaCentro	23	44979	926	0.00
SVH: DuraciónTratamiento	23	44981	928	0.00

Especificación del modelo	df	AICc	$\Delta AICc$	Ponderación
SVH: ContinuidadTratamiento	23	44982	929	0.00
SVH: CantidadTratamientoCaligus	23	44994	942	0.00
ModeloMínimo	22	44995	943	0.00
SVH: TiempodDesdeÚltimoTratamientoCaligus	23	44996	943	0.00
SVH: MortalidadSalmonesJóvenes	23	44996	944	0.00
SVH: TiempoDesdeVacuna	23	44996	944	0.00
SVH: Pesopez	23	44997	944	0.00
SVH: Pre-otrasEnfermedades	23	44997	945	0.00
SVH: Post-coberturaCentro	23	44997	945	0.00

AICc = AIC sesgo corregido; $\Delta AICc$ = AICc diferencia desde modelo con mayor AICc; df = grado de libertad; SVH = hipótesis de una sola variable; ponderación = ponderación de Akaike

Nota: Los modelos con ponderación diferente cero se destacan en gris.

Medidas estimadas de efecto derivado de promedio de modelo de los modelos soportados

Hubo quince factores significativamente asociados con el resultado (tasa de mortalidad posterior al tratamiento atribuida a la piscirickettsiosis a causas desconocidas) en el modelo promediado, como se muestra en Tabla 6.

Tabla 6 Coeficientes de tasa ajustados de mortalidad atribuida a piscirickettsiosis en base al promedio de modelo de los cuatro modelos con mejor soporte para los ciclos de producción de salmón del Atlántico

Variable	Coefficiente de tasa	CI 95% menor	CI 95% superior	P	
	1 (Categoría de referencia)				
TipoTratamiento ^a	FLO - en alimento				
	FLU - en alimento	0.96	0.69	1.33	0.78
	OTC - en alimento	1.07	1.02	1.12	<0.01
	OTC - inyección	0.65	0.44	0.95	0.02
DuraciónTratamiento	1.01	0.99	1.02	0.34	
ContinuidadTratamiento	0.91	0.87	0.94	<0.01	
TiempoAlTratamiento	1.24	1.14	1.34	<0.01	
MortalidadPorSRSPre-tratamiento	1.51	1.42	1.6	<0.01	
MortalidadDesconocidaPre-tratamiento	1.37	1.3	1.43	<0.01	
Pre-coberturaCentro	0.87	0.83	0.91	<0.01	
Post-coberturaCentro	1.14	1.08	1.20	<0.01	
DensidadBiomasa	1.01	0.97	1.04	0.69	
TiempoEnElMar	0.98	0.95	1.00	0.10	

Variable		Coefficiente de tasa	CI 95% menor	CI 95% superior	P
Pre-otras Enfermedades		1.00	0.98	1.01	0.68
Peso pez		0.98	0.96	1.01	0.33
Mortalidad Salmones Jóvenes		1.02	1.00	1.04	0.06
Tiempo Desde Último Tratamiento Caligus		0.99	0.95	1.02	0.38
Cantidad Tratamiento Caligus		0.96	0.94	0.99	0.02
Tiempo Desde Vacuna		1.02	0.99	1.05	0.09
Presión Infección Área		0.96	0.93	1.00	0.01 ^b
Presión Infección Centro		1.37	1.30	1.45	<0.01
Temperatura Seguimiento		1.18	1.11	1.26	<0.01
Fecha Inicio		0.60	0.39	0.91	<0.01
Fecha Inicio, al cuadrado		4.82	1.78	13.05	<0.01
Fecha Inicio, al cubo		0.37	0.20	0.70	<0.01
Latitud		0.82	0.64	1.04	0.04 ^b
Truncación	No	1 (Categoría de referencia)			
	Sí	0.79	0.71	0.87	<0.01
Rango Brote	1° brote	1 (Categoría de referencia)			
	2° brote	1.05	0.96	1.15	0.13
	3° brote	0.98	0.84	1.16	0.77
	4° brote	0.68	0.44	1.05	0.02 ^b
	5° brote	0.60	0.15	2.35	0.33
	Solo 1 tratamiento	1 (Categoría de referencia)			
Tratamientos Repetidos	2 tratamientos	0.57	0.50	0.65	<0.01
	3 tratamientos	0.43	0.34	0.54	<0.01
	4 tratamientos	0.31	0.20	0.49	<0.01
	5 tratamientos	0.12	0.05	0.32	<0.01
Región	X Región	1 (Categoría de referencia)			
	XI Región	0.75	0.47	1.19	0.11
Interacción entre Duración Tratamiento y Tipo Tratamiento	Duración Tratamiento x FLO - en alimento	1 (Categoría de referencia)			
	Duración Tratamiento x FLU - en alimento	0.96	0.83	1.10	0.53
	Duración Tratamiento x OTC - en alimento	1.03	0.99	1.08	0.18
	Duración Tratamiento x OTC - inyección	0.80	0.66	0.96	0.01

Variable		Coefficiente de tasa	CI 95% menor	CI 95% superior	P
Interacción entre TiempoAlTratamiento y TipoTratamiento	TiempoAlTratamiento x FLO - en alimento	1 (Categoría de referencia)			
	TiempoAlTratamiento x FLU - en alimento	3.76	0.34	42.02	0.08
	TiempoAlTratamiento x OTC - en alimento	1.17	0.87	1.57	0.09
	TiempoAlTratamiento x OTC - inyección	0.94	0.62	1.43	0.65
Interacción entre PesoPez y TipoTratamiento	PesoPez × FLO – alimentado	1 (Categoría de referencia)			
	PesoPez × FLU – alimentado	1.01	0.98	1.03	0.10
	PesoPez × OTC – alimentado	1.00	1.00	1.00	0.80
	PesoPez × OTC – inyección	1.00	0.99	1.01	0.39
Interacción entre TemperaturaSeguimiento y TipoTratamiento	TemperaturaSeguimiento x FLO - en alimento	1 (Categoría de referencia)			
	TemperaturaSeguimiento x FLU - en alimento	0.76	0.18	3.23	0.59
	TemperaturaSeguimiento x OTC - en alimento	0.98	0.88	1.10	0.66
	TemperaturaSeguimiento x OTC - inyección	1.12	0.95	1.33	0.04 ^b

CI = Intervalo de confianza; FLO = florfenicol; FLU: fluoroquinolonas de primera generación; OTC = oxitetraciclina

a El modelo incluyó observaciones de tratamientos con florfenicol inyectable. Sin embargo, la pequeña cantidad de observaciones ($n=5$) llevó a una estimación de error estándar inestable extremadamente grande. Consecuentemente, estas observaciones no se consideraron en el análisis y no se presentan en esta tabla.

b Las pequeñas discrepancias aparentes con intervalos de confianza que incluyen 1, pero con valores P menores a 0,05, se deben a procedimientos de promedio de modelo. Solo ocurrieron para variables que no fueron significativas en todos los modelos y que estuvieron asociadas a grandes estimaciones de error estándar en al menos uno de los modelos. Estas estimaciones se interpretaron con precaución y no influyeron sustancialmente en los resultados generales.

Notas: Se presentan todas las variables desde los modelos promediados, y aquellas que tienen un valor P estadísticamente significativo se destacan en gris. Las estimaciones de parámetro de variables continuas se presentan para las variables escaladas.

El coeficiente de tasa (estimación de parámetros) que se muestra en Tabla 6 entrega una medida de la magnitud del efecto de cada variable en el modelo, relativa a los cambios en la variable *escalada*. Si el valor de una variable cambia desde la media a 1 desviación estándar por sobre la media, el coeficiente de tasa muestra el cambio relativo en la tasa de mortalidad que el modelo predice. Por ejemplo, si TiempoAlTratamiento (unidades térmicas acumuladas desde el inicio del brote al comienzo del tratamiento) aumenta desde el tiempo promedio a 1 desviación estándar por sobre el promedio (o sea, el tratamiento es más lento), la tasa de mortalidad a lo largo del brote se predice que aumentará en 24% (una tasa relativa de 1,24).

Las asociaciones positivas entre la variable de exposición y el resultado (tasa de mortalidad atribuida a piscirickettsiosis durante el período de seguimiento posterior al tratamiento) están indicadas por coeficientes de tasa mayores a 1, y las asociaciones negativas están indicadas por coeficientes de tasa entre 0 y 1. Una asociación positiva indica que un aumento en el factor está asociado con una mayor tasa de mortalidad atribuida a la piscirickettsiosis después del tratamiento (o sea, un menor nivel de efectividad del tratamiento). Por el contrario, una asociación negativa con el resultado significa que un aumento en el factor está asociado a

una reducción de la mortalidad atribuida a la piscirickettsiosis posterior al tratamiento (o sea, un mayor nivel de efectividad del tratamiento).

Los factores importantes relacionados con el tratamiento antimicrobiano son:

- Tipo de antimicrobiano y vía de administración (TipoTratamiento)
- Cantidad de tratamientos repetidos durante el brote (TratamientosRepetidos)

Los factores de manejo significativos son:

- unidades térmicas acumuladas desde el inicio del brote al inicio del tratamiento (TiempoAlTratamiento)
- tasa de mortalidad atribuida a piscirickettsiosis durante los 21 días antes del tratamiento (MortalidadSRSPretratamiento)
- tasa de mortalidad atribuida a causas desconocidas durante los 21 días antes del tratamiento (MortalidadDesconocidaPretratamiento)
- proporción de jaulas en el centro tratadas dentro del período de seguimiento (PostCoberturaCentro)
- proporción de jaulas en el centro tratadas durante los 21 días antes del tratamiento (PreCoberturaCentro)
- proporción de los días totales del período de tratamiento cuando el tratamiento realmente se administró (ContinuidadTratamiento)

Los factores ambientales significativos son:

- temperatura media del mar durante el período de seguimiento (TemperaturaSeguimiento)
- presión local de infección por piscirickettsiosis que surge de otros centros infectados en un radio de 20 km (PresiónInfecciónÁrea)
- presión local de infección por piscirickettsiosis que surgir de otras jaulas infectadas en el centro (PresiónInfecciónCentro)

Los factores significativos a nivel de peces son:

- cantidad de días en los que se administró tratamiento contra el caligus entre la entrada de salmones jóvenes y el comienzo del tratamiento (CantidadTratamientoCaligus).

Otros factores importantes son:

- latitud
- día calendario inicio del brote
- clasificación del brote dentro del ciclo de producción (ClasificaciónBrote)

Dos de las cuatro interacciones probadas revelaron interacciones significantes en cuanto a pares entre algunos tipos de tratamiento (TipoTratamiento) y las variables explicativas seleccionadas (DuraciónTratamiento y TemperaturaSeguimiento). Estos hallazgos se interpretan en la Sección 0.

Ajuste del modelo

El r^2 ajustado estimado para los cuatro modelos con mejor soporte fue de 28%, con la condición de la inclusión de los efectos aleatorios en el cálculo de r^2 . Estos modelos tenían un poder explicativo mayor que el modelo mínimo, que tenía un r^2 ajustado de 15%. En general, la varianza residual se redujo en 16% al pasar del modelo mínimo a los modelos seleccionados (Tabla 7). Sin embargo, los coeficientes de partición de varianza (VPC) muestran que el error residual capturó la mayoría de la varianza que no se explica mediante los efectos fijos en los modelos (78,5% para el modelo mínimo; 87,9% para el modelo de lo que con mejor

clasificación; Tabla 7). Los VPC para efectos aleatorios específicos de los barrios fue lo que más se redujo (de 9,6% a 2,0%), al agregar factores explicativos el modelo mínimo. Esto indica que los factores explicativos adicionales capturaron mucho de la variación en la escala del barrio. En general, la varianza no explicada a nivel de barrio y jaula en los modelos soportados es muy pequeña, con ~5% de varianza que reside a nivel de centro y ~5% de varianza que reside a nivel de empresa.

Gráficos examinados con diagnóstico de regresión de los residuos de Pearson sobre valores ajustados. La característica clave de estos gráficos fue la gran influencia de uno de los brotes definidos. Los valores ajustados para este punto fueron varias órdenes de magnitud más grandes que el siguiente valor ajustado más grande en el modelo máximo, y esta observación se eliminó antes de la estimación final de los modelos incluidos en el proceso de promedio de modelos.

Tabla 7 Estadística de ajuste del modelo para los modelos mínimo y de mejor efectividad antimicrobiana con mejor soporte para los ciclos de producción de salmón del Atlántico

Especificación del modelo	Modelo mínimo (%)	Hipótesis 3 (manejo) y 4 (ambiental) (%)	Grupo de hipótesis 1 (tratamiento), 3 (manejo) y 4 (ambiental) (%)	Grupo de hipótesis 2 (pez), 3 (manejo) y 4 (ambiental) (%)	Modelo máximo (%)	
r^2 condicional	15	28	28	29	29	
Proporción explicada adicional relativa de varianza comparada con modelo mínimo	na	16	16	17	17	
Coeficiente de partición de varianza ^a	IDBarrio	9,6	1.3	2.0	2.0	1,8
	IDCentro ^b	8,1	4.5	5.0	5.0	4,9
	IDJaula ^b	0,0	0.0	0.0	0.0	0,0
	Residuos (nivel de brote) ^b	78,5	89.0	87.9	87.9	88,1
	Empresa	3,8	5.1	5.1	5.1	5.1

na = no aplica

a Los coeficientes de partición de varianza para todos los niveles, excepto el nivel residual, son equivalentes a coeficientes de correlación intraclase.

b Los efectos aleatorios para el centro, la jaula y el brote están anidados dentro del efecto aleatorio en la línea superior (o sea, brotes dentro de jaulas, dentro de centros, dentro de barrios). Se puede pensar que los efectos de la empresa están cruzados con los efectos aleatorios de ubicación anidados. Sin embargo, este efecto aleatorio de la empresa se modeló como un efecto fijo porque había muy pocas empresas como para permitir el modelamiento del efecto aleatorio.

Modelamiento post-hoc

Se excluyeron tres hipótesis importantes que definen posibles factores de riesgo para la mortalidad atribuida a la piscirickettsiosis, desde los conjuntos de modelos considerados en el proceso de selección de modelo. Las variables de exposición clave requeridas para modelar estas hipótesis fueron:

- Coeficiente de variación en el peso del pez como una medida de la variabilidad del peso
- Oxígeno disuelto
- salinidad.

La razón clave para su omisión fue la alta tasa de datos faltantes. Si estas variables se hubieran incluido en el proceso de modelamiento, existía el riesgo de introducir un sesgo de muestra importante en las estimaciones de parámetros del modelo promediado. Estas hipótesis adicionales se consideraron en un análisis post hoc que agregó las variables de exposición (varianza de peso, oxígeno disuelto y salinidad) una a una en el modelo máximo. No se realizó ninguna prueba de hipótesis para la turbidez porque las tasas de datos faltantes eran excepcionalmente altas, teniendo datos de turbidez disponibles solo para 1,5% de los brotes ($n=82$). Del resto de las hipótesis, los niveles más altos de oxígeno disuelto en el período de 21 días antes del tratamiento se asociaron con una efectividad significativamente mayor del tratamiento (Tabla 8). La salinidad y la variabilidad del peso no se asociaron con el resultado.

