

**ORIGINAL ARTICLE /ARTÍCULO ORIGINAL****FLAVOBACTERIOSIS ON RAINBOW TROUT (*ONCORHYNCHUS MYKISS*) FROM LAKE TITICACA, PUNO, PERU 2009****FLAVOBACTERIOSIS EN TRUCHA ARCO IRIS (*ONCORHYNCHUS MYKISS*), PROCEDENTES DEL LAGO TITITACA, PUNO, PERÚ 2009**¹ Julio Gregorio Gonzales Fernández¹Facultad de Pesquería-Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima-Perú.
email:julio.gonzales49@gmail.com

The Biologist (Lima), 2013, 11(2), jul-dec: 205-215.

ABSTRACT

A study of rainbow trout from Lago Titicaca-Puno determined the disease flavobacteriosis, with approximately 60% mortality and possibly corresponding to *Flavobacterium psychrophilum*, has been known as the causative agent of “bacterial cold-water disease” (BCWD) or peduncle disease in salmonids. The most common external macroscopic lesion ulceration of the dorsal area was the most frequent macroscopic external injury similar to stamp-like; and hemorrhage ocular, extensive erosion of the tail with the loss from skin tissue, gill anemia with hypertrophy and hyperplasia. Internally there was a marked splenomegaly, liver with hemorrhage and pallid areas, inflammation of kidney, gill anemia inflammation of the intestine and ascitic fluid in the peritoneum. The bacteria was isolated in TSA and showed yellow pigments, was oxidase positive.

Keywords: Anemia, splenomegaly, flavobacteriosis, hyperplasia, hypertrophy.**RESUMEN**

Un estudio realizado a truchas, procedente del Lago Titicaca-Puno determinó la enfermedad flavobacteriosis y una mortalidad aproximadamente del 60%, posiblemente corresponda a *Flavobacterium psychrophilum*, conocido como el agente que causa la “enfermedad bacteriana de aguas frías” (BCWD) o enfermedad del pedúnculo. La lesión macroscópica externa más frecuente fue la ulceración semejante a “sellos” de la región dorsal del pez, hemorragia ocular, erosión extensiva de la cola, con pérdida del tejido dérmico, anemia branquial, hipertrofia e hiperplasia. Internamente se observó una marcada esplenomegalia, hemorragia y zonas pálidas del hígado, inflamación del riñón, del intestino y acumulación de líquido ascítico en el peritoneo. La bacteria se aisló en TSA, presentó pigmentos amarillos y dio positivo con la oxidasa.

Palabras clave: anemia, esplenomegalia, flavobacteriosis, hiperplasia, hipertrofia.

INTRODUCCIÓN

El desarrollo de la acuicultura en los últimos años se ha ido incrementando, sin embargo la atención y el interés por resolver los problemas sobre las enfermedades es poco atendida, incrementándose los problemas patológicos que a su vez ocasionan considerables pérdidas económicas en muchos países dedicados a esta actividad (Cuellar 1984). Las enfermedades producidas por microorganismos y dentro de ellas, la bacterias generan altas tasas de mortalidad en especies cultivadas, siendo la trucha una de las más afectadas (Starliper & Schill 2011). En Puno, se cultiva esta especie, y a inicios del 2009 se produjo una mortalidad por bacterias, perjudicando económicamente a los empresarios y mermando la producción truchícola.

MAP (2012), informa que, las bacterias que afectan a los salmónidos pueden causar graves enfermedades e inclusive, grandes mortalidades tanto a especies en cautiverio como a especies silvestres. Entre las bacterias más comunes corresponden a la familia Flavobacteriaceae, género *Flavobacterium* incluyendo a varias especies, entre ellas a *Flavobacterium psychrophilum* (Bernardet *et al.* 1996) patógeno de peces de agua dulce que afecta especialmente a la trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792), salmón del atlántico (*Salmo salar* Linnaeus, 1758), salmón coho (*O. kisutch* Walbaum, 1792). Starliper & Schill (2011) describieron la enfermedad columnaris (*Flavobacterium columnare*), la enfermedad bacteriana de aguas frías (*F. psychrophilum*) y la enfermedad bacteriana branquial (*F. branchiophilum*), y consideran a la flavobacteriosis, como una enfermedad causada por especies de *Flavobacterium*, que presenta una amplia distribución geográfica y un amplio rango de hospederos. Alvarez & Guijarro (2005) describieron la enfermedad de *F. branchiophilum* y *F. columnare*. Murias (2010) comentó que fue descubierta una nueva

