

**ORIGINAL ARTICLE / ARTÍCULO ORIGINAL****FIRST REPORT OF VIRAL DISEASES IN RAINBOW TROUT *ONCORHYNCHUS MYKISS* IN PERU****PRIMER REPORTE DE ENFERMEDADES VIRALES EN LA TRUCHA ARCO IRIS *ONCORHYNCHUS MYKISS* EN EL PERÚ**Teresa Castro<sup>1\*</sup>; César Peña<sup>2</sup> & Enrique Mateo<sup>1</sup><sup>1</sup> Laboratorio de Patobiología y Sanidad Acuática, Instituto del Mar del Perú (IMARPE), Esquina Gamarra y General Valle S/N, Chucuito, Callao, Perú<sup>2</sup> Área de Investigación Experimental de Patobiología Acuática, Departamento de Acuicultura, Universidad Nacional Federico Villarreal, Francia 726, Miraflores, Lima, Perú  
tcastro@imarpe.gob.pe

The Biologist (Lima), 2014, 12 (1), jan-jun: 67-75.

**ABSTRACT**

The presence of viral diseases in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*, is reported for the first time in Peru. Detection was performed during a study of two epizootic outbreaks with high mortality which occurred in April 2007, and in which 54 rainbow trout fry from two trout farms, one located in Quichuay-Junín and the other in Lake Titicaca-Puno, were studied. Parasitological, bacteriological and histopathological studies were performed. In the parasitological and bacteriological studies no infectious agent was found. In the histopathological study, pathognomonic lesions of infectious haematopoietic necrosis (IHN) and infectious pancreatic necrosis (IPN), diseases of viral etiology, were evident. IHN was found in Junin, while IPN was detected in Puno, departments with the highest trout production in the country.

**Keywords:** histopathology, IHN, IPN, Peru, rainbow trout, viral diseases.**RESUMEN**

Se reporta por primera vez, la presencia de enfermedades virales en la trucha arco iris *Oncorhynchus mykiss*, en el Perú. La detección se realizó, durante la investigación de dos brotes epizooticos con altas mortalidades, ocurridos en el mes de abril de 2007 en el cual se estudiaron 54 alevines de truchas arco iris de dos piscigranjas ubicadas, una en Quichuay-Junín y la otra en el Lago Titicaca-Puno. Se realizaron estudios parasitológico, bacteriológico e histopatológico. En los estudios parasitológico y bacteriológico no se encontró ningún agente infeccioso. En el estudio histopatológico se evidenció lesiones patognomónicas de la infección hematopoyética necrótica (IHN) y la infección pancreática necrótica (IPN), enfermedades de etiología viral. En Junín se halló a la IHN, mientras que en Puno, se encontró a la IPN, siendo estos departamentos, los de más alta producción truchícola del país.

**Palabras clave:** enfermedades virales, histopatología, IHN, IPN, Perú, trucha arco iris.

## INTRODUCCIÓN

La truchicultura en el Perú está creciendo rápidamente (PRODUCE 2010), pero su producción no alcanza probablemente sus niveles óptimos debido a la presencia de patógenos, que ingresan con las ovas y que luego ocasionan brotes agudos y/o crónicos por un inadecuado manejo de las piscigranjas, como comúnmente se ha constatado en otras partes del mundo (Michel 1995, Winton 2001, Bondad-Reantaso *et al.* 2005, Subasinghe 2005). Mundialmente está reconocido que entre los mayores impedimentos que frenan el desarrollo de la acuicultura, las enfermedades infecciosas, constituyen el principal obstáculo que tiene esta actividad para el logro de una producción sostenida y para un comercio estable y exitoso de sus productos. Son por consiguiente las principales responsables de impedir el desarrollo económico y socioeconómico en muchos países del mundo (Subasinghe *et al.* 2001, Faruk *et al.* 2004, Soares *et al.* 2011, Leung & Bates 2013).

De las diversas enfermedades infecciosas; las virales son las que, frecuentemente, causan las mayores pérdidas a la acuicultura y con respecto a los cultivos de truchas la infección hematopoyética necrótica (IHN) y la infección pancreática necrótica (IPN) están consideradas dentro de las más importantes, por las numerosas pérdidas que ocasionan a la producción (Wolf 1988b, Nichol *et al.* 1995, La Patra *et al.* 2001, Chamorro *et al.* 2006). Ambas infecciones virales fueron observadas por primera vez en Norteamérica entre la década de 1940 y 1950 (Rucker *et al.* 1953, Wolf *et al.* 1961, Wolf 1966).