Tabla 8 Resultados de modelamiento post hoc de las asociaciones entre salinidad, oxígeno disuelto y varianza de peso de peces y la efectividad del tratamiento antimicrobiano contra la piscirickettsiosis

Variable	Coefficiente de tasa	CI 95% menor	CI 95% superior	P
Salinidad	1,02	0,96	1,09	0,50
Oxígeno disuelto	0,90	0,86	0,95	<0,01
Coefficiente de variación de pez	0,98	0,88	1,09	0,70

4.6.2 Modelo de la trucha arcoíris

Selección del modelo

Los únicos modelos con soporte para la efectividad antimicrobiana en la trucha arcoíris fueron los modelos multivariable máximos, incluyendo todas las variables explicativas, el modelo que incluye factores de tratamiento, peces y manejo y el modelo que incluye factores de tratamiento, manejo y ambiente (Tabla 9). Hubo una diferencia AICc de solo 16 puntos entre los 3 modelos soportados. La ponderación de Akaike dada al modelo máximo fue de 96%, con el 4% restante principalmente atribuido al segundo modelo. El peso de Akaike dado al tercer modelo fue menor al 1%.

Al igual que en el salmón del Atlántico, esto destaca la naturaleza multifactorial de la efectividad antimicrobiana. Las estimaciones de parámetros presentados a continuación se estimaron a través de un promedio de las estimaciones del modelo del componente, ponderado por los respectivos pesos de Akaike de cada modelo. En consecuencia, los tres modelos con un peso Akaike distinto de cero contribuyeron efectivamente a la estimación final del modelo (modelos en gris en la Tabla 5).

Tabla 9 Selección y soporte de hipótesis para modelos de efectividad antimicrobiana, usando el enfoque teórico de la información para los ciclos de producción de la trucha arcoíris. Los modelos que contribuyeron al promedio ponderado final se resaltan en gris

Especificación del modelo	df	AICc	Δ AICc	Ponderación
Modelo máximo	59	18282	0	0.96
Grupos hipótesis 1 (tratamiento), 2 (pez) y 3 (manejo)	48	18288	6	0.04
Grupos de hipótesis 1 (tratamiento), 3 (manejo) y 4 (ambiental)	48	18298	16	<0.01
Grupos de hipótesis 2 (pez), 3 (manejo) y 4 (ambiental)	50	18306	25	0
Grupos de hipótesis 1 (tratamiento) y 3 (manejo)	37	18308	26	0
Grupos de hipótesis 3 (manejo) y 4 (ambiental)	39	18312	30	0

Especificación del modelo	df	AICc	Δ AICc	Ponderación
Grupos de hipótesis 2 (pez) y 3 (manejo)	39	18318	36	0
Un grupo de hipótesis 3 (manejo)	28	18350	69	0
SVH: MortalidadPorSRSPre-tratamiento	23	18362	80	0
Grupos de hipótesis 1 (tratamiento), 2 (pez) y 4 (ambiental)	54	18387	105	0
Grupos de hipótesis 2 (pez) y 4 (ambiental)	45	18417	136	0
Grupos de hipótesis 1 (tratamiento) y 4 (ambiental)	42	18418	136	0
Grupos de hipótesis 1 (tratamiento) y 2 (pez)	43	18431	149	0
Grupo de hipótesis 4 (ambiental)	34	18448	166	0
Grupo de hipótesis 2 (pez)	33	18463	182	0
Grupo de hipótesis 1 (tratamiento)	31	18484	203	0
SVH: interacción TipoTratamiento:DuraciónTratamiento	23	18499	217	0
SVH: interacción TipoTratamiento:TiempoAlTratamiento	27	18499	218	0
SVH: interacción TipoTratamiento:TemperaturaSeguimiento	27	18502	220	0
SVH: PresiónInfecciónCentro	27	18504	223	0
SVH: TiempoDesdeÚltimoTratamientoCaligus	26	18510	228	0
SVH: TipoTratamiento	24	18511	229	0
SVH: NombreFármaco	23	18512	231	0
SVH: TiempoAlTratamiento	27	18513	231	0
SVH: CantidadTratamientoCaligus	23	18526	244	0
SVH: DuraciónTratamiento	23	18527	245	0
SVH: TiempoEnElMar	23	18532	251	0
SVH: TiempoDesdeVacuna	23	18532	251	0
SVH: MortalidadDesconocidaPre-tratamiento	23	18543	261	0
SVH: ContinuidadTratamiento	23	18546	264	0
SVH: MortalidadSalmonesJóvenes	23	18547	265	0
SVH: TemperaturaSeguimiento	23	18550	269	0
SVH: Pesopez	23	18551	269	0
ModeloMínimo	22	18552	271	0
SVH: Pre-coberturaCentro	23	18553	272	0
SVH: MétodoTratamiento	23	18553	272	0
SVH: Post-coberturaCentro	23	18554	272	0
SVH: PresiónInfecciónÁrea	23	18554	272	0
SVH: Pre-otrasEnfermedades	23	18554	272	0
SVH: DensidadBiomasa	23	18554	273	0

AICc = AIC sesgo corregido; Δ AICc = AICc diferencia desde modelo con mayor AICc; df = grado de libertad; SVH = hipótesis de una sola variable; ponderación = ponderación de Akaike

Nota: Los modelos con ponderación diferente cero se destacan en gris.

Factores de riesgo desde el modelo promediado

Entre las variables de interés, 9 factores estuvieron significativamente asociados con el resultado (tasa de mortalidad postratamiento atribuida a piscirickettsiosis y a causas desconocidas) en el modelo ponderado como se muestra en Tabla 10.

Tabla 10 Coeficientes de tasa ajustados de mortalidad atribuida a piscirickettsiosis desde los modelos de efectividad antimicrobiana promediados para los ciclos de producción de trucha arcoíris

Variable		Coeficiente de tasa	CI 95% menor	CI 95% superior	P
	FLO - en alimento	1 (Categoría de referencia)			
Tipo Tratamiento ^a	FLO – inyección	1.27	0.46	3.49	0.62
	OTC - en alimento	1.2	0.71	2.01	0.48
	OTC - inyección	0.46	0.25	0.84	0.01
	Duración Tratamiento	0.60	0.50	0.71	<0.01
Continuidad Tratamiento		0.96	0.86	1.06	0.36
Tiempo Al Tratamiento		1.05	0.87	1.26	0.60
Mortalidad Por SRSPre-tratamiento		1.66	1.47	1.88	<0.01
Mortalidad Desconocida Pre-tratamiento		1.25	1.08	1.44	<0.01
Pre-cobertura Centro		0.99	0.87	1.12	0.79
Post-cobertura Centro		0.89	0.80	0.98	0.02
Densidad Biomasa		0.95	0.87	1.04	0.22
Tiempo En El Mar		0.90	0.79	1.02	0.07
Pre-otras Enfermedades		0.96	0.87	1.06	0.35
Peso pez		0.95	0.82	1.09	0.43
Mortalidad Salmones Jóvenes		1.04	0.96	1.13	0.30
Cantidad Tratamiento Caligus		1.76	1.36	2.27	<0.01
Tiempo Desde Vacuna		1.06	0.93	1.21	0.38
Presión Infección Área		1.00	0.94	1.07	0.94
Presión Infección Centro		1.11	0.99	1.24	0.07
Temperatura Seguimiento		1.32	0.99	1.24	<0.01
Fecha Inicio		3.84	1.36	10.87	0.01
Fecha Inicio, al cuadrado		0.02	0.00	0.17	<0.01
Fecha Inicio, al cubo		15.35	3.88	60.67	<0.01
Latitud		0.63	0.29	1.35	0.20
Longitud		1.00	0.75	1.33	0.98

Variable		Coefficiente de tasa	CI 95% menor	CI 95% superior	P
Truncación	No	1 (Categoría de referencia)			
	Sí	1.16	0.94	1.43	0.17
RangoBrote	1° brote	1 (Categoría de referencia)			
	2° brote	0.75	0.60	0.95	0.01
	3° brote	0.47	0.24	0.92	0.02
	4° brote	0.66	0.12	3.70	0.61
	Solo 1 tratamiento	1 (Categoría de referencia)			
TratamientosRepetidos	2 tratamientos	1.04	0.79	1.39	0.74
	3 tratamientos	0.97	0.59	1.61	0.88
	4 tratamientos	0.41	0.15	1.11	0.07
	5 tratamientos	0.13	0.01	1.36	0.07
	6 tratamientos	0.26	0.02	2.93	0.25
Región	X Región	1 (Categoría de referencia)			
	XI Región	0.57	0.11	3.01	0.48
Interacción entre DuraciónTratamiento y TipoTratamiento	DuraciónTratamiento x FLO - en alimento	1 (Categoría de referencia)			
	DuraciónTratamiento x FLO - inyección	2.11	1.48	3.01	<0.01
	DuraciónTratamiento x OTC - en alimento	1.16	0.81	1.66	0.39
	DuraciónTratamiento x OTC - inyección	1.47	1.01	2.16	0.04 ^b
Interacción entre TiempoAlTratamiento y TipoTratamiento	TiempoAlTratamiento x FLO - en alimento	1 (Categoría de referencia)			
	TiempoAlTratamiento x FLO - inyección	1.02	0.60	1.74	0.92
	TiempoAlTratamiento x OTC - en alimento	1.29	0.87	1.91	0.19
	TiempoAlTratamiento x OTC - inyección	0.89	0.64	1.22	0.45
Interacción entre PesoPez y TipoTratamiento	PesoPez × FLO – alimentación	1 (Categoría de referencia)			
	PesoPez × FLO – inyección	3.26	1.05	10.18	0.03
	PesoPez × OTC – alimentación	1.02	0.74	1.42	0.87
	PesoPez × OTC – inyección	1.29	1.00	1.67	0.05

Variable		Coefficiente de tasa	CI 95% menor	CI 95% superior	P
	TemperaturaSeguimiento x FLO - en alimento	1 (Categoría de referencia)			
Interacción entre TemperaturaSeguimiento y TipoTratamiento	TemperaturaSeguimiento x FLO - inyección	0.74	0.53	1.03	0.07
	TemperaturaSeguimiento x OTC - en alimento	0.76	0.44	1.32	0.33
	TemperaturaSeguimiento x OTC - inyección	0.72	0.52	0.99	0.04

CI = intervalo de confianza; FLO = florfenicol; OTC = oxitetraciclina

a El modelo incluyó observaciones de fluoroquinolonas de primera generación en el alimento. Sin embargo, la pequeña cantidad de observaciones ($n = 28$) llevó a estimaciones de error estándar inestables extremadamente grandes. Consecuentemente, estas observaciones no se consideraron en el análisis y no se presentan en esta tabla.

b Las pequeñas discrepancias aparentes con intervalos de confianza que incluyen 1, pero con valores P menores a 0,05, se deben a procedimientos de promedio de modelo. Solo ocurrieron para variables que no fueron significativas en todos los modelos y que estuvieron asociadas a grandes estimaciones de error estándar en al menos uno de los modelos. Estas estimaciones se interpretaron con precaución y no influyeron sustancialmente en los resultados generales.

Notas: Se presentan todas las variables desde el modelo promediado, y aquellas que tienen un valor P estadísticamente significativo se destacan en gris. Las estimaciones de parámetro de variables continuas se presentan para las variables escaladas.

Los factores importantes relacionados con el tratamiento antimicrobiano son:

- tipo de antimicrobiano y vía de administración (TipoTratamiento)
- duración del tratamiento (DuraciónTratamiento).

Los factores de manejo significativos son:

- tasa de mortalidad atribuida a piscirickettsiosis durante los 21 días antes del tratamiento (MortalidadSRSPretratamiento)
- tasa de mortalidad atribuida a causas desconocidas durante los 21 días antes del tratamiento (MortalidadDesconocidaPretratamiento)
- proporción de jaulas en el centro trastadas dentro del período de seguimiento (PostCoberturaCentro).

Los factores significativos a nivel de peces son:

- cantidad de días en los que se administró tratamiento contra el caligus entre la entrada de salmones jóvenes y el comienzo del tratamiento (CantidadTratamientoCaligus).

Los factores ambientales significativos son:

- temperatura media del mar durante el período de seguimiento (TemperaturaSeguimiento)

Otros factores significativos son:

- clasificación del brote dentro del ciclo de producción (1°, 2°, etc.) (ClasificaciónBrote)
- día calendario de inicio del brote (FechaInicio).

Tres de las cuatro interacciones probadas revelaron interacciones significativas entre algunos de los tipos de tratamiento (TipoTratamiento) y las variables explicativas seleccionadas (DuraciónTratamiento, PesoPez y TemperaturaSeguimiento). Estos hallazgos se interpretan en la Sección 0.

Ajuste del modelo

El r^2 ajustado estimado para los tres modelos con soporte fue 35-37%, con la condición de la inclusión de los efectos aleatorios en el cálculo de r^2 . Estos proporcionaron sólo una pequeña mejora en el poder explicativo en comparación con el modelo mínimo. En general, la varianza residual se redujo en aproximadamente 20% (~6% en términos absolutos) al pasar desde el modelo mínimo a los modelos seleccionados (Tabla 11). Al compararse con los datos del salmón del Atlántico, los datos de la trucha arcoíris tuvieron una variabilidad mayor a nivel de centro relativa a la variabilidad residual (22,3% en Tabla 11 comparado con 4,9% en Tabla 7 para el modelo máximo). De manera similar, los VPC para los efectos específicos de la empresa también fue mucho mayor para la trucha arcoíris que para el salmón del Atlántico (34,0% en Tabla 11 comparado con 5,1% en Tabla 7 para el modelo máximo). Al igual que con el salmón del Atlántico, los efectos aleatorios específicos del barrio y específicos de la jaula fueron insignificantes. Los gráficos de residuos de Pearson sobre valores ajustados no indican ninguna tendencia sistemática de los residuos o brotes de gran influencia.

Estos VPC indican, primero, que la variabilidad inexplicada en la efectividad del tratamiento antimicrobiano entre empresas es mayor para trucha arcoíris que para el salmón del Atlántico. Esto implica un mayor impacto potencial de procesos específicos de la empresa sobre la efectividad antimicrobiana. En segundo lugar, la variabilidad inexplicada en la efectividad del tratamiento entre centros (VPC a nivel de centro) también es mayor en la trucha arcoíris que en el salmón del Atlántico.

Tabla 11 Estadística de ajuste del modelo para los modelos mínimo y con mejor soporte de efectividad antimicrobiana para los ciclos de producción de la trucha arcoíris

Especificación del modelo	Modelo mínimo (%)	Grupos de hipótesis 1 (tratamiento), 3 (manejo), y 4 (ambiente) (%)	Grupos de hipótesis 1 (tratamiento), 2 (pez) y 3 (manejo) (%)	Modelo máximo (%)
r^2 condicional	35	35	37	36
Porcentaje de varianza explicado adicional relativo comparado con el modelo mínimo	na	17	19	21
Coeficiente de partición de varianza ^a				
IDBarrio	2.5	0.3	0.0	0.0
IDCentro ^b	34.2	13.1	18.0	22.3
IDJaula ^b	0.0	0.0	0.0	0.0
Residuos (nivel de brote) ^b	38.9	49.3	45.7	43.7
Empresa	24.4	37.4	36.3	34.0

na = no aplica

a Los coeficientes de partición de varianza para todos los niveles, excepto el nivel residual, son equivalentes a coeficientes de correlación intraclass.

b Los efectos aleatorios para el centro, la jaula y el brote están anidados dentro del efecto aleatorio en la línea superior (o sea, brotes dentro de jaulas, dentro de centros, dentro de barrios). Se puede pensar que los efectos de la empresa están cruzados con los efectos aleatorios de ubicación anidados. Sin embargo, este efecto aleatorio de la empresa se modeló como un efecto fijo porque había muy pocas empresas como para permitir el modelamiento del efecto aleatorio.