bacteria (*Chryseobacterium piscicola*) en el salmón, y que es muy semejante a *F. psychrophilum* pudiendo llevar a un diagnóstico erróneo, recomendando para ello estudios mas profundos, a través del PCR.

León *et al.* (2009), consideran que las especies de flavobacterias son responsables de cuadros patológicos habituales que afectan piel, aletas y branquias y son conocidas como la “enfermedad bacteriana de la branquia” o “enfermedad de la columnaris”; pero en algunos casos las infecciones por *F. psychrophilum* pueden llegar a producir además serios procesos septicémicos. Bernardet *et al.* (1996) reportan a *F. psychrophilum* como una bacteria gram negativa y que fue identificada como *Flexibacter psychrophilus* (Bertolini *et al.* 1994) y como *Cytophaga psychrophila* (Pacha & Porter 1968, Bernardet *et al.* 1988; Bernardet & Kerouault 1989, Dalsgaard). Estos mismos autores reportaron que es un patógeno muy importante de ambientes dulceacuícolas, para los cultivos de salmónidos, extendidos a lo largo del mundo.

La flavobacteriosis ha sido descrita en diferentes partes del mundo, con patologías similares en alevines, juveniles y adultos de trucha arco iris. Además recibe distintas denominaciones, como “enfermedad del pedúnculo”, “enfermedad de baja temperatura” ó “enfermedad del agua fría” (BCWD), “enfermedad bacteriana del agua fría”, “síndrome del alevín de la trucha arco iris” Rainbow Trout Fry Síndrome (RTFS) (Davis 1946, Borg 1960, Bernardet *et al.* 1988, Holt *et al.* 1989, Bustos *et al.* 1995, Rangdale *et al.* 1996). Las pérdidas atribuidas a este agente son alrededor del 10 al 30% del stock de alevines, pudiendo aumentar los porcentajes desde el momento que se produce el brote, y su persistencia se mantiene por más tiempo (Santos *et al.* 1992).

Desde 1984, aparece también en varios países europeos como Gran Bretaña, Finlandia,

Alemania, Suiza y España (Bruno 1992, Santos *et al.* 1992, Rangdale *et al.* 1996, Toranzo & Barja 1993). La enfermedad provoca un elevado porcentaje de pérdidas por la mortalidad que genera (Mudarris & Austin 1989, Bustos *et al.* 1995). Huh & Wakabayashi (1987), registraron laminillas branquiales pálidas, alta congestión de mucus purulento y además, el tejido epitelial de las laminillas branquiales presentaron hiperplasia e hipertrofia. Las observaciones postmortem, también revelan palidez en hígado, riñón y clínicamente los animales se muestran letárgicos, inapetentes y con nado superficial (Vatsos *et al.* 2001). En Chile, el FIP (2001), registró para salmónidos (*O. mykiss*), a *Flavobacterium* spp., *F. psychrophilum*, *F. columnare*, *F. aqualitis* y *F. hutchinsonii* en *O. kisutch*.

En el Perú, solo se conoce el trabajo de León *et al.* (2009), quienes identifican a *F. psychrophilum* en alevinos de truchas cultivadas, procedentes de la zona sierra central, El Ingenio (Junín, Perú).

El presente trabajo tiene como objetivo, determinar la enfermedad flavobacteriosis en truchas cultivadas; conocer las diferentes alteraciones presentadas en los tejidos y registrar la mortalidad en juveniles y adultos procedentes del Lago Titicaca, Perú durante el 2009.