En otros países estas enfermedades producen severas pérdidas económicas, tal es el caso de la IPN que es considerada como una de las infecciones de mayor impacto en el cultivo de salmónidos en la Unión Europea (Roberts & Pearson 2005, Smail *et al.* 2006, Ruane *et al.* 2007), siendo Noruega uno de los países más

afectados de este continente (Anon 2003, Bergheim 2012). Así mismo, en México y Chile, esta infección está causando grandes pérdidas en su producción (Fernández 2005, Salgado-Miranda 2006).

El virus de la IPN, pertenece a la familia Birnaviridae, género Aquabirnavirus, que causa una enfermedad devastadora en salmónidos cultivados (García *et al.* 2011); afecta a peces silvestres y de cultivo, provocando una elevada mortalidad y los sobrevivientes pueden convertirse en portadores asintomáticos, y por lo tanto, en importantes focos de infección (Imajoh *et al.* 2005).

El virus de la IHN, pertenece al género Novirhabdovirus de la familia Rhabdoviridae y es uno de los más graves en salmónidos causando brotes con pérdidas de hasta más de 80%, en criaderos de peces; esto dependiendo de la especie huésped, la cepa de virus y las condiciones ambientales (Nishizawa *et al.* 2006, Mochizuki *et al.* 2009). Debido a su amplia distribución y alta infectividad se le considera una grave amenaza para la industria acuícola mundial; brotes de la enfermedad, han causado importantes pérdidas económicas en el Hemisferio Norte (Bootland & Leong 2011). Es tal la importancia de esta enfermedad que la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE), que agrupa a más de 150 países, la tiene en la lista de enfermedades que deben ser notificadas a esta institución (OIE 2013a).

En el presente trabajo se investigó mediante estudios parasitológico, bacteriológico e histopatológico la causa de dos epizootias, con altas mortalidades, ocurridos en el mes de abril de 2007 en dos piscigranjas ubicadas, una en Quichuay-Junín y la otra en el Lago Titicaca-Puno; reportándose, por primera vez, la presencia de las infecciones virales de la IHN y la IPN en truchas de Perú. Estos hallazgos se realizaron mediante la detección de lesiones patognomónicas en el estudio histopatológico.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Procedencia y periodo del muestreo

La investigación se realizó en el mes de abril de 2007. Se muestrearon dos piscigranjas, una ubicada en Quichuay, Huancayo, Junín, Perú a 2700 msnm, donde el cultivo se realiza en estanques de concreto y se abastecía con las aguas del río Achamayo; y la otra ubicada en Charcas, Lago Titicaca, Puno, Perú a 3810 msnm, donde el cultivo se realiza en jaulas flotantes. La temperatura promedio del agua, durante el muestreo fue de 12°C.

### Procesamiento

El estudio parasitológico, la siembra para el estudio bacteriológico y la fijación para el estudio histopatológico, se realizaron en las mismas instalaciones de cultivo de las piscigranjas. La lectura de las placas de cultivo, el estudio de ictiofonosis, el procesamiento histológico (impregnado en parafina, coloración, montaje) y el estudio histopatológico de las láminas se llevó a cabo en el Área de Investigación Experimental de Patobiología Acuática de la Facultad de Oceanografía, Pesquería, Ciencias Alimentarias y Acuicultura de la Universidad Nacional Federico Villarreal (FOPCA-UNFV).

### Muestra

Para este estudio se emplearon en total, 54 alevines de trucha arco iris *Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792, que estuvieron asociados con problemas de alta mortalidad. Todos los peces empleados estaban moribundos al momento de realizar la disección y la toma de muestra de los órganos y tejidos. Antes de realizar los análisis, se anotó el comportamiento y signos observados en las truchas afectadas (Amlacher 1970, Heil 2009).