Modelamiento post-hoc

La trucha arcoíris difiere del salmón del Atlántico en que se encontró que las tres hipótesis probadas post hoc no eran estadísticamente significativas, cuando se agregaban una a la vez al modelo máximo.

Tabla 12 Pruebas post hoc y coeficientes de tasa de incidencia de hipótesis omitidas desde el modelo de la trucha arcoíris debido a datos faltantes

Variable	Coeficiente de tasa	CI 95% menor	CI 95% superior	<i>P</i>
Salinidad	0,97	0,67	1,42	0,89
Oxígeno	0,85	0,63	1,14	0,28
Coeficiente de variación de pez	1,02	0,83	1,27	0,84

5 Discusión

En esta sección interpretamos los resultados desde el estudio, discutimos las implicancias de los resultados para la industria y presentamos sus limitaciones. La sección 0 presenta enfoques alternativos al análisis, así como sugerencias para estudios adicionales.

5.1 Resumen e interpretación de resultados

5.1.1 Salmón del Atlántico

Variables incluidas en el modelo mínimo para controlar la estructura jerárquica de los datos y otras variables

La latitud se asoció con la mortalidad atribuida a la piscirickettsiosis a causas desconocidas durante el período de seguimiento (en adelante llamado "el resultado"). En particular, los brotes que ocurrieron más hacia el norte tuvieron una menor mortalidad durante el seguimiento que aquellos que ocurrieron hacia el sur. Estas asociaciones revelan que hay variables explicativas distribuidas espacialmente que influyen en el resultado, pero de las que no se da cuenta en el modelo. La región no se asoció significativamente con el resultado.

Los coeficientes de partición de varianza mostraron muy poca variación en los resultados residentes en el nivel barrio y de la jaula. Solo 5% de la variación residió en el nivel del centro, lo que sugiere que hay una diferencia relativamente pequeña entre centros en cuanto a la efectividad del tratamiento antimicrobiano. De manera similar, solo 5% de la variación residió a nivel de empresa. En el modelo del salmón del Atlántico, la mayoría (88%) de la variación inexplicada ocurrió entre brotes dentro de una jaula. Esto sugiere que se pueden obtener relativamente más ganancias en el control de la piscirickettsiosis al identificar y evaluar factores que actualmente no se miden, que operan a nivel de brote individual.

El día calendario de inicio del brote (FechaInicio) se incluyó para capturar la agrupación estacional en los datos. El inicio del brote se asoció con el resultado a través de una función cúbica. Este tipo de asociación, con un coeficiente negativo para los términos simples y cúbicos, y un coeficiente positivo para el término al cuadrado, significa que los brotes iniciados a finales de otoño y comienzos de invierno tuvieron una mayor mortalidad durante el período de seguimiento que los brotes iniciados a finales de primavera e inicios del verano.

Hubo una asociación estadísticamente significativa entre el rango del brote y el resultado. Sin embargo, el análisis de esta asociación revela que fue inconsistente en los modelos más compatibles, que la incertidumbre en torno a la estimación del parámetro fue grande en algunos de los modelos y que la asociación solo se detectó para uno de los niveles del factor (4° brote).) Por estas razones, este factor no se consideró más en este estudio.

Variables relacionadas al grupo de hipótesis 1 (factores de tratamiento antimicrobiano)

Habiendo considerado las otras variables incluidas en el modelo, la oxitetraciclina en el alimento parece ser menos efectiva que el florfenicol en el alimento (el tipo de tratamiento de referencia con el que los otros tipos de tratamiento se compararon). Sin embargo, el modelo sugiere que, considerando todo, pasar de la oxitetraciclina en el alimento al florfenicol en el alimento debería solo resultar en una reducción del 7% en la mortalidad atribuida a la piscirickettsiosis durante el periodo de seguimiento posterior a tratamiento. Este resultado difiere de los hallazgos de un estudio reciente que compara la efectividad del florfenicol y la oxitetraciclina oral. Aunque el diseño del estudio y la medida del resultado fueron diferentes, Price et al (2016) encontraron que la probabilidad de la falla del tratamiento en el alimento es más alta en jaulas tratadas con

florfenicol que con oxitetraciclina para algunas combinaciones de peso de los peces y mortalidad pretratamiento aunque, para la mayoría de las combinaciones, no hubo una diferencia significativa.

Por el contrario, la oxitetraciclina inyectable parece ser más efectiva que el florfenicol en el alimento en nuestro estudio y, en general, el tratamiento con oxitetraciclina inyectable resultó en una reducción del 35% en la mortalidad por piscirickettsiosis comparada con un tratamiento de florfenicol en el alimento. Es importante notar que solo hubo una pequeña cantidad de tratamientos inyectables comparada con los tratamientos en alimento, y que registros anormalmente altos o bajos tienen una influencia mayor en los resultados de los modelos en tales situaciones.

En este análisis, no hubo diferencia en la efectividad entre las fluoroquinolonas de primera generación en el alimento (flumequina y ácido oxolinico) y el florfenicol en el alimento. Esto es sorprendente dado que las fluoroquinolonas de primera generación son medicamentos antimicrobianos relativamente antiguos y que hay más resistencia a estos fármacos entre muestras de campo de *Piscirickettsia salmonis* desde Chile que al florfenicol o a la oxitetraciclina (Henríquez et al 2016). El uso de fluoroquinolonas ha decaído notoriamente desde 2009: se usaban solo en el 1% de los brotes de piscirickettsiosis en el salmón del Atlántico identificados en este estudio, sin registro de su uso después de 2016. Por lo tanto, es posible que la potencia analítica para detectar la diferencia entre la efectividad de las fluoroquinolonas de primera generación y el florfenicol fue baja.

Los resultados del modelo no nos permiten comparar directamente las vías de administración (en el alimento versus inyectable) para cada antimicrobiano, dada la pequeña cantidad de registros para algunos antimicrobianos y la falta de estimaciones estadísticamente significativas para otros. Un estudio reciente encontró que la oxitetraciclina se elimina más lentamente cuando se administra a través de una inyección intraperitoneal que cuando se revista de manera oral (Norambuena-Subiabre et al 2018), y sería interesante investigar el impacto de tales hallazgos en la mortalidad atribuida a la piscirickettsiosis posterior al tratamiento.

La duración del tratamiento no se asoció con la efectividad del tratamiento en el período de seguimiento. Hubo una interacción significativa entre el tipo de tratamiento y la duración de este para la oxitetraciclina inyectable, que fue esperable dado que los tratamientos inyectables usualmente solo se administran una vez. En este caso, la asociación fue negativa, indicando que repetidas inyecciones (dentro de una semana) resultaron en una menor mortalidad atribuida a la piscirickettsiosis en el período de seguimiento. Como se mencionó anteriormente, la cantidad de tratamientos inyectables en el conjunto de datos fue baja y tales hallazgos se deberían interpretar con precaución.

Variables relacionadas al grupo de hipótesis 2 (factores a nivel de pez)

La presencia de otras enfermedades infecciosas durante el período anterior al tratamiento no se asoció con el resultado. Esto puede ser porque la prevalencia de otras enfermedades infecciosas es pequeña en relación a la prevalencia de la piscirickettsiosis durante un brote. Otra explicación puede ser que el efecto de cualquier estrés adicional asociado con la comorbilidad con otras enfermedades infecciosas es relativamente menor.

Aunque el tiempo desde el último tratamiento contra el caligus parece no tener efecto, la cantidad total de tratamientos contra el caligus desde la entrada de los salmones jóvenes hasta el tratamiento estuvo negativamente asociada con el resultado. Esta asociación es difícil de interpretar debido a al menos dos influencias sospechosas que compiten entre sí: es probable que los peces con mayor carga de caligus sean más susceptibles a enfermedades infecciosas, pero se cree que el tratamiento con baños antiparasitarios aumenta los niveles de estrés en los peces y por lo tanto afecta su inmunocompetencia negativamente. En ausencia de datos de recuento de caligus, el impacto de la carga de caligus en la efectividad del tratamiento no se pudo examinar completamente en este estudio. La relación entre el caligus y la mortalidad atribuida a la piscirickettsiosis es el objeto de un estudio futuro.

El peso del pez, la densidad (biomasa por metro cúbico) y el tiempo desde la entrada de los salmones jóvenes no se asociaron con el resultado. La interacción entre el peso del pez y el método de tratamiento no fue significativa para ningún nivel de tratamiento. Estos resultados difieren de aquellos de otro estudio (Price et al 2016), que encontró que las probabilidades de que el tratamiento de florfenicol en alimentos fallara se elevan con el aumento del peso del pez, aunque el estudio de Price et al no encontró que el peso de los peces estuviera asociado con los resultados del tratamiento para la oxitetraciclina oral.

No encontramos una asociación entre la tasa de mortalidad durante las primeras 4 semanas en el mar y el resultado. Esto podría significar que la calidad de los salmones jóvenes no está asociada con la efectividad del tratamiento, o que la variable usada en este estudio no es un buen indicador de la calidad de los árboles jóvenes.

La cantidad de días desde la última vacunación contra la piscirickettsiosis no se asoció con el resultado. Sin embargo, una gran cantidad de registros de vacunación no estuvieron disponibles en el conjunto de datos usado para este estudio. Se requiere una exploración adicional para evaluar la asociación entre la vacunación y la efectividad del tratamiento antimicrobiano. Esta es un área de enfoque para un estudio posterior en este proyecto.

Variables relacionadas al grupo de hipótesis 3 (factores de manejo)

Las variables relacionadas al manejo son de gran interés porque pueden ser las más abiertas a cambios. En contraste, los factores ambientales como la temperatura del mar no se pueden cambiar sin reubicar los centros de producción.

La cantidad de unidades térmicas acumuladas entre el comienzo del brote y el comienzo del tratamiento (TiempoAlTratamiento) estuvo positivamente asociada con el resultado: mientras mayor sea el retraso, mayor la tasa de mortalidad durante el periodo de seguimiento posterior al tratamiento. Esto destaca que implementar el tratamiento lo antes posible después de que se detecta un brote de piscirickettsiosis es esencial para la efectividad del tratamiento. El modelo predice que reducir el tiempo al tratamiento desde la media de 1 desviación estándar por debajo de la media resultaría en una reducción del 18% en la tasa de mortalidad en el período de seguimiento. No hubo un plazo de interacción estadísticamente significativo entre el tipo de tratamiento y el tiempo al tratamiento.

La tasa de mortalidad atribuida a la piscirickettsiosis en los 21 días anteriores al tratamiento antimicrobiano y la tasa de mortalidad debido a causas desconocidas durante los 21 días anteriores al tratamiento estuvieron positivamente asociados con el resultado. Este hallazgo coincide con el estudio realizado por Price et al (2016), que encontró que la mortalidad anterior al tratamiento (debido a todas las causas, una vez declarado el brote de piscirickettsiosis) estuvo significativamente asociado con las probabilidades de falla del tratamiento del florfenicol oral y la oxitetraciclina oral. Los tratamientos implementados en jaulas con bajas tasas de mortalidad son probablemente más efectivos, independiente del tiempo que transcurra desde el comienzo del brote. Si el tratamiento comienza cuando la mortalidad está 1 desviación estándar por debajo de la mortalidad promedio al comienzo del tratamiento, se puede esperar que la tasa de mortalidad en el período de seguimiento se reduzca en 34%.

La proporción de otras jaulas en un centro que también fueron tratadas durante el período de seguimiento (PostCoberturaCentro) se asoció positivamente con el resultado. Esto puede estar vinculado a que la presión de infección por piscirickettsiosis surge de otras jaulas infectadas en los mismos centros (PresiónInfecciónCentro), que también estuvo asociado positivamente con el resultado. Estos resultados sugieren que los tratamientos antimicrobianos son menos efectivos frente a una mayor presión de infección desde otras jaulas infectadas con piscirickettsiosis en el centro.

La proporción de otras jaulas en un centro que fueron tratadas 21 días antes del comienzo del tratamiento (PreCoberturaCentro) estuvo negativamente asociada con el resultado. Esto sugiere que el tratamiento fue

más efectivo en jaulas tratadas al final, cuando la presión de infección que surge desde otras jaulas (tratadas recientemente) en el centro es probablemente menor. Se espera que la presión general de infección en el sitio sea menor cuando la mayoría del sitio ha sido tratado por dos razones. En primer lugar, la cantidad de peces susceptibles en el sitio después de que se hayan producido brotes en otras jaulas sería menor. En segundo lugar, también se espera que el número de peces infecciosos sea más pequeño después de que se haya aplicado el tratamiento. En general, estos resultados sugieren que el efecto de la presión de infección local (que surge de otras jaulas infectadas en el mismo centro) es significativo, y que se debería tomar un enfoque a nivel de centro con el fin de reducir la mortalidad atribuida a la piscirickettsiosis en el centro completo de una vez.

Debido a que las limitaciones logísticas o el mal clima a veces resulta en brechas en la entrega del alimento medicado, consideramos un tratamiento como un solo "evento de tratamiento" si la brecha entre días de tratamiento consecutivos fue de hasta 7 días. Nuestros resultados muestran que las brechas en el tratamiento (medidas como la proporción de días durante un solo evento de tratamiento cuando el alimento medicado realmente se entregó) tienen un impacto negativo significativo en la efectividad del tratamiento; las interrupciones en la entrega de los antimicrobianos orales durante un curso de tratamiento se debería evitar tanto como sea posible. Mejorar la consistencia del tratamiento por 1 desviación estándar podría reducir la tasa de mortalidad posterior al tratamiento en un 10%.

La cantidad de tratamientos administrados durante el mismo brote (TratamientosRepetidos) estuvo negativamente asociada con el resultado. Esto quiere decir que aumentar la cantidad de cursos de tratamiento para controlar el mismo brote aumentó la efectividad del tratamiento, a diferencia de aumentar la duración del tratamiento, que se asoció con una mayor tasa de mortalidad. Esto sugiere que los tratamientos repetidos durante un brote extenso son una mejor estrategia que un tratamiento continuo más extenso. Este hallazgo no es intuitivo y puede enmascarar un efecto subyacente diferente. Por ejemplo, tratamientos efectivos más breves (repetidos o no) que usan la dosis de antimicrobiano adecuado pueden ser más efectivos que tratamientos prolongados que no logran las concentraciones tisulares inhibitorias mínimas. Se requerirán análisis posteriores de los datos de dosis de antimicrobianos en la plataforma de investigación PIISAC para abordar esta cuestión.