MATERIAL Y MÉTODOS

Entre el 10-12 de marzo del 2009, se visitó una piscigranja de truchas (Lago Titicaca, Puno), cuyo problema principal fue la mortalidad generada en adultos más que en juveniles. Para ello, se realizó una inspección ocular de 6-8 jaulas flotantes observándose una mortandad de aproximadamente 40 ejemplares por jaula. Con la finalidad de realizar un estudio exhaustivo se recolectaron 29 ejemplares de trucha arco iris (*O. mykiss*); seis fueron

observados “*in situ*”, en las pasarelas de las jaulas metálicas revisándose la parte externa con bastante cuidado, la piel desde la cabeza hasta la cola; asimismo, de la parte interna se analizaron cada uno de los órganos. 19 ejemplares fueron analizados en el Laboratorio del Instituto del Mar del Perú (IMARPE)-Puno y la piel, hígado, bazo y riñón fueron fijados y conservados en formol al 10% tamponado a pH 6,83 y conservados en frascos de plástico para trabajos de histología (Hinton 1990). A cuatro ejemplares se les realizó el frotis sanguíneo empleando el colorante de Giemsa (Muñoz & Morón 2005). La temperatura promedio de esos días fue de 10°C -12°C.

El estudio consistió en analizar tanto la parte externa (branquias, piel, base de aletas, ojos y opérculo) e interna (bazo, riñón, vejiga gaseosa, hígado, vesícula biliar, estómago e intestino); cada uno de los órganos fueron revisados minuciosamente y de los órganos internos se realizaron las respectivas improntas (riñón bazo e hígado), con la finalidad de determinar presencia de posibles parásitos y conocer la patología; para ambos casos se anotaron las alteraciones.

Para medir la longitud total de las truchas se empleó el ictiómetro y fue de 25 a 35 cm y todas fueron hembras. Se realizó el hisopado de las zonas ulcerosas (piel), riñón e hígado y se cultivó en el medio Tripticasa Soya Agar (TSA) (Acuigrup 1980); medio de transporte Cary Blair (Britania 2013), y la prueba de la actividad de la oxidasa (Agurto 1989). También se realizó una siembra del agua recolectada de la zona.

Se tomaron fotografías empleando una cámara digital Nikon 8,0 megapíxeles.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Externamente, la especie en estudio presentó a ambos lados del cuerpo, manchas entre

blanquecinas y beige (40%), de forma redondeada a ovaladas (semejante a “sellos”), con ausencia de escamas en dichas zonas afectadas (infección inicial), tornándose a rojizas a manera de úlceras cuando la infección fue más intensa (Fig. 1). En algunos ejemplares que se encontraban dentro de la jaula, se observaron estas heridas a manera de roseta.

A nivel de las branquias se observó palidez branquial y en otros ejemplares hemorragia. En tres ejemplares se observó las laminillas secundarias fusionadas e hipertrofiadas. Al microscopio se determinó aneurisma a nivel de las laminillas secundarias, en pocos ejemplares se observó hemorragia en la zona peri orbital de los ojos del lado derecho.

La aleta caudal, en la mayoría de los ejemplares analizados, presentaron pérdida de dicho órgano, quedando a la vista el tejido epidérmico vivo a nivel del pedúnculo caudal (Fig. 2). En un solo ejemplar, se observó las aletas pectorales atrofiadas a manera de “muñón”.

Internamente se observó el hígado con zonas pálidas, rojizas y otras de color marrón oscuro, la vesícula biliar muy inflamada. Se identificó incremento de los componentes sanguíneos en las zonas petequiales. La arquitectura orgánica que caracteriza al hígado estuvo alterada y no se observó con nitidez los hepatocitos, no se encontraron células macrófagas, ni mucho menos los centros melanomacrofágicos (CMM). El estómago presentó material alimenticio pastoso (Fig. 3). El bazo (esplenomegalia) y los órganos internos muy congestionados (Fig. 4). El riñón muy desarrollado e inflamado (Fig. 5). Al observarse al microscopio, ambos tejidos (bazo y riñón) presentaron grandes cantidades de pigmentaciones. El intestino presentó signos de hemorragia y con una fuerte inflamación a nivel de la abertura anal.