### Estudio bacteriológico

Se diseccionaron los peces en forma aséptica y se tomaron muestras de hígado, bazo y riñón, los

cuales fueron sembrados en Agar Tripticasa Soya (TSA) y en Agar Cytophaga (CA). Las placas fueron cultivadas a temperatura ambiente (18°C) (Starliper 2008).

### Estudio parasitológico

La piel, aletas, branquias y órganos internos fueron estudiados minuciosamente con los microscopios estereoscópico y compuesto, en búsqueda de protozoos, helmintos o copépodos parásitos, siguiendo el modelo metodológico de Buchmann & Bresciani (2001). Para el estudio de ictiofonosis, se utilizaron restos de órganos, especialmente de corazón, riñón, hígado y cerebro, que fueron colocados en placas de Petri con solución salina fisiológica, y refrigeradas durante 4-7 días antes de ser observados al microscopio compuesto.

### Estudio histopatológico

Este estudio se ha realizado porque permite detectar en los tejidos, patógenos microscópicos que generalmente escapan de ser hallados con otro tipo de examen y así mismo para estudiar las lesiones que éstos producen; sobre todo para buscar lesiones patognomónicas de infecciones virales, como de IHN y de IPN en la trucha arco iris. Los peces fueron sacrificados empleando uno de los métodos de eutanasia recomendados por Ferguson (2006). Se tomaron muestras de hígado, bazo, riñón (anterior y posterior), corazón, estómago, ciegos pilóricos, intestino (anterior y posterior), cerebro, músculo y branquias. Las muestras se fijaron en formol neutro al 10% y en una proporción de 20 volúmenes de fijador por 1 de muestra. En la preparación de las láminas histológicas; para el deshidratado, parafinado y el corte se siguieron las técnicas descritas por Yasutake & Wales (1983) y para la tinción, los procedimientos recomendados por Luna (1968). El parafinado, corte y coloración de las muestras se realizaron siguiendo los procedimientos recomendados por Luna (1968).

## RESULTADOS

Las truchas analizadas de Quichuay-Junín y Lago Titicaca-Puno, Perú, presentaron aletargamiento, oscurecimiento de la piel y con frecuencia exoftalmia y abdomen distendido. Internamente presentaban el hígado, bazo y riñón, generalmente pálidos y con frecuencia ascitis en la cavidad visceral y el tracto digestivo sin alimentos pero con una sustancia gelatinosa. Diferencialmente, las truchas de Junín presentaban hemorragias petequiales en el mesenterio y la pared muscular de la cavidad peritoneal y las que se examinaron en Puno presentaban múltiples petequias en el área de los ciegos intestinales, y en algunos peces se observó que al presionar el abdomen, salía un mucus blanco amarillento por el ano.

En el estudio bacteriológico, después de un prudencial periodo de incubación de las placas sembradas, no crecieron bacterias en ninguno de los medios empleados. En el estudio parasitológico, no se encontraron protozoos, helmintos o copépodos parásitos; y en el de ictiofonosis, no se encontró ninguna reacción granulomatosa ni espora del protista *Ichthyophonus hoferi* Plehn y Mulow, 1911. Sin embargo, en el estudio histopatológico se revelaron lesiones muy significativas propias de enfermedades virales, detectándose a la IHN en la piscigranja de Quichuay-Junín y a la IPN en cultivos en jaulas flotantes en el Lago Titicaca-Puno.

La determinación de la IHN, se realizó mediante el hallazgo de células granuloeosinofílicas (CGE) necrosadas en la mucosa del tracto intestinal (Fig. 1), especialmente en los ciegos pilóricos y en el intestino anterior adyacente a éstos. En algunas lecturas de láminas, se observaron los hematíes con sus núcleos rectangulares (Fig. 2). También se halló, en varias muestras, necrosis tanto de las células granuloeosinofílicas (CGE) como del tejido hematopoyético del

riñón (Fig. 3). Además, se pudo observar necrosis focal hepática, edema y necrosis intestinal y hemólisis de los vasos sanguíneos del riñón, hígado, bazo, corazón e intestino.