Aunque se ha sugerido que una menor varianza en el peso de los peces dentro de la jaula mejora la efectividad del tratamiento antimicrobiano, posiblemente a través de comportamientos de alimentación más uniformes y el consumo de alimento medicado, el análisis post hoc no dio soporte a esta hipótesis. Sin embargo, el impacto de este factor no se pudo evaluar en el conjunto de datos completo (debido a valores faltantes, como se mencionó anteriormente); por lo tanto, esta asociación se debería examinar en mayor profundidad usando un conjunto de datos más completo.

Variables relacionadas con el grupo de hipótesis 4 (factores ambientales)

La temperatura promedio del mar durante el período de seguimiento (TemperaturaSeguimiento) estuvo asociada con el resultado. La efectividad del tratamiento antibiótico fue mayor en el agua fría. Hubo una interacción significativa entre la temperatura del mar y el tipo de tratamiento para la oxitetraciclina inyectable, que indica un efecto negativo aún más fuerte del aumento de la temperatura sobre la efectividad del tratamiento. Estas asociaciones pueden reflejar una eliminación dependiente de la temperatura de los antimicrobianos incluidas en este estudio, siendo la eliminación más rápida cuando la temperatura es más tibia (Namdari et al 1998).

La presión de infección de piscirickettsiosis desde centros vecinos (PresiónInfecciónÁrea) estuvo asociada negativamente con el resultado, indicando que la mortalidad durante el período de seguimiento fue menor cuando la presión de infección desde centros vecinos infectados durante los 21 días antes del tratamiento fue mayor. Esto podría parecer contradictorio al principio, pero sugerimos que esta asociación se confunde debido al estado de tratamiento de los centros vecinos infectados. Los centros destinos infectados

probablemente administran tratamiento en una ventana de tiempo similar y, por lo tanto, la presión de infección desde estos centros probablemente es menor también durante el periodo de seguimiento. Esta asociación fue menos importante que la asociación entre el resultado y la presión infección desde otras jaulas infectadas en el mismo centro (PresiónInfecciónCentro). Además, la presión de infección desde centros vecinos fue solo significativa en modelos donde la presión de infección desde otras jaulas también se incluyó, sugiriendo un aspecto compensatorio entre ellos debido a la no linealidad de la respuesta. El plazo de interacción no fue significativo.

Aunque se basó en menos datos, el análisis post hoc indica que el tratamiento antimicrobiano es significativamente más efectivo con niveles más altos de oxígeno disuelto durante el período de seguimiento posterior al tratamiento.

5.1.2 Trucha arcoíris

Variables incluidas en el modelo mínimo para controlar la estructura jerárquica de los datos y otras variables

Para esta especie, ninguno de los factores de ubicación estuvo asociado con la efectividad del tratamiento.

Al igual que con el salmón del Atlántico, muy poca variación no explicada en el modelo residió a nivel de barrio o de jaula. El modelo de la trucha arcoíris difirió en que una mayor proporción de variación en la efectividad antimicrobiana residió a nivel de empresa (34%) y de centro (22%), con el 44% restante residiendo a nivel de brote (o sea, variación entre brotes dentro de una jaula). Estas proporciones indican que, para la producción de trucha arcoíris, algunas empresas y algunos centros tienden a tener mejores resultados al usar tratamientos antimicrobianos que otros. Un mejor entendimiento de las razones para las diferencias entre las empresas y los centros puede permitir la identificación de buenas prácticas de manejo (no capturadas en el estudio actual). Este hallazgo también soporta el objetivo de expandir aún más la participación en la plataforma de investigación, para capturar más variabilidad entre empresas y entre centros.

La clasificación del brote en el ciclo de producción (o sea, 1°, 2°, etc.) estuvo asociada con el resultado: el tratamiento antimicrobiano fue más efectivo en brotes posteriores (2° y 3°) que en el brote inicial.

El día calendario de inicio del brote (FechaInicio) estuvo asociado con el resultado a través de una función cúbica, aunque en la dirección opuesta a la observada para el salmón del Atlántico. Este tipo de asociación, con un coeficiente positivo para los términos simples y cúbicos, y un coeficiente negativo para el término cuadrado, significa que los brotes iniciados a finales de otoño y comienzos invierno tuvieron una menor mortalidad durante el período de seguimiento que los brotes iniciados a finales de primavera y comienzos del verano.

Variables relacionadas al grupo de hipótesis 1 (factores de tratamiento antimicrobiano)

El florfenicol en el alimento, tratamiento más común en todas las especies, se usó como tipo de tratamiento de referencia con el que se compararon otros tipos de tratamiento (TipoTratamiento). La oxitetraciclina inyectable pareció ser más efectivos que el tratamiento de referencia. El tratamiento con oxitetraciclina inyectable dio como resultado una disminución del 54% en la mortalidad por piscirickettsiosis en comparación con un tratamiento con florfenicol en la alimentación, ni entre florfenicol en alimento o inyectable. Estos hallazgos son consistentes con aquellos del salmón del Atlántico, que también encontraron que la oxitetraciclina inyectable fue más efectiva.

La duración del tratamiento estuvo asociada negativamente con el resultado, ya que pareciera que los tratamientos más largos son más efectivos. Este no fue el caso para los tratamientos inyectables (como se indicó mediante el término de interacción entre el tipo de tratamiento y la duración del tratamiento para el florfenicol y la oxitetraciclina inyectables), que era de esperarse dada la naturaleza de una sola aplicación de la

mayoría de los totalmente inyectables. Estos resultados soportan la hipótesis inicial de que duraciones más extensas aumenta la efectividad de los tratamientos orales en la trucha arcoíris.

Variables relacionadas al grupo de hipótesis 2 (factores a nivel de pez)

La cantidad total de tratamientos contra el caligus desde la entrada de salmónes jóvenes hasta tratamientos asoció positivamente con la efectividad del tratamiento antimicrobiano. La cantidad de tratamientos anteriores contra el caligus es un proxy aproximado para la carga de caligus, y es seguro que se realizarán investigaciones ulteriores sobre el efecto de la carga de caligus en la piscirickettsiosis y la efectividad del tratamiento antimicrobiano. Al igual que con el salmón del Atlántico, la presencia de otras enfermedades infecciosas (OtrasPreEnfermedades) no estuvo asociada con la efectividad del tratamiento.

La densidad de biomasa al comienzo del tratamiento (DensidadBiomasa), el peso del pez al comienzo del tratamiento (PesoPez) y el tiempo en el mar (TiempoEnElMar) no estuvieron asociados con el resultado para el tratamiento de referencia (florfenicol en la alimentación). Sin embargo, hubo un término de interacción significativo con el peso del pez para el tratamiento con florfenicol inyectable, lo que indica que dicho tratamiento fue menos efectivo en los peces más grandes. No hubo interacción significativa para los tratamientos con oxitetraciclina. Esto es concordante con los hallazgos de Price et al. (2016), quienes mostraron que el tratamiento con florfenicol en la alimentación fue menos efectivo en peces más grandes, aunque no hubo un efecto significativo del peso para los tratamientos con oxitetraciclina. Sin embargo, el estudio de Price se relacionó con las granjas de salmón del Atlántico, mientras que nuestros resultados mostraron un efecto del peso en la trucha arcoíris, pero no en el salmón del Atlántico.

Ni la mortalidad durante las primeras cuatro semanas en el mar (MortalidadSalmonesJovenes) ni la cantidad de días desde la última vacuna contra la piscirickettsiosis (TiempoDesdeVacuna) se asociaron con el resultado. Se requiere una exploración en mayor profundidad, con medidas más robustas sobre la calidad de los salmónes jóvenes y datos más completos sobre la vacunación, para evaluar el impacto de la calidad de los salmónes jóvenes y de la vacunación en la efectividad del tratamiento.

Variables relacionadas al grupo de hipótesis 3 (factores de manejo)

De manera similar a los hallazgos en el salmón del Atlántico, el tratamiento antimicrobiano contra la piscirickettsiosis en la trucha arcoíris fue significativamente menos efectivo cuando la mortalidad anterior al tratamiento debido a piscirickettsiosis y a causas desconocidas fue más alta. Una reducción en la mortalidad por piscirickettsiosis de 1 desviación estándar al momento del tratamiento podría predecir una reducción de la mortalidad en 41%. A diferencia de lo que pasa con el salmón del Atlántico, el tiempo (unidades térmicas acumuladas) desde el inicio del brote al comienzo del tratamiento no tiene un efecto significativo sobre el resultado del tratamiento, y tampoco hubo una interacción significativa entre el tipo de tratamiento y el tiempo al tratamiento.

En la trucha arcoíris, la proporción de otras jaulas en el centro que fueron tratadas antes del comienzo del tratamiento (PreCoberturaCentro) no se asoció con el resultado, pero la proporción de otras jaulas en el centro que fueron tratadas durante el período de seguimiento (PostCoberturaCentro) se vio asociada negativamente con el resultado. Esto sugiere que los tratamientos a nivel de centros fueron más efectivos que los tratamientos en jaulas individuales. La cobertura anterior al tratamiento no tuvo un efecto en el resultado, lo que sugiere que las jaulas de trucha arcoíris pueden ser menos sensibles a la presión de infección desde su ambiente que lo que son las jaulas de salmón del Atlántico. Esto se soporta con la ausencia de una asociación entre el resultado y los indicadores de presión de infección local (consulte la discusión más adelante para el grupo de hipótesis 4).

Las interrupciones breves de la provisión diaria de alimento medicado no parecieron tener un efecto en los resultados del tratamiento para la trucha arcoíris. La cantidad de tratamientos repetidos no parece estar asociada con el resultado. Aunque duraciones más extensas de tratamiento parecen reducir la mortalidad

atribuida a la piscirickettsiosis durante el período de seguimiento, estos beneficios aparentes se deberían comparar contra los costos y las potenciales consecuencias adversas de un mayor nivel de uso de antimicrobianos. Como se notó para el salmón del Atlántico, se garantiza que se realizará una evaluación más en profundidad de las confusiones potenciales (como la dosis de antimicrobianos).

Variables relacionadas con el grupo de hipótesis 4 (factores ambientales)

Como ya se observó con el salmón del Atlántico, la temperatura media del mar durante el período de seguimiento (TemperaturaSeguimiento) se asoció positivamente con el resultado para todos los tipos de tratamiento además de la oxitetraciclina inyectable. En este último caso, el aumento de la temperatura del mar se asoció con una mayor eficacia del tratamiento.

Interesantemente, ni la presión de infección de piscirickettsiosis desde centros vecinos infectados (PresiónInfecciónÁrea) ni la presión de infección local desde otras jaulas infectadas en el mismo centro (PresiónInfecciónCentro) se asociaron con la efectividad del tratamiento antimicrobiano contra la piscirickettsiosis en la trucha arcoíris.

Hallazgos clave del estudio

Una de las razones principales para realizar estudios epidemiológicos como este es obtener conocimiento que soporte el desarrollo de recomendaciones prácticas para reducir la ocurrencia y el impacto de enfermedades infecciosas. A continuación, se enumeran resultados relacionados con las decisiones y prácticas de manejo que pueden mejorar la efectividad del tratamiento antimicrobiano contra la piscirickettsiosis en los salmones de cultivo en Chile.

Salmón del Atlántico

Para los productores de salmón del Atlántico, los resultados de este estudio sugieren tres formas prácticas de mejorar la efectividad del tratamiento antimicrobiano contra la piscirickettsiosis:

- **Tratamiento temprano:** comenzar el tratamiento muy cerca al comienzo de un brote de piscirickettsiosis, mientras las tasas de mortalidad siguen siendo bajas, aumentará significativamente la efectividad del tratamiento; esto es especialmente importante cuando se trata con oxitetraciclina en el alimento.
- **Tratamiento sin interrupción:** las interrupciones en la entrega de alimentos medicados (por ejemplo, debido a tormentas), reduce la efectividad del tratamiento.
- **Tratamiento de todas las jaulas infectadas en un centro simultáneamente:** una alta presión de infección de piscirickettsiosis en otras jaulas se asocia con un aumento en la mortalidad. Mientras mayor sea la proporción de jaulas tratadas durante un brote, mejor será la respuesta al tratamiento.

El florfenicol en el alimento parece ser más efectivo que la oxitetraciclina en el alimento, pero la reducción relativa en la mortalidad fue pequeña. La oxitetraciclina inyectable parece ser más efectiva que el florfenicol en la alimentación. Las decisiones sobre qué fármaco utilizar se deberían basar en análisis económicos posteriores

Trucha arcoíris

Para los productores de trucha arcoíris, los resultados de este estudio sugieren cuatro formas prácticas para mejorar la efectividad del tratamiento antimicrobiano contra la piscirickettsiosis:

- **Tratamiento temprano:** comenzar el tratamiento pronto después del inicio de un brote de piscirickettsiosis, mientras las tasas de mortalidad aún son bajas, aumentará significativamente la efectividad del tratamiento.

- **Tratamiento más duradero si se usa en forma oral:** la efectividad del tratamiento aumenta con duraciones más extensas de tratamiento.
- **La oxitetraciclina inyectable es más efectiva que otros tipos de tratamiento:** las formas inyectables de oxitetraciclina parecen ser más efectivas que las preparaciones en el alimento de ambos florfenicol u oxitetraciclina.
- **Aprender de la experiencia de otras empresas y centros:** después del ajuste de los efectos de otras variables, los tratamientos antimicrobianos fueron más efectivos en algunas empresas y centros más que en otros; esta variación sugiere que existen factores importantes en las empresas y en los sitios que no han sido capturados en este estudio, y existe un alcance para que otras empresas y centros mejoren si se pueden identificar y compartir las buenas prácticas.

Antes de que estos hallazgos del estudio se puedan transformar en recomendaciones de manejo concretas, es importante entender cómo se ajustan dentro de un contexto de producción. El análisis económico que se enfocó en los beneficios financieros en vez de en la reducción de las tasas de mortalidad, y el modelamiento para evaluar el impacto de las recomendaciones en la mortalidad del ciclo completo y el uso de antimicrobianos, serán valiosos para tomar decisiones informadas acerca de la adopción de los resultados del modelo.

5.2 Características del diseño y los métodos del estudio

5.2.1 Visión general del enfoque

Los estudios sobre efectividad antimicrobiana normalmente toman la forma de pruebas controladas aleatorizadas o estudios de cohorte prospectivos. Aunque las pruebas controladas aleatorizadas se consideran como las que entregan la evidencia de mejor calidad, rara vez se realizan en un escenario de acuicultura comercial debido a los altos costos y a la reticencia de las empresas a participar en un estudio donde la ubicación aleatoria a un tratamiento inferior (o a ningún tratamiento) puede resultar en pérdidas de la producción. Los estudios de cohorte prospectivos son adecuados como una forma de estudio observacional, pero los costos de reclutamiento y recolección de datos usando medios tradicionales a menudo limitan el tamaño de la muestra, con las consecuentes limitaciones sobre la potencia y el alcance del estudio.

Este estudio se basa en el análisis de un conjunto de datos muy exhaustivo manejado de manera segura en la plataforma de investigación PIISAC, que se desarrolló específicamente para dar soporte a la investigación epidemiológica de relevancia para la industria acuícola chilena. Las empresas acuícolas con operaciones en Chile entregan voluntariamente sus datos a PIISAC e incluyen datos sobre tratamientos antimicrobianos, y muchos factores de riesgo que pueden relacionarse con la efectividad de estos tratamientos. Los sistemas de software de las empresas entregan los datos directamente (como Fishtalk y Mercatus), con una resolución temporal (diaria) y espacial (a nivel de jaula) muy fina. PIISAC entrega una capacidad sin precedentes para realizar investigaciones epidemiológicas eficientemente y a una escala que no sería posible con métodos tradicionales que requieren el uso intensivo de recursos para la recolección de datos.