La siembra en TSA dio resultados positivos, se formaron colonias de color amarillo, de borde

liso, circular y brillante con olor a fruta y la prueba rápida con la oxidasa, resultando ser positiva. En el medio Cary Blair, el resultado fue negativo por un error en el hisopado. Se determinó también, colonias de color blanquecino en la muestra de agua, y que en el replicado, se determinó la presencia de *Aeromonas* sp. La mortalidad, según la información recibida por parte de la empresa privada, fue cerca del 60%, entre juveniles y adultos.

MAP (2012) registra que la flavobacteriosis se ha manifestado ampliamente a nivel mundial y es a partir de 1940, en que se detectó en Norteamérica, Alemania, Francia, Dinamarca, Reino Unido, España, Finlandia, Australia, Japón y Chile. La enfermedad podría persistir inclusive en peces de cultivo en estuario o mar (por la baja salinidad), los hospederos más susceptibles son los alevinos con saco vitelino y juveniles de especies de salmónidos. En ellos se origina diversas patologías desde necrosis ulcerativa de la piel, hasta una infección sistémica, tornándose los peces más lentos en sus nadados, con presencia de abscesos cutáneos con contenido mucoso oscuro y sanguinolento, también presentan erosiones en la piel, aletas y pedúnculo caudal, branquias pálidas e internamente con una esplenomegalia marcada, alcanzando mortalidades hasta el 50% de la población afectada.

León *et al.* (2009) registraron en alevinos (5-7 cm de longitud), cuadros patológicos muy evidentes de erosiones o ulceraciones severas y muy profundas que afectaban la piel, músculo, aleta dorsal y región del pedúnculo caudal del huésped a manera de “silla de montar”, distensión abdominal y exoftalmia, letargia, inapetencia, natación errática y casi siempre aislado cerca de la salida del agua, palidez del hígado, riñón y branquias; inflamación del intestino y acumulación del líquido ascítico en el peritoneo; asimismo consideran que la mortalidad en salmónidos depende del tamaño de los peces afectados. Los mismos autores, observaron gran similitud

con el “síndrome del alevín de trucha arco iris” causado por *F. psychrophilum*, causante de la enfermedad bacteriana de agua fría (“Bacterial Cold Water Disease” o BCWD) y que el patógeno se desarrolló a 10°C, temperatura que presentó el criadero de Ingenio. Cipriano & Holt (2005) reportaron lesiones similares a la “enfermedad bacteriana del agua fría” (BCWD) a nivel de la aleta caudal y del pedúnculo con pérdida del tejido epidérmico. Internamente, se observó los órganos fuertemente congestionados, e inclusive en un ejemplar, la vejiga gaseosa presentó una fuerte hemorragia en la zona superficial.

Bernardet *et al.* (1988), Sarti *et al.* (1992), Toranzo & Barja (1993), Bustos *et al.* (1995), Rangdale (1999), Ostland *et al.* (1999), Madetoja & Wiklund (2002) y Nematollahi *et al.* (2003), registraron en los últimos 20 años en diferentes partes del mundo, patologías similares en alevinos, juveniles y adultos de “trucha arco iris”, y que son muy semejantes a las descritas por MAP (2012) y León *et al.* (2009).

Los síntomas hallados en el presente estudio, como son la presencia de erosiones o ulceraciones en la piel, pérdida del tejido dérmico a nivel de la aleta caudal, palidez del hígado, esplenomegalia, inflamación del riñón e intestino, acumulación del líquido ascítico y hemorragia a nivel del globo ocular, son síntomas muy semejantes a los descritos por León *et al.* (2009), sin embargo la diferencia está en que los ejemplares procedentes de Puno fueron adultos (25-35 cm), y en la piel presentaron a manera de “sellos redondeados u ovalados” que se asemejan a los resultados obtenidos por (Cipriano & Holt 2005, Gijón & Zarza 2006), y las lesiones del pedúnculo caudal con pérdida del tejido epidérmico son semejantes a los resultados de Cipriano & Holt (2005).