La presencia simultánea de necrosis del tejido pancreático (Fig. 4) y de necrosis del intestino (Figs. 5 y 6), fueron los indicadores para la determinación de la IPN. Entre otras lesiones presentes, se pudo evidenciar en el riñón hemólisis, zonas de congestión, necrosis del tejido hematopoyético, necrosis del endotelio, necrosis hialina y picnosis severa en las células de los túbulos renales. El hígado se observó muy congestionado, con hiperemia, hemorragia, necrosis endotelial en los sinusoides y necrosis severa de los hepatocitos. En el bazo, necrosis del tejido hematopoyético e hiperemia marcada, y en el corazón hemólisis y presencia de núcleos rectangulares.

## DISCUSIÓN

Al realizar los estudios correspondientes para encontrar las causas de las altas mortalidades de más del 80% en las truchas de Junín y Puno, no se encontró agentes causales en los estudios parasitológico y bacteriológico, pero en el estudio histopatológico se encontró lesiones patognomónicas propias de infecciones virales de IHN y de IPN. Consideramos importante destacar que no se realizó el aislamiento en cultivos celulares seguido de su identificación inmunológica o molecular tal como lo señala la OIE (2013b) por no haber en el Perú un laboratorio especializado en virus de peces.

Las lesiones halladas que se emplearon para la determinación de la IHN se basaron en amplios estudios realizados por Parisot & Pelnar (1962), Parisot *et al.* (1965), Yasutake *et al.* (1965), Amend *et al.* (1969, 1973) y de Yasutake (1975). Estos investigadores americanos se percataron que la degeneración y necrosis de las células granuloeosinofílicas presentes en la mucosa del tracto intestinal

(Fig. 1), especialmente en el intestino y los ciegos pilóricos era un signo patognomónico de la IHN.

Igualmente, para la detección de la IPN se basó en la simultánea presencia de necrosis del páncreas (Figs. 4 y 6) y del epitelio intestinal (Figs. 5 y 6), las cuales se consideran patognomónicas (Wood *et al.* 1955, Besse *et al.* 1965, Yasutake 1970, McKnight & Roberts 1976).

Estudios similares de detección viral, basados en las lesiones histopatológicas, fueron realizados en Francia por Besse *et al.* (1965). Las lesiones patognomónicas y típicas de IHN y de IPN, observadas en este estudio (Figs. 1, 3-6), fueron idénticas a las reportadas por Yasutake (1970), McKnight & Roberts (1976), Wolf (1988a) y Ruane *et al.* (2007).

En el estudio de las truchas de Puno, en algunas láminas histológicas se han podido observar núcleos rectangulares en la sangre. En observaciones realizadas por el Doctor Donald Amend, durante sus estudios de doctorado de la enfermedad viral de la infección hematopoyética necrótica (IHN), relacionó esta observación como signo típico de la enfermedad (Mateo, comunicación personal); lo que nos hace sospechar que puede existir una coinfección en el que la presencia de la IPN actúa sobre la IHN disminuyendo su infectividad. Sobre todo sabiendo que cuando se presenta estas coinfecciones, es el virus de la IPN el patógeno dominante sobre el virus de la IHN (Rodríguez & Pérez-Prieto 2007).

Este hallazgo no causa extrañeza, si se considera que ambas infecciones virales se encuentran ampliamente distribuidas en los criaderos de truchas de los Estados Unidos (Parisot *et al.* 1965, Wolf 1988b), país que es el principal proveedor de ovas de trucha de Perú desde hace más de 50 años (Contreras-Aranda *et al.* 2002) y que tiene, además, el antecedente de haber sido el principal distribuidor de estas

infecciones virales hacia países de Asia y Europa (Wolf 1988b) y también a México (Salgado-Miranda 2006) y Chile (Fernández 2005). A estos antecedentes del país proveedor de ovas, se suma el escaso control que existe, en nuestro país, del estado sanitario de los animales y sus semillas (ovas y larvas) que ingresan a nuestro territorio.

La presencia de la IHN en Junín y de la IPN en Puno, dos de las regiones con más alta producción truchícola del Perú, constituyen un serio problema para este cultivo y para el medio natural, porque es muy probable que estas infecciones virales ya estén causando significativas pérdidas económicas en la producción nacional, ya que en muchos de los casos estos animales están siendo afectados por enfermedades secundarias que enmascaran el verdadero problema y que son ignoradas por no tener un programa efectivo de monitoreo de las enfermedades virales de truchas en nuestro país.