En este estudio, aprovechamos de los datos detallados desagregados y basamos nuestro análisis en brotes definidos de piscirickettsiosis, identificados en la base de una definición clara el caso de un brote. En este respecto, nuestro diseño se diferenció de estudios anteriores en que se basó en los eventos de tratamiento más que en los eventos de brote (Price et al 2016). Nuestro enfoque nos permite examinar factores de manejo importantes, como el tiempo transcurrido desde el inicio del brote al comienzo del tratamiento. También nos permite usar una medida continua (tasa de mortalidad) para el resultado de la efectividad del tratamiento durante los períodos de seguimiento de extensión variable, en vez de tomar un solo punto en el tiempo (que es algo arbitrario) para medir el éxito del tratamiento como un resultado dicotómico ("éxito" o "fracaso"). Aunque es analíticamente más complejo, este enfoque hace un uso pleno de los datos. Además (como se

describe en la sección 0,1), este enfoque se puede extender para examinar otros resultados medidos a lo largo del período de brote completo.

El estudio de Price et al (2016) se basó en el conjunto de datos INTESAL, que permitió la examinación de tres factores de riesgo a lo largo de un período de 12 meses para 2014 jaulas. El breve período de estudio significó que se pudieron incluir pocos ciclos de producción completos. El uso de la plataforma de investigación en este estudio significó que se pudieron incluir más de 30 factores de riesgo y otras covariables en el modelo, cubriendo un período que va desde agosto de 2003 hasta mayo de 2018 (casi 15 años) y 7484 ciclos completos de corrales.

Dado el objetivo de evaluar la efectividad del tratamiento antimicrobiano, elegimos medir resultados durante el período que va desde el comienzo del tratamiento hasta su resolución (o censura), para enfocarnos en los efectos inmediatos del tratamiento antimicrobiano sobre la mortalidad atribuida a la piscirickettsiosis. Consideramos que este es el mejor período sobre el cual medir efectos del tratamiento, aunque los impactos de otras decisiones y prácticas de manejo pueden medirse de mejor manera durante el período completo del brote.

5.2.2 Fuentes potenciales de sesgo

Todos los estudios epidemiológicos incluyen el potencial de error, y es importante entender los tipos de error que pueden ocurrir en estudios como este, que se basa en datos generados por la industria. Este estudio se realizó poco después de que se desarrolló la plataforma de investigación PIISAC. En este momento, solo 7 de las 21 empresas que operaban en Chile eran participantes de la plataforma de investigación, y estas empresas pueden no ser representativas de la industria completa. Por esta razón, los resultados no pueden ser fácilmente extrapolados a la industria completa. Aunque la participación limitada actualmente limita la validez externa de los análisis usando PIISAC, este problema se superará con la participación de otras empresas; es completamente factible que todas las empresas pudieran estar involucradas en la plataforma de investigación, por lo que análisis futuros se podrían realizar en un conjunto de datos completo de toda la industria. Los resultados presentados aquí deberían considerarse como resultados preliminares, que se actualizarán a medida que datos adicionales (desde otras empresas) estén disponibles para su análisis.

Entre las empresas que actualmente participan en la plataforma de investigación, todos los centros y jaulas se incluyeron en el análisis a menos que errores u omisiones de datos los excluyeran desde el conjunto de lados. Este nivel de inclusión tiene dos beneficios importantes: elimina la posibilidad de un sesgo de selección a nivel de centro o de jaula, y entrega un tamaño de muestra muy grande, con la consecuente reducción del error aleatorio, y un aumento en la potencia para detectar asociaciones significativas entre factores de riesgo y resultados.

La exclusión de registros incompletos o inválidos (ilógicos) es una fuente potencial de sesgo. Este estudio tuvo un ejemplo extremo en el que una empresa se excluyó del análisis porque sus registros diarios completos no estuvieron disponibles en una forma que se ajustara al análisis. En general, la tasa de errores y omisiones de datos en el resto del conjunto de datos fue relativamente baja.

La mayor fuente potencial de error en este estudio es la mala clasificación de mortalidad atribuida a la piscirickettsiosis. La clasificación de mortalidad en las bases de datos de la empresa generalmente se basa en el examen clínico por parte del personal de la empresa responsable por el manejo diario del centro. Los signos clínicos de la piscirickettsiosis no son patognomónicos, y tampoco son siempre evidentes sin una necropsia. Por lo tanto, es razonable suponer que la mala clasificación de mortalidad sí ocurre; sin embargo, no pudimos determinar la extensión de la mala clasificación, el coeficiente de diagnósticos falsos positivos y los falsos negativos de piscirickettsiosis, y si es que la mala clasificación de la mortalidad está relacionada a las diferentes exposiciones que se están estudiando. La mala clasificación de exposiciones y resultados puede crear

incertidumbre y sería útil realizar un estudio de validación para estimar la sensibilidad y especificidad del diagnóstico clínico de piscirickettsiosis por parte de personal de la empresa.

5.2.3 Aplicación de enfoques teóricos de la información

En este estudio, hemos usado un enfoque "teórico de la información" a las pruebas de hipótesis científicas y para obtener inferencias desde modelos estadísticos. Este enfoque se basa en el desarrollo a priori de múltiples hipótesis biológicamente plausibles acerca de las relaciones causales entre exposiciones (factores de riesgo) y resultados de interés. La clasificación de modelos estadísticos (uno para cada hipótesis) usando la selección de modelos AIC entrega una forma robusta de cuantificar el nivel de evidencia en soportes de cada modelo. Cuando se soportan múltiples modelos, el promedio de los modelos permite que las inferencias se basen en todos los modelos soportados y no solo en uno.

El enfoque teórico de la información difiere de los enfoques estadísticos tradicionales en cuanto a las pruebas de hipótesis nulas y los enfoques de construcción de modelos paso a paso. Se adapta bien al análisis de conjuntos de datos exhaustivos, como los de la plataforma de investigación PIISAC. En particular, explícitamente se basa en conocimiento existente (a través del desarrollo de hipótesis) y permite que se desarrollen modelos relativamente complejos que entregan medidas sobre el efecto de numerosas exposiciones (factores de riesgo), habiendo tomado en cuenta los efectos de otras variables.

6 Otros enfoques potenciales al análisis

El conjunto de datos obtenidos desde las empresas y manejado en la plataforma de investigación PIISAC es rico y complejo. Por lo tanto, se podrían investigar numerosas preguntas relacionadas con la efectividad y el uso óptimo de tratamientos antimicrobianos contra la piscirickettsiosis. A su vez, hay muchas alternativas para el diseño y los métodos analíticos que hemos seleccionado para este estudio. Estos enfoques alternativos tienen mérito, pero no se podrían realizar bajo el alcance de este proyecto y con los recursos y el tiempo disponibles. Sin embargo, documentamos aquí enfoques adicionales y alternativos que hemos considerado y que se pueden usar en el futuro.

6.1 Alternativas al diseño del estudio

Esta sección resume algunos diseños alternativos del estudio para evaluar la efectividad del tratamiento antimicrobiano. Incluye algunos de los asuntos y opciones consideradas en el transcurso de este proyecto y los enfoques tomados por otros investigadores.

6.1.1 Enfoque en eventos de tratamiento en vez de en brotes

Un enfoque alternativo usado en estudios anteriores es enfocarse en cada ocurrencia de tratamiento contra la piscirickettsiosis, independiente del nivel de mortalidad anterior al tratamiento (Price et al 2016). Esto no es poco razonable, pero el análisis luego está anclado al evento de tratamiento (el resultado de la decisión de manejo) en vez de en la situación de enfermedad. Además, un enfoque de este tipo no puede realizar comparaciones entre brotes tratados y brotes no tratados. Aunque este análisis se enfocó en los brotes tratados, vale la pena notar que una gran proporción de los brotes de piscirickettsiosis no son tratados con medicamentos antimicrobianos. Los análisis basados en brotes se pueden extender para comparar resultados entre brotes tratados y no tratados. En general, y como se mencionó en la sección 0, creemos que enfocarnos en los brotes de piscirickettsiosis permite un análisis más rico y un uso más completo de los datos disponibles.

6.1.2 Definiciones alternativas de un brote de piscirickettsiosis

No hay una definición estándar de un brote de piscirickettsiosis. Al igual que con todas las definiciones de caso en estudios epidemiológicos y programas de control de enfermedades, la definición tiene implicancias (en cuanto a la sensibilidad y especificidad de la detección de casos) para los objetivos del estudio o del programa. Se podrían aplicar definiciones alternativas de lo que constituye el comienzo y el fin de un brote, junto con las "reglas" analíticas para detectar brotes en un conjunto de datos. Estas alternativas incluyen cambios a la ventana temporal durante la cual se considera una mortalidad elevada para marcar el comienzo del brote y la tasa de mortalidad "umbral" que diferencia un brote de un caso de referencia.

6.1.3 Elección de medida de resultado para efectividad antimicrobiana

Al igual que otros autores, seleccionamos la mortalidad posterior al tratamiento como la medida de efectividad de este. Sin embargo, los resultados de mortalidad se pueden medir y calcular de diferentes maneras. Elegimos incluir mortalidades atribuidas a piscirickettsiosis a causas desconocidas en nuestra medida de resultados. Otros han elegido incluir mortalidades por toda causa una vez que se ha declarado un brote de piscirickettsiosis. Claramente, ocurre una mala clasificación de mortalidades debido a que la mayoría de las muertes de peces no se investigan mediante diagnósticos de laboratorio, y a que la precisión de la clasificación de mortalidad por parte del personal del centro de cultivo es imperfecta. Se requieren más conocimiento acerca de la validez de la clasificación de mortalidad para determinar la mejor medida de mortalidad atribuida a piscirickettsiosis.

Independiente de cuáles categorías de clasificación de mortalidad se usen, los datos del conteo de mortalidad se pueden usar de diferentes formas para generar una medida de resultado para la efectividad antimicrobiana. Creemos que la tasa de mortalidad durante un período de seguimiento definido es la medida más útil, pero hay alternativas que incluyen definiciones de "éxito" y "fracaso" del tratamiento.

Un análisis en mayor profundidad de este conjunto de datos también podría explorar resultados alternativos a la mortalidad atribuida a la piscirickettsiosis, como el tiempo de recurrencia de un brote de piscirickettsiosis (usando métodos de análisis de supervivencia) y la duración de los brotes de piscirickettsiosis. Si hubiera datos adicionales disponibles, la evaluación de resultados económicos podría entregar resultados útiles para los gerentes de producción y de sanidad. Sin embargo, requeriría una recolección adicional de datos para producir resultados significativos.

6.1.4 Período durante el cual se miden los resultados

Elegimos medir los resultados durante un período de seguimiento desde el comienzo del tratamiento hasta la resolución del brote. Se usaron medidas basadas en tasas para dar cuenta de períodos de seguimiento con diferentes extensiones. Las alternativas incluyen un período de seguimiento de extensión fija, como 21 días (Price et al 2016), el período de brote completo (Jakob et al 2014) o el ciclo de producción completo. Consideramos que el uso de un período fijo es algo arbitrario y tiene menos capacidad de capturar la dinámica de la respuesta al tratamiento. La medición de resultados durante el brote completo tiene méritos pero, dado el enfoque en el efecto del tratamiento antimicrobiano, consideramos que el período posterior al tratamiento es el más idóneo para este estudio. De manera similar, los resultados medidos durante el ciclo de producción completo son importantes, pero reflejan todos los factores asociados con la ocurrencia y el impacto de la piscirickettsiosis, por lo que se vuelve difícil identificar el grado al que los resultados del ciclo completo se atribuyen a los efectos del tratamiento antimicrobiano.

6.1.5 Investigación adicional de tratamientos repetidos dentro de un brote

Aunque dimos cuenta de los tratamientos repetidos en nuestro enfoque de modelamiento, el uso de tratamientos repetidos para manejar un solo brote de piscirickettsiosis se podría investigar en mayor profundidad dando cuenta de cada tratamiento, por separado, en el análisis.

6.2 Exploración de variables explicativas adicionales

Algunos factores de riesgo potenciales resaltados tras consulta con las partes interesadas no se investigaron en el estudio actual; sin embargo, estas variables son importantes y se deberían considerar cuando surjan oportunidades en el futuro. Esta sección describe estos otros factores de riesgo y explica por qué no se incluyeron en el análisis actual.

La dosis de antimicrobianos y el uso de aditivos en los alimentos no se retuvieron como variables explicativas en el trabajo de modelamiento, debido a que los formatos de registro variaron significativamente entre empresas y los datos disponibles no se pudieron considerar como lo suficientemente confiables para soportar una transformación de los diferentes registros de dosis a una escala común. Se requieren un trabajo adicional con los proveedores de datos para armonizar estas medidas en el conjunto de datos combinado.

El tipo y la composición del alimento no se consideraron en el análisis debido a su compleja relación con una cantidad de otras variables. Los productores estimaron que estos parámetros eran menos importantes que indicadores clave, como la mortalidad previa al tratamiento.

La abundancia de caligus y el estrés asociado con el tratamiento contra el caligus se sospecha son factores importantes en el fracaso del tratamiento antimicrobiano. Las variables de proxy (relacionadas al tratamiento contra el caligus) usadas en este estudio no se asociaron con el resultado. El vínculo entre la coinfección con

caligus y el impacto de la piscirickettsiosis se explorará durante el estudio adicional planificado dentro del proyecto actual, usando los conteos de caligus reportados en la base de datos SIFA.

No hubo registros de la ocurrencia de florecimiento de algas disponibles en las bases de dato de manejo de las empresas. Debido a que el florecimiento de algas influye en las estrategias de alimentación y en la salud general de los peces en los centros afectados, podría ser posible realizar una exploración adicional obteniendo tales datos desde otras bases de datos existentes, como la base de datos de INTESAL.

El impacto de la presión de depredadores en la efectividad del tratamiento contra la piscirickettsiosis no se pudo investigar en este estudio. La mortalidad atribuida a depredadores reportada en los datos de las empresas fue mayoritariamente cero para períodos de brote definidos para este estudio, y no se pudo usar como una estimación de la presión de depredadores. Debido a que los avistamientos de depredadores se registran mediante otros métodos (por ejemplo, en hojas de cálculo) en los centros de producción, sería posible investigar este factor en mayor profundidad agregando tal información al conjunto de datos.

De manera similar, no se consideró la turbidez porque hubo mediciones de turbidez disponibles solo para 174 (3,2%) de los brotes en el conjunto de datos.

Una gran cantidad de grupos de peces no tenía registros de vacunación contra piscirickettsiosis, ya sea en la fase en el mar o en la fase en agua dulce. Clasificamos estos registros como "no vacunados" para el análisis; sin embargo, creemos que la falta de registros se atribuyó más a una falta de datos o a estándares inconsistentes del registro de datos ("datos ocultos"). El porcentaje de grupos de peces para los que hubo registros de vacunaciones contra piscirickettsiosis disponibles varió entre 6% y 80%, dependiendo de la empresa. Los datos disponibles se investigarán más a fondo para construir un conjunto de datos más exhaustivo y para investigar el impacto de la vacunación contra la piscirickettsiosis.