En afecciones avanzadas se presenta, decoloración de las laminillas branquiales, alta congestión de mucus purulento, impidiendo la

respiración; además el tejido epitelial de las laminillas branquiales presenta hiperplasia e hipertrofia (Huh & Wakabayashi 1987). Además, las truchas presentaron muestras de letargia, inapetencia y nado superficial (Bruno 1992, Santos *et al.* 1992, Sarti *et al.* 1992, Bustos *et al.* 1995, Vatsos *et al.* 2001). Estas características sintomáticas también fueron muy similares a los resultados obtenidos en el presente trabajo.

En los peces juveniles de salmón coho y trucha arco iris, la infección por esta bacteria causa septicemia aguda, provocando lesiones en riñón, bazo, corazón y peritoneo, principalmente en invierno-primavera, cuando el rango de temperatura del agua varía entre los 12-16°C, y es más pronunciada la enfermedad cuando se encuentra entre 4 - 10°C (Holt 1987). La temperatura en las jaulas flotantes en Puno fue de 10 - 12°C, favoreciendo el desarrollo de la bacteria e intensificándose la enfermedad.

Bustos *et al.* (1995) registraron además, palidez branquial con hemorragia, exoftalmia bilateral, hemorragia en la base de las aletas y en casos crónicos ascitis, incluso ulceraciones ventrales con perforación de la pared abdominal y evisceración parcial. Otros autores han observado abultamiento abdominal, palidez branquial y hemorragias en la base del pedúnculo (Bruno 1992, Toranzo & Barja 1993).

En los órganos internos se observa esplenomegalia; petequias y palidez en hígado y riñón; gastrodilatación, gastroenteritis, ascitis, petequias en bazo, ciegos pilóricos y grasa visceral (Bruno 1992, Santos *et al.* 1992, Sarti *et al.* 1992, Bustos *et al.* 1995).

Además se encontró en los ejemplares analizados en el presente trabajo, necrosis ulcerativa de la piel (lados laterales desde la cabeza post-opercular hasta el pedúnculo caudal), anemia branquial y en algunos ejemplares acompañado de hiperplasia,

hipertrofia y hemorragia, el que fue verificado por la presencia de aneurisma a nivel de las laminillas branquiales, también se observó una fuerte ascitis con hemorragia a nivel de la vejiga gaseosa, hemorragia en la base de la aleta e hipertrofiadas a manera de “muñones” las aletas pectorales, esplenomegalia, inflamación del riñón; pedúnculo caudal con pérdida de la piel y presencia de tejido muscular vivo, petequias en el hígado con presencia de manchas blancas y hemorragia. Estos síntomas coinciden con los resultados de los trabajos realizados por (Huh & Wakabayashi 1987, Bruno 1992, Santos *et al.* 1992, Sarti *et al.* 1992, Toranzo & Barja 1993,

Bustos *et al.* 1995, Cipriano & Holt 2005, León *et al.* 2009).

El desarrollo de esta bacteria es bastante exigente y al no contar con estos medios de crecimiento, se optó por la TSA y al realizar la siembra se observó el desarrollo de pequeñas colonias de color amarillo de bordes lisos y redondeados; e igualmente reaccionó positivamente a la oxidasa. Estas dos características no son suficientes como para definir la especie; por ello es importante, un estudio mas profundo para confirmar la presencia de *Flavobacterium* y si se trata de una o más especies de esta bacteria.



Figura 1. Ulceraciones detrás del opérculo y hemorragia del globo ocular izquierdo en trucha, procedente del lago Titicaca, Puno. Barra = 3cm.



Figura 2. Pérdida de la aleta caudal con tejido muscular hemorrágico y desviación de la columna vertebral, en trucha procedente del Lago Titicaca, Puno. Barra=2cm.