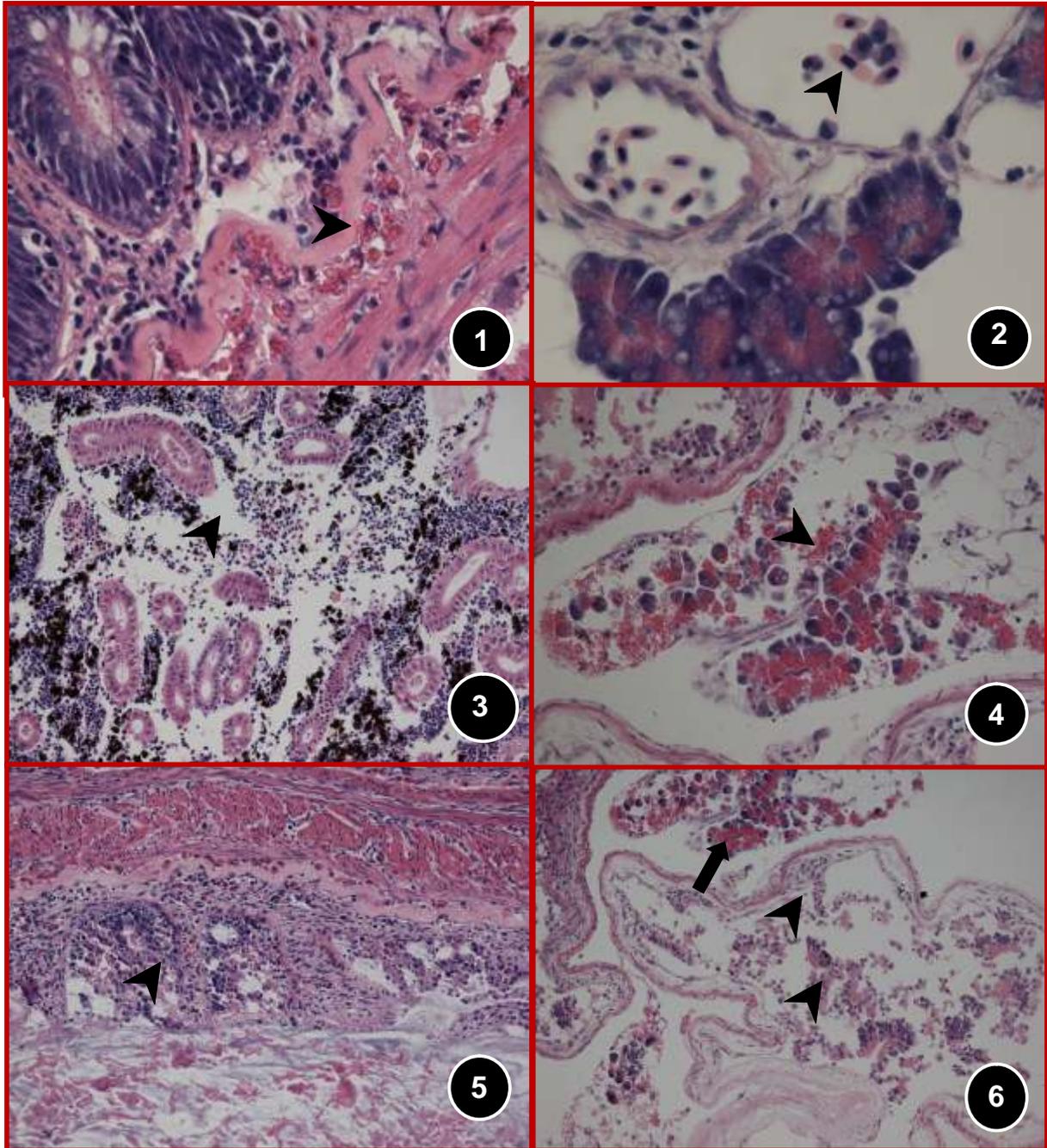
Finalmente, consideramos, que no habiendo hallado literatura científica, que confirme la presencia de estas enfermedades virales en el Perú, ésta sería el primer reporte de su hallazgo en nuestro país.

## **AGRADECIMIENTOS**

Los autores agradecen a José García-Campodónico, por brindarnos las facilidades en la obtención de las muestras.