Estimamos la presión de infección de piscirickettsiosis local en un centro dado desde el riesgo de mortalidad semanal atribuido a la piscirickettsiosis en centros vecinos, y la distancia marina entre centro y sus vecinos usando una estimación de kernel gaussiano. Una estimación alternativa se podría basar en el método de interpolación de la película de jabón (Wood et al 2008). Este método produce mapas de calor que dan cuenta de la presencia de líneas costeras y entrega una medida de la presión de infección que no depende de la proximidad de centros vecinos, aunque el error estándar de la estimación de la presión de infección sí lo hace. Este método es computacionalmente intensivo, y sería necesario generar estimaciones de presión de infección a una resolución temporal relativamente fina (diaria o semanal).

Finalmente, estimamos la presión de infección de piscirickettsiosis dentro del centro como la proporción de otras jaulas en el centro que experimentaron un brote de piscirickettsiosis. Esto no dio cuenta de la distribución espacial real de las jaulas, que podrían estar a cientos de metros de la jaula de interés. Idealmente, se podría calcular una presión de infección ajustada si estuvieran disponibles las coordenadas espaciales exactas de la jaula.

Varias de las variables explicativas aplicadas en el modelo tienen un componente temporal. Por ejemplo, la tasa de mortalidad atribuida a la piscirickettsiosis se calculó para los 21 días anteriores al tratamiento en vez de usar, por ejemplo, 22 días antes, para coincidir con el período de tres semanas aplicado en la definición del comienzo y final de un brote. No hay una razón sobre por qué esta elección de ventana es óptima en cuanto a la precisión de la predicción. Se podría utilizar la minería de datos para seleccionar de manera óptima una ventana temporal para cada variable explicativa en el futuro; esto podría entregar conocimiento adicional sobre la dependencia temporal entre las variables explicativas y el resultado del modelo.

6.3 Enfoques estadísticos alternativos

6.3.1 Bosques aleatorios

En el corazón del enfoque teórico de la información hacia la definición del modelo está el concepto del promedio de modelos. Un método de promedio de modelo es la agregación de arranque (Conocido como "en sacado"), como se destacan el trabajo de Burnham & Anderson (2002). Los métodos de en sacado se aplican a otras clases de modelo, más notoriamente a árboles de regresión, en cuyo caso se llaman bosques aleatorios. Los bosques aleatorios entregan un método parsimonioso de selección de variables y ponderación de importancia. Al igual que otras formas de promediado de modelo con él en sacado reduce las estimaciones de varianza del modelo y ayuda a evitar el sobreajuste. Los enfoques de bosque aleatorio son computacionalmente más fáciles y reproducibles, pero con el precio de la interpretabilidad, dado que el enfoque permite las interacciones entre términos clave. No supone, a priori, un subconjunto de modelos factibles, entonces se ubica de mejor manera para descubrir interacciones entre variables que no son inmediatamente aparentes en un espacio de modelo grande.

Debido a que la interpretabilidad de los resultados y la facilidad para comprenderlos por parte de quienes no son estadistas fueron considerados requerimientos clave para el estudio actual, decidimos usar el enfoque teórico de la información en vez de enfoques estadísticos alternativos como los bosques aleatorios. Sin embargo, la exploración de tales alternativas podría entregar conocimientos adicionales sobre el tema de estudio, y siguen siendo opciones posibles para estudios futuros usando la plataforma de investigación.

6.3.2 Estimaciones bayesianas

La implementación del modelamiento lineal aplicado aquí depende de un marco de trabajo frecuentista de modelo de regresión de efectos mixtos lineales generalizados (GLMER) (Bates et al 2014). Sin entrar en un debate más general acerca de cuál método entrega las estimaciones, predicciones e intervalos de confianza más precisos, los métodos bayesianos son atractivos porque entregan más información sobre estimaciones de parámetros con poco esfuerzo, al suponer distribuciones anteriores para los parámetros en el modelo (cuando estos anteriores son principalmente no informativos). Además, los métodos bayesianos han mejorado significativamente en los últimos años en cuanto su velocidad y usabilidad con los puertos "rstanarm" (Muth et al 2018) e INLA (Wang et al 2018) de la siguiente generación de motores de análisis bayesianos que pasan hacia el ambiente estadístico R. Sin embargo, la velocidad de estas implementaciones se provocó antes de este análisis y se encontró que tenía un retraso en comparación con GLMER. Debido a que los tiempos de computación del modelo ya eran significativos dados los efectos aleatorios, a la cantidad de parámetros y a la distribución binomial negativa supuesta de los resultados, solo se utilizaron estimaciones GLMER en este estudio.

6.4 Análisis extendidos

6.4.1 Análisis de gráfica de control

Como se destacó antes en esta sección, se aplicó una cantidad de "reglas" para definir el inicio y el final de un brote. Es evidente, desde el modelamiento en este estudio, que el tratamiento antimicrobiano temprano y, por ende, la detección temprana de brotes son críticos para el uso efectivo de antimicrobianos. Sin embargo, aparte de la experiencia de la industria, no hay ninguna razón para que las reglas que actualmente se aplican para definir un brote de piscirickettsiosis sean óptimas para permitir la detección temprana y la respuesta de manejo. Las gráficas de control son una opción que puede ser explorada de manera útil para detectar, tan pronto sea posible, cuando un proceso de producción (como el nivel de mortalidad atribuida a piscirickettsiosis) excede los límites "normales". Una vez que se declara que el proceso está fuera de los límites normales (o sea, un brote), se puede considerar la intervención para controlar el proceso. Por ejemplo,

se puede rastrear la tasa de mortalidad diaria y controlar los límites establecidos, tales como un límite superior de 3 errores estándar por sobre la tasa de mortalidad diaria media durante períodos que no sean de brote. Se pueden utilizar diferentes reglas para indicar la "improbabilidad" estadística. Por ejemplo, el límite de 3 errores estándar representa la mortalidad diaria atribuida a piscirickettsiosis que es más extrema que 0,13% de las observaciones históricas. De manera similar, se puede agregar una regla al conjunto de reglas que identifica cuando ha habido siete días consecutivos de una mayor mortalidad diaria atribuida a la piscirickettsiosis (incluso si permanecen por debajo del límite de control), que tiene solo una probabilidad de 0,78%, suponiendo una distribución simétrica de las tasas diarias de mortalidad atribuidas a la piscirickettsiosis. El marco de trabajo es lo suficientemente flexible para incorporar la dependencia temporal entre observaciones a través de gráficos CUSUM o EWMA (promedio móvil exponencialmente ponderado). Se pueden agregar reglas adicionales al conjunto de reglas que incorporen respuestas a la gráfica de control totalizadas al nivel de centro, así como respuestas a la gráfica de control específica de las jaulas. Esto es importante porque la aplicación de tratamientos antimicrobianos a lo largo del centro por parte de los manipuladores se puede accionar debido a datos a nivel de centro basados en la mortalidad atribuida a la piscirickettsiosis.

6.4.2 Análisis económico

Independiente de cuál conjunto de reglas se considere (por ejemplo, la tasa de mortalidad promedio semanal de 0,1% por un período de 3 semanas para la resolución del brote, o un límite de gráfica de control), la identificación de brotes será imperfecta; habrá declaraciones innecesarias de un brote (o sea, falsos positivos) y fallas en la declaración de algunos brotes lo suficientemente pronto (o sea, falsos negativos). Estos falsos positivos y falsos negativos tienen costos reales: un falso positivo significaría que un tratamiento antimicrobiano (entre otras intervenciones posibles) se aplicará de manera innecesaria, mientras que un falso negativo permitiría que un brote crezca en intensidad antes de que ocurra su detección, con el consecuente aumento de la mortalidad atribuida a la piscirickettsiosis la reducción en la efectividad del tratamiento antimicrobiano (notando los resultados de este análisis). Esto sugiere que un conjunto de reglas se puede escoger para declarar cuándo ocurre un brote, de forma de minimizar los costos totales producidos por los falsos positivos y los falsos negativos.

De manera similar, uno puede identificar cuál estrategia de tratamiento antimicrobiano maximizará los resultados posteriores a este (o sea, minimizar la mortalidad posterior al tratamiento). Aunque encontramos que, para el salmón del Atlántico, el florfenicol aplicado a lo largo de todo un centro reduce de manera significativa la mortalidad atribuida a la piscirickettsiosis posterior al tratamiento, esta puede no ser la solución más rentable. Si, por ejemplo, la aplicación general de oxitetraciclina en un centro completo es significativamente más barata que el florfenicol, y la mortalidad atribuida a la piscirickettsiosis es solo marginalmente más alta, la oxitetraciclina sería el tratamiento más rentable. En este escenario, la aplicación general de florfenicol a lo largo de un centro aún puede ser útil cuando la tasa de mortalidad atribuida a la piscirickettsiosis a lo largo del centro es alta, aplicando la oxitetraciclina cuando la tasa de mortalidad atribuida a la piscirickettsiosis es baja. Un valor económico de la mortalidad atribuida a la piscirickettsiosis se puede calcular fácilmente, por lo que se puede considerar un enfoque costo-beneficio para valorar diferentes opciones de tratamiento. Este enfoque se ha aplicado a otros problemas de bioseguridad, como la vigilancia para la fiebre aftosa (Kompas et al 2017). El enfoque de costo-beneficio se puede extender a través de la teoría moderna del portafolio para considerar riesgos (por ejemplo, la distribución de potenciales pérdidas de producción; para ver un ej., consulte Akter et al [2015] para una aplicación en protección medioambiental), y así seleccionar una estrategia de alto retorno y bajo riesgo.

Un beneficio adicional de adoptar un enfoque costo-beneficio para identificar los conjuntos de regla del brote y una estrategia de tratamiento que sea costo-efectiva es que también se pueden incluir costos que no son del mercado, asociados con cualquiera de las posibles externalidades negativas que resulten de la producción salmonera. Primero, hay un costo ambiental potencialmente significativo asociado con el impacto de los antimicrobianos en el ambiente marino local. Estos costos ambientales se pueden valorizar a través de valorizaciones distintas a las del mercado usando, por ejemplo, el modelamiento de elección (Akter et al

[2015]). Segundo, la resistencia a los antimicrobianos es un riesgo real para la producción y, por ende, las estrategias para prevenir o evitar esta resistencia pueden tener un valor económico real. En esta instancia, se puede aplicar un antimicrobiano menos efectivo si su ruta en la mitigación de la piscirickettsiosis es significativamente diferente del tratamiento más efectivo (como se ha hecho para la resistencia a los herbicidas; por ejemplo, Beltran et al [2012]).

Al adoptar un enfoque costo-beneficio, se prefieren predicciones precisas de resultados del modelo a un modelo que resalta de manera significativa la relación entre los resultados del modelo y las variables explicativas. Esto implica que puede ser útil tener un enfoque de minería de datos (porque ya tenemos un entendimiento de los factores claves a través del modelamiento de regresión presentado en este estudio), y que, bajo la teoría moderna del portafolio, la incertidumbre en las estimaciones de parámetros se puede incorporar en la función costo-beneficio a través de métodos de agregación de arranque (Efron & Tibshirani 1994).

7 Conclusión

Los impactos combinados de la piscirickettsiosis y un nivel muy alto de uso de antimicrobianos representan una amenaza seria a la rentabilidad y sustentabilidad de la industria acuícola salmonera chilena. La experiencia de la industria y los estudios anteriores sugieren que el tratamiento antimicrobiano contra la piscirickettsiosis no siempre es efectivo, aunque se sabe relativamente poco acerca de los factores que influyen sobre la efectividad del tratamiento. Este estudio se aprovecha de un conjunto de datos exhaustivo generado por la industria para evaluar la efectividad del tratamiento antimicrobiano contra la piscirickettsiosis en Chile. Demuestra la potencia, eficiencia y múltiple utilidad de la plataforma de investigación PIISAC para dar soporte a estudios epidemiológicos en la industria acuícola salmonera chilena.

Los resultados de este análisis demuestran la naturaleza multifactorial de la piscirickettsiosis en los salmones de cultivo y la necesidad de considerar numerosos factores de riesgo al desarrollar modelos estadísticos para evaluar la asociación entre tratamiento antimicrobiano y mortalidad postratamiento. Sin embargo, a pesar de esta complejidad, pareciera que varios factores de riesgo influyen de manera significativa en la efectividad del tratamiento una vez que los efectos de otras variables se toman en cuenta. Lo que es más importante, muchos resultados clave se relacionan a decisiones o prácticas de manejo e indican formas prácticas y accionables en las que la efectividad del tratamiento se podría mejorar.

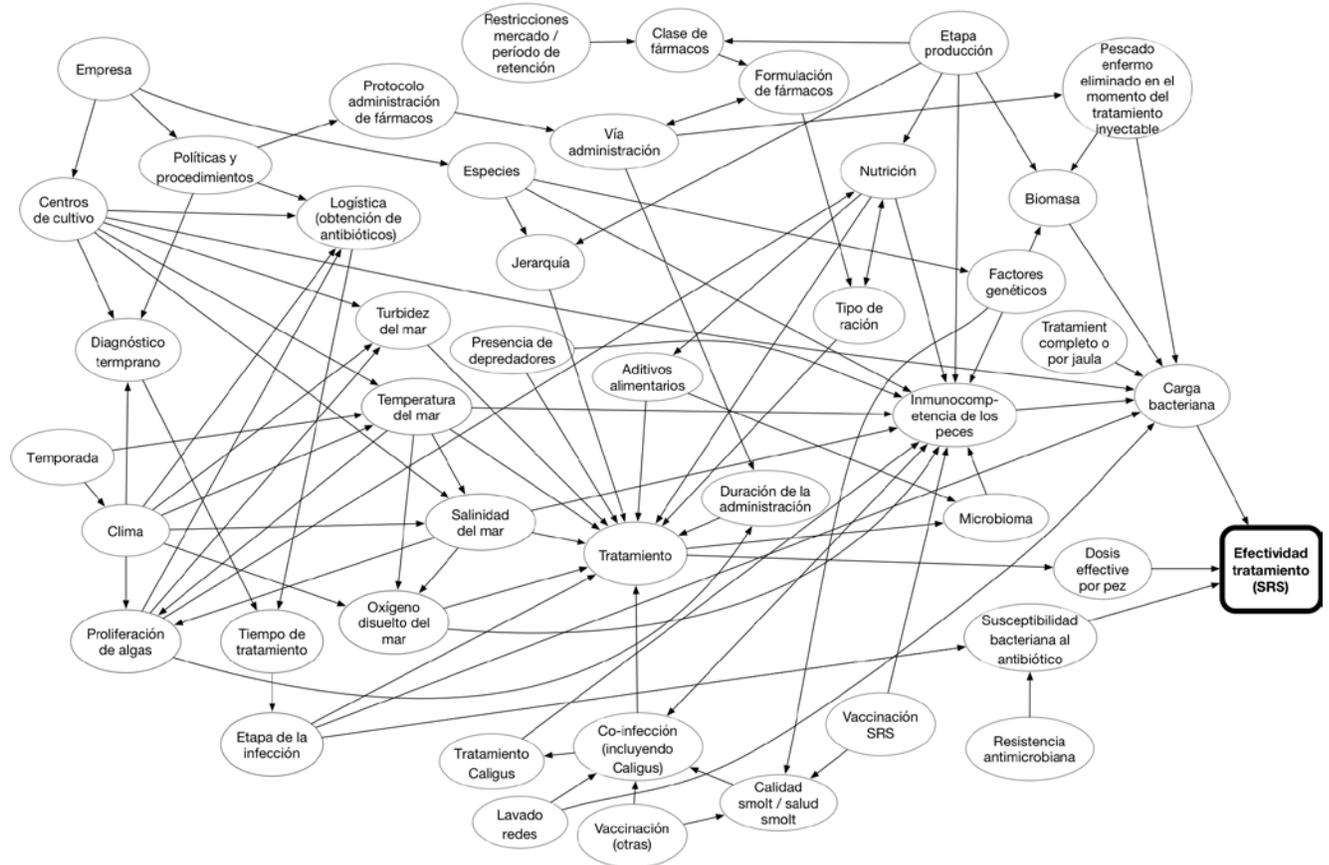
La fortaleza de estos resultados está soportada por el gran conjunto de datos y la exhaustividad del análisis; sin embargo, existen algunas salvedades importantes. Primero, aunque los resultados son altamente válidos para las empresas participantes (sobre cuyos datos se realizaron los análisis), estas empresas pueden no ser representativas de la industria. Entonces, estos resultados no se pueden extrapolar fácilmente a la industria en su totalidad. Segundo, se espera que la precisión de la medición y el registro de la exposición y las variables de resultado (incluyendo la clasificación de mortalidad atribuida a piscirickettsiosis en la ausencia de un diagnóstico de laboratorio) sean imperfectos. Tales errores pueden introducir un sesgo en los resultados (y debilitar la validez interna del estudio), pero el grado y la dirección de cualquier sesgo no se puede determinar fácilmente. Sin embargo, este análisis se basa en los datos de empresas que representan los mejores datos disponibles actualmente.