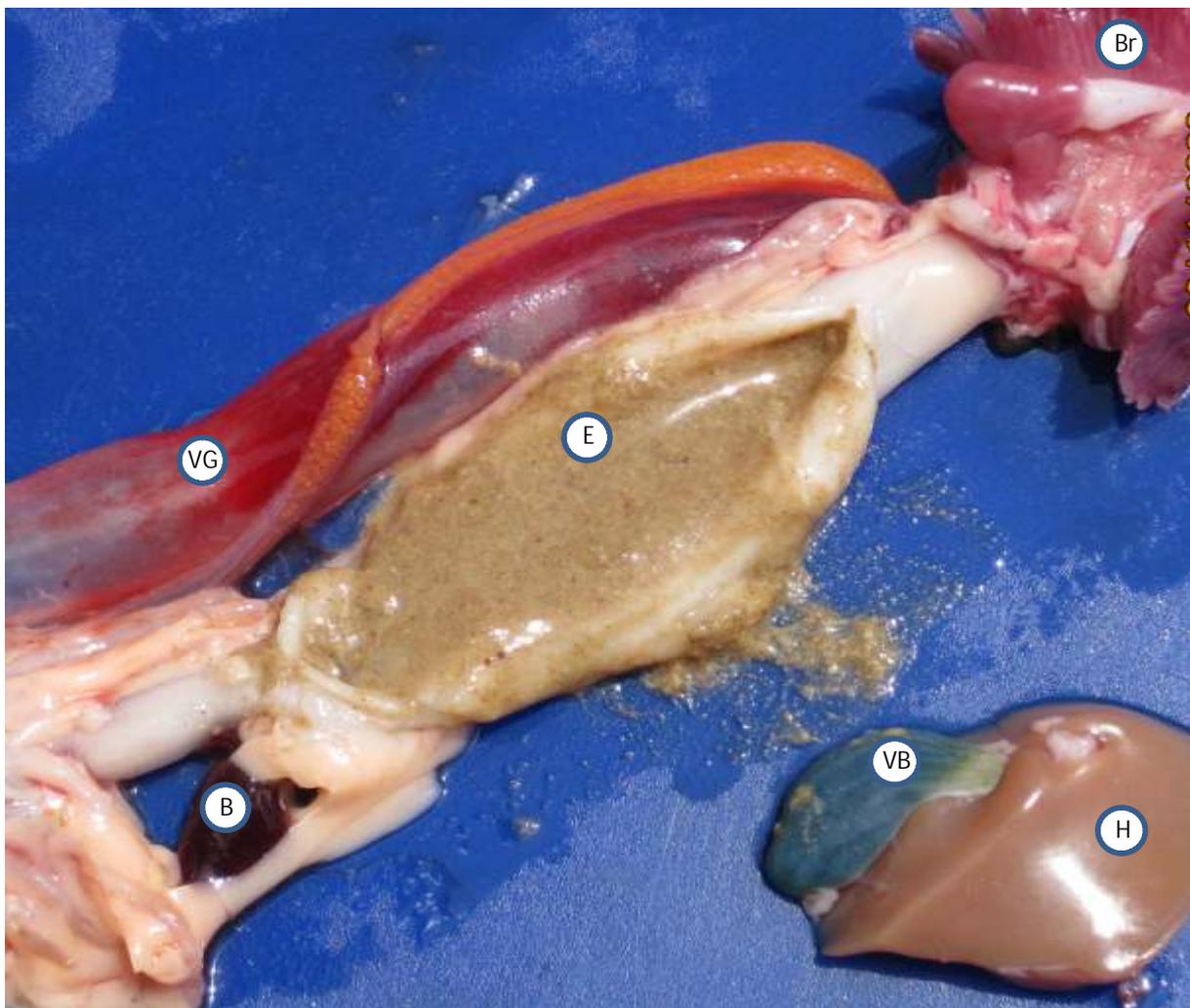


Figura 3. Branquias (Br) pálidas, estómago (E) lleno de material alimenticio pastoso, congestión de la vejiga gaseosa (VG), esplenomegalia (B), e hígado (H) de color rosado pálido con la vesícula biliar (VB) lleno de líquido, en trucha procedente del Lago Titicaca, Puno.



Figura 4. Fuerte congestión de los órganos internos y bazo muy desarrollado en trucha procedente del Lago Titicaca, Puno.