## **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

Amend, D.F.; Yasutake, W.T. & Mead, R.W. 1969. A hematopoietic virus disease of rainbow trout and sockeye salmon. Transactions of the American Fisheries Society, 98: 796-804.



**Figura. 1.** Necrosis severa de las células granuloeosinofílicas. **Figura. 2.** Núcleos rectangulares de los hematíes en el tejido pancreático. **Figura. 3.** Necrosis severa del tejido hematopoyético renal. **Figura. 4.** Necrosis severa del tejido acinar pancreático. **Figura. 5.** Severa y extensa necrosis del epitelio intestinal. **Figura. 6.** Extensa necrosis de la mucosa de los ciegos pilóricos (cabeza de flecha) y de las células acinares del tejido pancreático (flecha entera).

- Amend, D.F.; Yasutake, W.T.; Fryer, J.L.; Pilcher, K.S & Wingfield, W.H. 1973. *Infectious hematopoietic necrosis (IHN)*. pp. 80-98. In Dill, W.A. (ed.) *Symposium on the major communicable fish diseases in Europe and their control*. EIFAC (European Inland Fisheries Commission). FAO Technical Paper N° 17 (Supp. 2).
- Amlacher, E. 1970. *Textbook of fish diseases*. T.F.H. Publications, New Jersey.
- Anon. 2003. *IPN in salmonids: a review*. A report prepared by the Norwegian Seafood Federation (FHL) & VESO. 115 p.
- Bergheim, A. 2012. Recent growth trends and challenges in the Norwegian aquaculture industry. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 40: 800-807.
- Besse, P.; Levaditi, J.C.; Guillon, J.C. & de Kinkelin, P. 1965. Occurrence of viral diseases in the rainbow trout hatcheries in France. 1<sup>st</sup> Histopathological results. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 126: 543-546.
- Bondad-Reantaso, M.G.; Subasinghe, R.P.; Arthur, J.R.; Ogawa, K.; Chinabut, S.; Adlard, R.; Tan, Z. & Shariff, M. 2005. Disease and health management in Asian aquaculture. *Veterinary Parasitology*, 132: 249-272.
- Bootland, L.M. & Leong, J.C. 2011. *Infectious hematopoietic necrosis virus*. pp. 66-109. In: Woo, P.T.K. & Bruno, D.W. (Eds.), *Fish Diseases and Disorders: Viral, Bacterial and Fungal infections*. CABI Publishing.
- Buchmann, K. & Bresciani, J. 2001. *An introduction to parasitic diseases of freshwater Trout*. DSR Publishers, Frederiksberg. 76 p.
- Contreras-Aranda, A.; Raez, V.M.; Veliz, J. & Bedriñana, M. 2002. *Manual de crianza de truchas en ambientes controlados*. Produce, Huancayo. 79 p.
- Chamorro, C.; Espinoza, J.C.; Soto, K. & Kuznar, J. 2006. Concentration of infectious pancreatic necrosis virus determined flow filtration with exclusion filtration. *Archives of Medicine Veterinary*, 38: 77-82.
- Faruk, M.A.R.; Sarker, M.M.R.; Alam, M.J. & Kabir, M.B. 2004. Economic loss from fish diseases on rural freshwater aquaculture of Bangladesh. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 7: 2086-2091.
- Ferguson, H.W. 2006. *Systemic Pathology of Fish: a text and atlas of normal tissues in teleosts and their responses in disease*. 2<sup>nd</sup> Ed, Scotian Press, London. 366 p.
- Fernández, M.B. 2005. *Estudio epidemiológico del virus de la necrosis pancreática infecciosa en salmones. Tipificación molecular de los distintos serotipos existentes en Chile*. Tesis de Licenciatura en Bioquímica. Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.
- García, I.; Galiana, A.; Falco, A.; Estepa, A. & Pérez, L. 2011. Characterization of an infectious pancreatic necrosis (IPN) virus carrier cell culture with resistance to superinfection with heterologous viruses. *Veterinary Microbiology*, 149: 48-55.
- Heil, N. (Ed). 2009. *National Wild Fish Health Survey – Laboratory Procedures Manual*. 5.0 Ed. U.S. Fish and Wildlife Service, Warm Springs, GA.
- Imajoh, M.; Hirayama, T. & Oshima, S. 2005. Frequent occurrence of apoptosis is not associated with pathogenic infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) during persistent infection. *Fish Shellfish Immunology*, 18: 163-177.
- LaPatra, S.E.; Batts, W.N.; Overturf, K.; Jones, G.N.; Shewmaker, W.D. & Winton, J.R. 2001. Negligible risk associated with the movement of processed rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), from an infectious haematopoietic necrosis virus (IHNV) endemic area. *Journal of Fish Diseases*, 24: 399-408.
- Leung, T.L.F. & Bates, A.E. 2013. More rapid