Finalmente, recomendaciones sólidas acerca del uso de tratamientos antimicrobianos contra la piscirickettsiosis deberían considerar los hallazgos de este estudio en conjunto con otras investigaciones, además de análisis económicos que consideren los costos y externalidades del tratamiento. El trabajo futuro puede enfocarse en la evaluación de resultados económicos y en el desarrollo de herramientas de soporte a la toma de decisiones basadas en las formas económicamente óptimas de utilizar los tratamientos antimicrobianos.

Agradecimientos

Esta investigación es parte del Programa para la Gestión Sanitaria en la Acuicultura, financiada por el Fondo de Inversión Estratégica (FIE) del gobierno de Chile. Los autores agradecen encarecidamente el entusiasmo y la visión mostradas por las empresas que participan actualmente de la plataforma de investigación PIISAC: Australis Seafoods, Blumar Seafoods, Camanchaca, Multiexport Foods, Salmones Antártica, Salmones Aysén y Ventisqueros. Otras empresas han contribuido en gran manera a las discusiones acerca de los factores de riesgo e hipótesis, y son bienvenidos a participar en la plataforma de investigación en el futuro. Queremos agradecer a los representantes de INTESAL-SalmonChile por su conocimiento técnico y sus aportes a las reuniones y talleres. Agradecemos el apoyo del profesor Michael Ward (Universidad de Sydney) y del profesor Mark Stevenson (Universidad de Melbourne) por entregar la revisión por pares del diseño del estudio y los métodos estadísticos. Berta Contreras (Conecta SpA) ha entregado un apoyo invaluable al crear una relación entre Ausvet y la industria acuícola salmonera en Chile. Finalmente, agradecemos el incansable esfuerzo de muchas personas de Sernapesca, quienes han apoyado este proyecto y otros financiados por FIE.

Apéndice 1 Diagrama causal



Notas: Las flechas en un gráfico acíclico dirigido (DAG) representan efectos causales directos de una variable sobre otra, sean perjudiciales o protectores. Las flechas y su dirección se basan en conocimiento a priori. Los DAG son acíclicos porque las variables causales preceden a sus efectos; esto significa que ninguna ruta causal puede formar un bucle cerrado.

Figura 20 Gráfico acíclico dirigido que muestra las rutas causales propuestas entre las variables explicativas y la efectividad del tratamiento antimicrobiano contra la piscirickettsiosis

Apéndice 2 Variables de exposición y explicativas usadas en el modelamiento multivariable

Nombre de la variable	Unidad	Tipo de variable	Definición
Confusores potenciales incluidos en el modelo mínimo			
Región	na	Categórica	Región (2 niveles: X y XI)
IDBarrio	na	Categórica	Identificador de barrio incluido como efecto aleatorio
IDEmpresa	na	Categórica	Identificador de empresa incluido como un efecto aleatorio cruzado, pero tratado como un efecto fijo debido a la pequeña cantidad de niveles (6)
IDCentro	na	Categórica	Identificador de centro incluido como efecto aleatorio
IDJaula	na	Categórica	Identificador de jaula incluido, efecto aleatorio
Longitud	Grados decimales	Continuo	Longitud del centro
Latitud	Grados decimales	Continuo	Latitud del centro
RangoBrote	na	Ordinal	Clasificación del brote dentro del ciclo de producción (por ejemplo, 1°, 2°, 3°)
FechaInicio	na	Ordinal tratado como continuo	Día calendario de inicio del brote
Grupo de hipótesis 1: factores del tratamiento antimicrobiano			
TipoTratamiento	na	Categórica	Combinación de ingrediente activo (3 niveles: florfenicol, oxitetraciclina y fluoroquinolonas de primera generación) y vía de administración (2 niveles: en alimento e inyectables)
DuraciónTratamiento	Días	Continuo	Duración del tratamiento (puede incluir días en los que se interrumpió el tratamiento)
ClasificaciónTratamiento	na	Ordinal	Clasificación del tratamiento dentro del trote (por ejemplo, 1°, 2° 3°)
Interacción TipoTratamiento x DuraciónTratamiento	na	na	Una interacción específica entre TipoTratamiento y DuraciónTratamiento
Grupo de hipótesis 2: factores nivel-peces			
Pre-otrasEnfermedades	Conteo de mortalidad por día-pez	Continuo	Tasa de mortalidad atribuida a causas infecciosas distintas a la piscirickettsiosis, no mediadas por los 21 días anteriores al comienzo del tratamiento

Nombre de la variable	Unidad	Tipo de variable	Definición
Post-OtrasEnfermedades	Conteo de mortalidad por día-peíz	Continuo	Tasa de mortalidad atribuida a causas infecciosas distintas a la piscirickettsiosis durante el período de seguimiento posterior al tratamiento
TiempoDesdeÚltimoTratamientoCaligus	Días	Continuo	Cantidad de días entre el último tratamiento contra caligus y el comienzo del tratamiento antimicrobiano; proxy para carga de caligus
CantidadTratamientoCaligus	Días	Continuo	Cantidad de días en los que se administró tratamiento contra el caligus entre el comienzo del ciclo y el comienzo al tratamiento; proxy para carga de caligus
DensidadBiomasa	kg/m ³	Continuo	Densidad de biomasa al comienzo del tratamiento
TiempoEnElMar	Unidades-térmicas-acumuladas	Continuo	Cantidad de unidades térmicas acumuladas entre el comienzo del ciclo y el comienzo del tratamiento
PesoPez	gramos	Continuo	Peso promedio del pez al comienzo del tratamiento
Interacción PesoPez × DuraciónTratamiento			Una interacción específica entre TipoTratamiento con PesoPez
MortalidadSalmonesJóvenes	Conteo de mortalidad por día-peíz	Continuo	Tasa de mortalidad por toda causa durante los primeros 28 días en el mar
TiempoDesdeVacuna	Días	Continuo	Cantidad de días entre la última vacunación contra la piscirickettsiosis el comienzo del tratamiento; proxy para inmunidad específica de la piscirickettsiosis
VariabilidadPeso	gramos	Continuo	Coefficiente de variación del peso, estimado en un punto en el tiempo durante el ciclo de producción. Incluido en el análisis post hoc debido a datos faltantes

Grupo de hipótesis 3: factores de manejo

ContinuidadTratamiento	na	Continuo	Proporción de días de tratamiento reales (cantidad de días cuando el fármaco se administró efectivamente dividido por el total de días de tratamiento)
TiempoAlTratamiento	Unidades-térmicas-acumuladas	Continuo	Cantidad de unidades térmicas acumuladas entre el comienzo del brote y el comienzo del tratamiento
Interacción TipoTratamiento x TiempoAlTratamiento	na	na	Una interacción específica entre TipoTratamiento y TiempoAlTratamiento
MortalidadPorSRSPre-tratamiento	Conteo de mortalidad por día-peíz	Continuo	Tasa de mortalidad atribuida a la piscirickettsiosis durante los 21 días anteriores al comienzo del tratamiento

Nombre de la variable	Unidad	Tipo de variable	Definición
MortalidadDesconocidaPre-tratamiento	Conteo de mortalidad por día-pep	Continuo	Tasa de mortalidad por causa desconocida durante los 21 días anteriores al comienzo del tratamiento
Pre-coberturaCentro	Proporción	Continuo	Proporción de jaulas dentro de un centro tratadas con antimicrobianos durante los 21 días anteriores al comienzo del tratamiento
Post-coberturaCentro	Proporción	Continuo	Proporción de jaulas dentro de un centro tratadas con antimicrobianos durante el período de seguimiento posterior al tratamiento
TratamientosRepetidos	na	Catagórica	Cantidad total de cursos de tratamiento aplicados durante este brote
Grupo de hipótesis 4: factores ambientales			
TemperaturaAntes	°C	Continuo	Temperatura promedio del mar durante los 21 días anteriores al inicio del tratamiento
TemperaturaSeguimiento	°C	Continuo	Temperatura promedio del mar durante el período de seguimiento
Interacción TipoTratamiento x TemperaturaSeguimiento	na	na	Una interacción específica entre TipoTratamiento y TemperaturaSeguimiento
Turbidez	puntajes z	Continuo	Turbidez media del agua para los 21 días anteriores al comienzo del tratamiento. Incluido en el análisis post hoc debido a datos faltantes
Oxígeno	mg/L	Continuo	Concentración media de oxígeno disuelto para los 21 días anteriores al inicio del tratamiento. Incluido en el análisis post hoc debido a datos faltantes
Salinidad	Partes por billón	Continuo	Salinidad media para los 21 días anteriores al comienzo del tratamiento. Incluido en el análisis post hoc debido a datos faltantes
MortalidadDepredador	Mortalidad por día-pep	Continuo	Tasa de mortalidad por depredador promediada durante los 21 días anteriores al inicio del tratamiento
PresiónInfecciónÁrea	Mortalidad por día-pep	Continuo	Presión de infección por piscirickettsiosis del barrio, calculada como el promedio de densidad ponderado de la tasa de mortalidad por piscirickettsiosis en todos los centros marinos, dentro de un radio de 20 kilómetros. La ponderación tiene una relación inversa con las distancias marinas en tres centros. Las tasas de mortalidad por piscirickettsiosis se extrajeron desde las declaraciones de mortalidad de SIFA para obtener datos desde todos los centros activos. Calculado durante los 21 días anteriores al comienzo del tratamiento
PresiónInfecciónCentro	Mortalidad por día-pep	Continuo	Presión local de infección por piscirickettsiosis calculada como tasa de mortalidad por

Nombre de la variable	Unidad	Tipo de variable	Definición
			piscirickettsiosis en otras jaulas desde el mismo centro, por los 21 días anteriores al comienzo del tratamiento

na = no aplica

Apéndice 3 Descripción completa de las hipótesis utilizadas en este estudio

Hipótesis	Estudios que investigaron directa o indirectamente esta hipótesis	Razonamiento apoyando esta hipótesis
Grupo de hipótesis 1: factores de tratamiento antimicrobianos		
Ciertos antimicrobianos son más efectivos que otros para tratar los brotes de piscirickettsiosis	Price et al (2016) Henríquez et al (2016) Mora (2010)	Los antimicrobianos difieren en términos del modo de acción sobre el patógeno y la distribución de la resistencia contra ellos. La flumequina y el ácido oxolínico son fármacos bactericidas relativamente antiguos con más resistencia reportada en <i>P. salmonis</i> que los medicamentos bacteriostáticos como el florfenicol y la oxitetraciclina. Un estudio previo encontró una mayor tasa de fracaso de florfenicol sobre los tratamientos con oxitetraciclina.
Los antimicrobianos son más efectivos si se administran por inyección que en la alimentación.	Norambuena-Subiabre et al (2018)	Un estudio previo sugirió que la oxitetraciclina se elimina más lentamente cuando se administra por inyección intraperitoneal. Además, se sospecha que no todos los peces absorben la dosis efectiva del fármaco cuando se administra en la alimentación (ya que depende de factores como el apetito de los peces, su nivel de actividad y la jerarquía de alimentación).
La administración oral de antimicrobianos es más efectiva si la duración del tratamiento es mayor	Ninguno	Un tratamiento más prolongado aumentaría la probabilidad de que más peces ingieran suficiente fármaco para alcanzar la dosis de tratamiento efectiva.
Grupo de hipótesis 2: factores a nivel de pez		
La presencia de otras enfermedades infecciosas disminuye la efectividad del tratamiento antimicrobiano	Gaggero et al (1995)	La co-infección con otros patógenos se ha propuesto como un factor de riesgo para la infección. Al comprometer la inmunocompetencia de los peces, también puede afectar la efectividad del tratamiento.
El tratamiento antimicrobiano es menos efectivo si la carga de caligus es alta	Lhorente et al (2014)	Estudios previos mostraron que la infestación de caligus aumentó la susceptibilidad de los peces a la infección por <i>P. salmonis</i> . Se sospecha que los caligus también podrían disminuir la efectividad del tratamiento.
El tratamiento antimicrobiano es más efectivo en peces más	Price et al (2016)	Un estudio previo mostró un aumento en el fracaso del tratamiento en peces más grandes

Hipótesis	Estudios que investigaron directa o indirectamente esta hipótesis	Razonamiento apoyando esta hipótesis
pequeños que en peces más grandes	Larenas et al (1997)	para florfenicol. Otro estudio mostró que la mortalidad era más alta cuando la densidad de la biomasa era más alta en la trucha.
El tratamiento antimicrobiano es más efectivo en ciclos de producción con mayor calidad de alevines	Yáñez et al. (2013) Jakob et al (2014) Eggset et al (1997)	Se sospecha que la calidad de Alevines influye en la resistencia de los peces a las enfermedades en la fase de agua de mar. La genética juega un papel en la resistencia a las enfermedades, pero muchos otros factores pueden contribuir, como el estrés del transporte y la adaptación al agua de mar.
El tratamiento antimicrobiano es más efectivo cuando la última vacunación para piscirickettsiosis es más reciente	Jakob et al (2014) Leal & Woywood (2007) Marshall et al (2007) Tobar et al (2011)	Existe evidencia de un efecto protector decreciente y variable de la vacunación, que puede superarse parcialmente administrando un refuerzo en el mar. Hasta el momento ningún estudio investigó formalmente la relación entre la vacunación para piscirickettsiosis y el tratamiento.