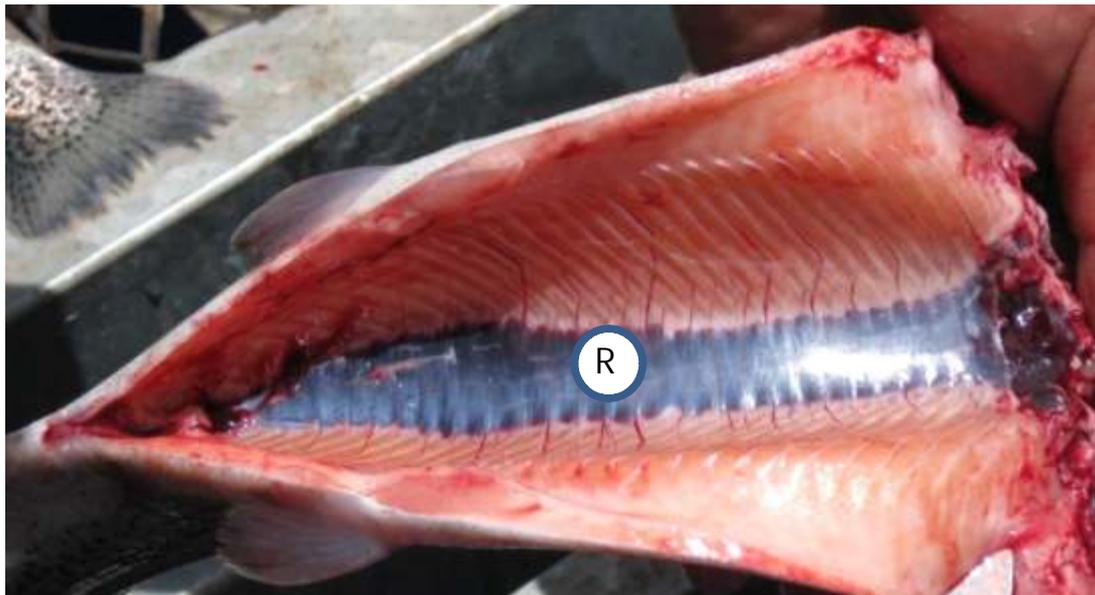


Figura 5. Riñón (R), fuertemente inflamado, en trucha procedente del Lago Titicaca, Puno.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acuigrup.** 1980. *Flavobacteriosis in coho salmon (Oncorhynchus kisutch)*. In: Ahne, W. (ed.), Fish Diseases, Third COPRAQ Sesión. Berlin, Springer-Verlag, pp. 212-217.
- Agurto, S.T.** 1989. *Manual de Técnicas en Microbiología*. Lima, Perú. pp. 256.
- Álvarez, B. & Guijarro, J.A.** 2005. *Flavobacteriosis*. I Jornadas de ADSG de trucha de Galicia. Asociación Gallega de Piscifactorías de Trucha, Agrupación de Defensa Sanitario-Ganadera de la Trucha. ADSG ASTRUGAL, Ponencias, Villagarcía, sep. 2005.
- Bertolini, J.M.; Wakabayashi, H.; Watral, V.G.; Whipple, M.J. & Rohovec, J.S.** 1994. Electrophoretic detection of proteases from selected strains of *Flexibacter psychrophilus* and the assessment of their variability. *Journal of Aquatic Animal Health*, 6:224-233.
- Bernardet, J.F. & Kerouault, B.** 1989. Phenotypic and genomic studies of *Cytophaga psychrophila* isolated from diseased rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in France. *Applied and Environmental Microbiology*, 55:1796-1800.
- Bernardet, J.F.; Baudin-Laurencin, F. & Tixerant G.** 1988. First identification of *Cytophaga psychrophila* in France. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 8:104-105.
- Bernardet, J.F.; Seger, P.; Vancanneyt, M.; Berthe, F.; Kersters, K. & Vandamme, P.** 1996. Cutting a Gordian Knot: emended classification and description of the genus *Flavobacterium*, emended description of the family Flavobacteriaceae, and proposal of *Flavobacterium hydatis* nom. nov. (Basionim, *Cytophaga aquatilis* Strohl and Tait 1978). *International Journal of Systematic Bacteriology*, 46: 128-148.
- Borg, A.F.** 1960. *Studies on myxobacteria associated with diseases in salmonid fishes*. American Association for the Advancement of Science, Wildlife Disease 8: 1-85, Washington DC, USA.
- Britania.** 2013. Laboratorios Britania S.A. En: www.britania.com. Leído el 20 de Enero del 2013.
- Bruno, D.W.** 1992. *Cytophaga psychrophila* (= '*Flexibacter psychrophilum*') (Borg), histopathology associated with mortalities among farmed rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) in the UK. *Bulletin European Association of Fish Pathologists*, 12:215-216.
- Bustos, P.A.; Calbuyahue, J.; Montaña, J.; Opazo, B.; Entrala, P. & Solervicens, R.** 1995. First isolation of *Flexibacter psychrophilum*, as a causative agent of rainbow trout fry syndrome (RTFS), producing rainbow trout mortality in Chile. *Bulletin European Association of Fish Pathologists*, 15:162-164.
- Cipriano, R.C. & Holt, R. A.** 2005. *Flavobacterium psychrophilum*, cause of Bacterial Cold-Water Disease and Rainbow Trout Fry Syndrome. *Fish Disease Leaflet No. 86*. United States Department of the Interior, U.S. Geological Survey, National Fish Health Research Laboratory, Kearneysville, West Virginia 25430. pp.1-44.
- Cuéllar, L.** 1984. *Acuicultura e ictiopatología*. Actas de Academia de Ciencias veterinarias de Madrid. Vol. II. pp: 205-221.
- Dalsgaard, I.** 1993. Virulence mechanisms in *Cytophaga psychrophila* and other *Cytophaga*-like bacteria pathogenic for fish. *Annual Review of Fish Diseases* 3:127-144.
- Davis, H.S.** 1946. *Care and diseases of trout*. US Dept. of Interior Research Report N° 12, US Government Printing Office, Washington, DC. USA.
- Fondo de Investigación Pesquera (FIP), 2001.** *Vigilancia de la resistencia bacteriana en la salmonicultura*. Proyecto FIP