- and severe disease outbreaks for aquaculture at the tropics: implications for food security. *Journal of Applied Ecology*, 50: 215–222.
- Luna, L.G. 1968. *Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology*. McGraw-Hill Company, New York. 219 p.
- McKnight, I.J. & Roberts, R.J. 1976. The pathology of infectious pancreatic necrosis. I. The sequential histopathology of the naturally occurring condition. *British Veterinary Journal*, 132: 76-85.
- Michel, C. 1995. Health control policies in fish viral diseases. *Veterinary Research*, 26: 369-373.
- Mochizuki, M.; Kim, H.J.; Kasai, H.; Nishizawa, T. & Yoshimizu, M. 2009. Virulence change of infectious hematopoietic necrosis virus against rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* with viral molecular evolution. *Fish Pathology*, 44: 159-165.
- Nichol, S.T.; Rowe, J.E. & Winton, J.R. 1995. Molecular epizootiology and evolution of the glycoprotein and non-virion protein genes of infectious hematopoietic necrosis virus, a fish rhabdovirus. *Virus Research*, 38: 159-173.
- Nishizawa, T.; Kinoshita, S.; Kim, W.S.; Higashi, S. & Yoshimizu, M. 2006. Nucleotide diversity of Japanese isolates of infectious hematopoietic necrosis virus (IHNV) based on the glycoprotein gene. *Diseases of Aquatic Organisms*, 71: 267–272.
- OIE. 2013a. *Código sanitario de los animales acuáticos*. Organización Mundial de Sanidad Animal. Disponible en: <http://www.oie.int/es/normas-internacionales/codigo-acuatico/acceso-en-linea/> leído el 7 de enero de 2014.
- OIE. 2013b. *Manual de pruebas de diagnóstico para los animales acuáticos*. Disponible en: <http://www.oie.int/es/normas-internacionales/manual-acuatico/acceso-en-linea/> leído el 3 de enero de 2014.
- Parisot, T.J. & Pelnar, J. 1962. An interim report on Sacramento River chinook disease: a virus like disease of chinook salmon. *Progressive Fish-Culturist*, 24: 51-55.
- Parisot, T.J.; Yasutake, W.T. & Klontz, G.W. 1965. Virus diseases of the salmonidae in Western United States. I. Etiology and Epizootiology. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 126: 502-519.
- PRODUCE. 2010. *Elaboración de estudio de mercado de la trucha en Arequipa, Cusco, Lima, Huancayo y Puno*. (Ministerio de la Producción del Perú). Disponible en: [http://www.produce.gob.pe/RepositorioAPS/1/jer/PROPESCA\\_OTRO/difusion-publicaciones/b\)%20DGAJul10%20Estudio%20Mercado%20Trucha%20PUNO.pdf](http://www.produce.gob.pe/RepositorioAPS/1/jer/PROPESCA_OTRO/difusion-publicaciones/b)%20DGAJul10%20Estudio%20Mercado%20Trucha%20PUNO.pdf) leído el 7 mayo de 2013.
- Roberts, R.J. & Pearson, M.D. 2005. Infectious pancreatic necrosis in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Journal of Fish Diseases*, 28: 383-390.
- Rodríguez, S. & Pérez-Prieto, S.I. 2007. Effects of salmonid fish viruses on Mx gene expression and resistance to single or dual viral infections. *Fish & Shellfish Immunology*, 23: 390-400.
- Rucker, R.R.; Whipple, W.J.; Parvin, J.R. & Evans, C.A. 1953. A contagious disease of salmon possibly of virus origin. U. S. Fish & Wildlife Service, *Fishery Bulletin*, 54: 35-46.
- Ruane, N.; Geoghegan, F. & ÓCinneide, M. 2007. Infectious pancreatic necrosis virus and its impact on the Irish salmon aquaculture and wild fish sectors. *Marine Environment & Health Series*, 30: 56.
- Salgado-Miranda, C. 2006. Necrosis pancreática infecciosa: enfermedad