Grupo de hipótesis 3: factores de gestión

El tratamiento antimicrobiano es más efectivo si el tratamiento comienza cuando la mortalidad atribuida a piscirickettsiosis es relativamente baja	Price et al (2016)	Un estudio previo mostró que el tratamiento fue más efectivo cuando se administró mientras la mortalidad era aún baja, presumiblemente porque es menos efectivo en peces que ya se encuentran en la fase clínica de la enfermedad.
El tratamiento antimicrobiano es más efectivo si el tratamiento comienza poco después de que comience el brote del piscirickettsiosis	Ninguno	El tiempo de tratamiento se correlaciona con la tasa de mortalidad pre-tratamiento, la que se demostró ser un factor de riesgo significativo para el éxito del tratamiento (ver arriba). Sin embargo, el tiempo de tratamiento puede ser importante por sí mismo y un útil factor de manejo adicional, ya que los brotes con comportamientos diferentes (más leves o más graves) pueden alcanzar mortalidad crítica en diferentes momentos.
El tratamiento antimicrobiano es más efectivo cuando se aplica simultáneamente a todas las jaulas en un sitio	Ninguno	El tratamiento de todas las jaulas en un sitio puede disminuir en general la presión de infección y, por tanto, aumentar la efectividad del tratamiento.
El tratamiento antimicrobiano es más efectivo cuando la variabilidad dentro de la jaula en pesos de peces es menor	Ninguno	La gran variabilidad dentro de la jaula puede interferir con la dosificación del fármaco y los patrones de alimentación, por lo que se reduce la probabilidad de que más peces en la jaula alcancen niveles terapéuticos de fármacos durante un tiempo suficiente.

Hipótesis	Estudios que investigaron directa o indirectamente esta hipótesis	Razonamiento apoyando esta hipótesis
El tratamiento antimicrobiano es más efectivo cuando hay menos días de interrupción de la administración de antimicrobianos	Ninguno	Las interrupciones del tratamiento pueden evitar que la concentración del fármaco alcance niveles terapéuticos durante un tiempo suficiente. Las interrupciones ocurren debido a factores no controlados como tormentas. Sin embargo, se podría implementar una mejor gestión de las reservas de medicamentos.
Grupo de hipótesis 4: factores ambientales		
Los tratamientos antimicrobianos son menos efectivos cuando la temperatura del mar es más cálida. Este efecto puede depender del tipo de tratamiento.	Namdari et al (1998) Cusack et al (2002) Larenas et al (1997) Lannan & Fryer (1994)	Un estudio previo sugirió que la eliminación de drogas es más rápida cuando la temperatura del mar es más cálida. Por lo tanto, la concentración del fármaco puede no alcanzar niveles terapéuticos durante un tiempo suficiente. Sin embargo, también se demostró que la supervivencia de <i>P. salmonis</i> se ve afectada negativamente por la temperatura del agua. Además, los peces pueden volverse anoréxicos cuando la temperatura desciende a valores bajos, y esto puede afectar la efectividad del tratamiento oral. Por último, las fluctuaciones en la temperatura del agua han sido propuestas como un factor de riesgo más que la temperatura misma. Aunque la temperatura puede afectar la efectividad del tratamiento de varias maneras, se incluye solo como un factor de confusión.
Los tratamientos antimicrobianos orales son menos efectivos cuando la turbidez del mar es más alta	Branson & Nieto Díaz-Munoz (1991)	Un aumento en la turbidez del agua puede actuar tanto como un factor estresante en los peces y reducir la ingesta de alimento, por lo tanto, disminuir la efectividad del tratamiento. Además, se demostró que la proliferación de algas no tóxicas era un factor de riesgo para los brotes de piscirickettsiosis.
El tratamiento antimicrobiano es menos efectivo cuando la salinidad es más alta	Gaggero et al (1995) Lannan & Fryer (1994) Bravo (1994)	Se sospecha que la salinidad desempeña un papel, ya que los brotes se producen principalmente en agua salada, aunque también se ha informado sobre la infección con <i>P. salmonis</i> en agua dulce. El trabajo previo mostró que el patógeno se inactiva rápidamente en agua dulce.
El tratamiento antimicrobiano es menos efectivo cuando la mortalidad relacionada con los depredadores es mayor	Ninguno	Como se mencionó para la turbidez del agua, un aumento en los ataques de los depredadores puede actuar como un factor estresante en los peces y reducir el consumo

Hipótesis	Estudios que investigaron directa o indirectamente esta hipótesis	Razonamiento apoyando esta hipótesis
El tratamiento antimicrobiano es menos efectivo ante la mayor presión de infección de otras jaulas infectadas con piscirickettsiosis en el mismo sitio	Rees et al (2014)	de alimento, y por lo tanto disminuir la efectividad del tratamiento. Un estudio previo mostró una correlación espacial positiva entre la mortalidad por piscirickettsiosis en granjas de hasta 10 km de distancia. Al aumentar la presión de infección en la jaula, la infección en otras jaulas del mismo sitio podría disminuir la efectividad del tratamiento.
El tratamiento antimicrobiano es menos efectivo ante la mayor presión de infección de los sitios infectados con piscirickettsiosis en un radio de 20 km	Rees et al (2014)	Un estudio previo mostró una correlación espacial positiva entre la mortalidad por piscirickettsiosis en granjas de hasta 10 km de distancia. Al aumentar la presión de infección en la jaula, la infección en sitios vecinos podría disminuir la efectividad del tratamiento.

Referencias

- Akaike H (1974). A new look at the statistical model identification. *IEEE Transactions on Automatic Control* 19(6):716–723, <http://ieeexplore.ieee.org/document/1100705/> (Consultado el 17 de junio de 2018).
- Akter S, Kompas T & Ward MB (2015). Application of portfolio theory to asset-based biosecurity decision analysis. *Ecological Economics* 117:73–85, <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0921800915002670> (Consultado el 17 de junio de 2018).
- Almendras FE, Carmen Fuentealba I & Fuentealba I (1997). Salmonid rickettsial septicemia caused by *Piscirickettsia salmonis*: a review. *Disease of Aquatic Organisms* 29(2):137–144.
- Bates D, Mächler M, Bolker B & Walker S (2014). *Fitting linear mixed-effects models using lme4*, <http://arxiv.org/abs/1406.5823>.
- Beltran JC, Pannell DJ & Doole GJ (2012). Economic implications of herbicide resistance and high labour costs for management of annual barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*) in Philippine rice farming systems. *Crop Protection* 31(1):31–39, <http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2011.09.012>.
- Branson EJ & Nieto Díaz-Munoz D (1991) Description of a new disease condition occurring in farmed coho salmon, *Oncorhynchus kisutch* (Walbaum), in South America. *Journal of Fish Diseases* 14, 147–156.
- Bravo S (1994) Piscirickettsiosis in freshwater. *Bulletin of the European Association of Fish Pathology* 14, 137–138.
- Burnham KP & Anderson DR (2002). *Model selection and multimodel inference: a practical information-theoretic approach*, 2nd ed, Springer-Verlag, Heidelberg, <https://www.springer.com/gp/book/9780387953649>.
- Cusack RR, Groman DB, Jones SRM (2002). Rickettsial infection in farmed Atlantic salmon in eastern Canada. *The Canadian Veterinary Journal* 43(6):435–440.
- Dohoo IR, Martin W & Stryhn HE (2003). *Veterinary epidemiologic research*, VER Inc.
- Efron B & Tibshirani R. (1994). *An introduction to the bootstrap*, Chapman & Hall, <https://www.crcpress.com/An-Introduction-to-the-Bootstrap/Efron-Tibshirani/p/book/9780412042317> (accessed 17 June 2018).
- Eggset G, Mortensen A, Johansen LH & Sommer A (1997) Susceptibility to furunculosis, coldwater vibriosis, and infectious pancreatic necrosis (IPN) in post-smolt Atlantic salmon (*Salmo salar*) as a function of smolt status by seawater transfer. *Aquaculture* 158, 179–191.
- Evensen O & Evensen Ø (2016). Immunization strategies against *Piscirickettsia salmonis* infections: review of vaccination approaches and modalities and their associated immune response profiles. *Frontiers in Immunology* 7:482, <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2016.00482/full> (Consultado el 15 de febrero de 2017).
- Fryer JL & Hedrick RP (2003). *Piscirickettsia salmonis*: a gram-negative intracellular bacterial pathogen of fish. *Journal of Fish Diseases* 26(5):251–262.

- Gaggero A, Castro H & Sandino AM (1995) First isolation of *Piscirickettsia salmonis* from coho salmon, *Oncorhynchus kisutch* (Walbaum), and rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), during the freshwater stage of their life cycle. *Journal of Fish Diseases* 18: 277–280. doi:10.1111/j.1365-2761.1995.tb00303.x
- Henríquez P, Kaiser M, Bohle H, Bustos P & Mancilla M (2016). Comprehensive antibiotic susceptibility profiling of Chilean *Piscirickettsia salmonis* field isolates. *Journal of Fish Diseases* 39(4):441–448.
- Jakob E, Stryhn H, Yu J, Medina MH, Rees EE, Sanchez J & St-Hilaire S (2014). Epidemiology of piscirickettsiosis on selected Atlantic salmon (*Salmo salar*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) salt water aquaculture farms in Chile. *Aquaculture* 433:288–294.
- Kompas T, Ha PV, Nguyen HTM, East I, Roche S & Garner G (2017). Optimal surveillance against foot-and-mouth disease: the case of bulk milk testing in Australia. *Australian Journal of Agricultural and Resource Economics* 61:515–538, <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/1467-8489.12224> (Consultado el 17 de junio de 2018).
- Lannan C & Fryer J (1994) Extracellular survival of *Piscirickettsia salmonis*. *Journal of Fish Diseases* 17, 545–548
- Larenas JJ, Contreras J, Oyanedel S, Morales MA & Smith P (1997) Efecto de la densidad poblacional y temperatura en truchas arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) inoculadas con *Piscirickettsia salmonis*. *Arch Med Vet* 29:113–119.
- Leal J & Woywood D (2007) Piscirickettsiosis en Chile: avances y perspectivas para su control. *Salmociencia* 2, 34–42.
- Lhorente JP, Gallardo JA, Villanueva B, Carabaño MJ & Neira R (2014) Disease resistance in Atlantic salmon (*Salmo salar*): coinfection of the intracellular bacterial pathogen *Piscirickettsia salmonis* and the sea louse *Caligus rogercresseyi*. *PLOS ONE* 9(4): e95397. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095397>
- Maisey K, Montero R & Christodoulides M (2016). Vaccines for piscirickettsiosis (salmonid rickettsial septicaemia, SRS): the Chile perspective. *Expert Review of Vaccines* 16(3):1–14, <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/14760584.2017.1244483> (Consultado el 15 de febrero de 2017).
- Marshall S, Conejeros P, Zahr M, Olivares J, Gomez F, Cataldo P & Henríquez V (2007) Immunological characterization of a bacterial protein isolated from salmonid fish naturally infected with *Piscirickettsia salmonis*. *Vaccine* 25, 2095–2102.
- Mora J (2010) Antibiogram analyses strains of *Piscirickettsia salmonis* isolated from salmonid and trout, reared in the region of Los Rios, Los Lagos and Aysen during 2007– 2008. Bachelor Veterinary Sciences Thesis. Universidad de Concepcion, Facultad de Ciencias Veterinarias, Chile
- Muth C, Oravec Z & Gabry J (2018). User-friendly Bayesian regression modeling: a tutorial with rstanarm and shiny. *The Quantitative Methods for Psychology* 14(2):99–119, www.tqmp.org/RegularArticles/vol14-2/p099/p099.pdf (Consultado el 17 de junio de 2018).
- Namdari R, Abedini S, Albright L & Law FCP (1998). Tissue distribution and elimination of oxytetracycline in sea-pen cultured Chinook salmon, *Oncorhynchus tshawytscha*, and Atlantic salmon, *Salmo salar*, following medicated-feed treatment. *Journal of Applied Aquaculture* 8(1):39–51, www.tandfonline.com/doi/abs/10.1300/J028v08n01_03 (Consultado el 15 de junio de 2018).

- Norambuena-Subiabre L., González MP & Contreras-Lynch S (2018). Oxytetracycline depletion and withdrawal time estimation following intraperitoneal administration in three species from Chilean salmon farming. *Aquaculture Research* 49(2):593–602.
- Price D, Stryhn H, Sánchez J, Ibarra R, Tello A & St-Hilaire S (2016). Retrospective analysis of antibiotic treatments against piscirickettsiosis in farmed Atlantic salmon *Salmo salar* in Chile. *Diseases of Aquatic Organisms* 118(3):227–235.
- R Development Core Team (2008). *R: a Language and environment for statistical computing*, www.r-project.org (Consultado el 17 de junio de 2018).
- Rees EE, Ibarra R, Medina M, Sanchez J, Jakob E, Vanderstichel R & St-Hilaire S (2014). Transmission of *Piscirickettsia salmonis* among salt water salmonid farms in Chile. *Aquaculture* 428:189–194.
- Rozas M & Enríquez R (2014). Piscirickettsiosis and *Piscirickettsia salmonis* in fish: a review. *Journal of Fish Diseases* 37(3):163–188.
- Sernapesca (Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura) (2017). *Informe Sobre Uso de Antimicrobianos en la Salmonicultura Nacional*, www.sernapesca.cl/sites/default/files/informe_sobre_uso_de_antimicrobianos_2017_0.pdf (Consultado el 13 de junio de 2018).
- Sernapesca (Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura) (2018). *Informe Sanitario de Salmonicultura en Centros Marinos: Año 2017*, www.sernapesca.cl (Consultado el 13 de junio de 2018).
- Tobar JA, Jerez S, Caruffo M, Bravo C, Contreras F, Bucarey SA & Harel M (2011) Oral vaccination of Atlantic salmon (*Salmo salar*) against salmonid rickettsial septicaemia. *Vaccine* 29, 2336–2340.
- Wang X, Ryan YY & Faraway JJ (2018). *Bayesian regression modeling with INLA*, Chapman and Hall/CRC, <https://www.taylorfrancis.com/books/9781351165761> (Consultado el 17 de junio de 2018).
- Watts JEM, Schreier HJ, Lanska L & Hale MS (2017). The rising tide of antimicrobial resistance in aquaculture: sources, sinks and solutions. *Marine Drugs* 15(6), www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28587172 (Consultado el 13 de junio de 2018).
- Wood SN, Bravington MV & Hedley SL (2008). Soap film smoothing. *Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Statistical Methodology)* 70(5):931–955, <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1467-9868.2008.00665.x> (Consultado el 17 de junio de 2018).
- Yáñez JM, Bangera R, Lhorente JP, Oyarzún M & Neira R (2013) Quantitative genetic variation of resistance against *Piscirickettsia salmonis* in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 414–415, 155–159.
- Zuur AF, Ieno EN & Elphick CS (2010), A protocol for data exploration to avoid common statistical problems. *Methods in Ecology and Evolution*, 1: 3-14. doi:10.1111/j.2041-210X.2009.00001.x