- emergente en la truticultura de México. *Veterinaria México*, 37: 467-477.
- Smail, D.A.; Bain, N.; Bruno, D.W.; King, J.A.; Thompson, F.; Pendrey, D.J.; Morrice, S. & Cunningham, C.O. 2006. Infectious pancreatic necrosis virus in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., post-smolts in the Shetland Isles, Scotland: virus identification, histopathology, immunohistochemistry and genetic comparison with Scottish mainland isolates. *Journal of Fish Diseases*, 29: 31-41.
- Soares, S.; Green, D.M.; Turnbull, J.F.; Crumlish, M.; Murray, A.G. 2011. A baseline method for benchmarking mortality losses in Atlantic salmon (*Salmo salar*) production. *Aquaculture*, 314: 7-12.
- Starliper, C.E. 2008. General and specialized media routinely employed for primary isolation of bacterial pathogens of fishes. *Journal of Wildlife Diseases*, 44: 121-132.
- Subasinghe, R.P. 2005. Epidemiological approach to aquatic animal health management: opportunities and challenges for developing countries to increase aquatic production through aquaculture. *Preventive Veterinary Medicine*, 67: 117-124.
- Subasinghe, R.P.; Bondad-Reantaso, M.G. & McGladdery, S.E. 2001. *Aquaculture Development, Health and Wealth*. pp. 167-191. In: Subasinghe, R.P.; Bueno, P.B.; Phillips, M.J.; Hough, C.; McGladdery, S.E. & Arthur, J.R. (eds.) *Technical Proceedings of the Conference on Aquaculture in the third millennium*. Bangkok, Thailand.
- Winton, J.R. 2001. *Fish health management*. pp 559-639. In Wedemeyer, G.A. (ed.) *Fish hatchery management*, 2<sup>nd</sup> Ed. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland.
- Wolf, K. 1966. *Infectious pancreatic necrosis (IPN) of salmonid fishes*. U.S. Department of the Interior, Bureau of Sport Fisheries and Wildlife, FDL-1. 4 p.
- Wolf, K. 1988a. *Infectious pancreatic necrosis*. pp 115-157. In: Wolf, K. (ed.) *Fish Viruses and Fish Viral Diseases*. Cornell University Press, Ithaca & Londres.
- Wolf, K. 1988b. *Fish viruses and fish viral diseases*. Cornell University Press, Ithaca & Londres. 476 p.
- Wolf, K.; Dunbar, C.E. & Pyle, E.A. 1961. Infectious pancreatic necrosis of trout. II. Experimental infections with brook trout. *Progressive Fish-Culturist*, 23: 61-65.
- Wood, E.M.; Snieszko, S.F. & Yasutake, W.T. 1955. Infectious pancreatic necrosis in brook trout. *Archives of Pathology*, 60: 26-28.
- Yasutake, W.T. 1970. *Comparative histopathology of epizootic salmonid virus diseases*. In: Snieszko, S.F. (ed.) *A Symposium on diseases of fishes and shellfishes*. Special Publication. American Fisheries Society, 5: 341-350.
- Yasutake, W.T. 1975. *Fish viral diseases: Clinical, histopathological and comparative aspects*. pp. 247-271. In: Ribelin, W.E. & Migaki, G. (eds.) *The pathology of fishes*. The Wisconsin University Press, Madison.
- Yasutake, W.T.; Parisot, T.J. & Klontz, G.W. 1965. Virus diseases of the salmonidae in Western United States. II. Aspects of Pathogenesis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 126: 520-530.
- Yasutake, W.T. & Wales, J.H. 1983. *Microscopic Anatomy of Salmonids: An Atlas*. United States Department of the Interior. Fish and Wildlife Service. Washington. Resource Publication, 150: 24-27.

Received February 7, 2014.  
Accepted March 23, 2014.