- 2008-65.
- Gijón, D. & Zarza, C. 2006. *Enfermedades emergentes en el cultivo de la trucha arco iris (Oncorhynchus mykiss)*. Skretting Informa, verano 2006; pp. 12-17.
- Hinton, D.E. 1990. *Histological Techniques, Chapter 7*. In: *Methods for Fish Biology*, edit. Schreck, C.B. & Moyle, P.B. American Fisheries Society, USA. pp.: 1-684
- Holt, R.A.; Amandi, A.; Rohovec, J.S. & Fryer, J.L. 1989. Relation of water temperature to bacterial cold-water disease in Coho salmon, Chinok salmon and Rainbow trout. *Journal of Aquatic Animal Health*, 1:94-101.
- Holt, R.A. 1987. *Cytophaga psychrophila, the causative agent of bacterial coldwater disease in salmonid fish*. Doctoral dissertation. Oregon State University. Corvallis, Oregon. pp. 116.
- Huh, G.J. & Wakabayashi, J. 1987. Detection of *Flavobacterium* sp., a pathogen of bacterial gill disease, using indirect fluorescent technique. *Fish Pathology*, 22:215-220.
- León, J.; Avalos, R. & Ponce, M. 2009. *Flavobacterium psychrophilum* y su patología en alevines de *Onchorhynchus mykiss* del centro piscícola El Ingenio, Huancayo. *Revista Peruana Biología*, 15:117-124.
- Madetoja, J. & Wiklund, T. 2002. Detection of the fish pathogen *Flavobacterium psychrophilum* in water from fish farms. *Systematic and applied Microbiology*, 25:259-266.
- Mudarris, M. & Austin, B. 1989. Systemic disease in turbot *Scophthalmus maximus* caused by a previously unrecognized *Cytophaga*-like bacterium. *Diseases of Aquatic Organisms*, 6:161-166.
- MAP (Mundo Acuicola Pesquero). 2012. *Mortalidad de salmónidos en agua dulce por bacterias de aguas frías*. Artículos Técnicos-ciclo Seminarios, Edición No. 79.
- Muñoz, Z.M. & Morón, C.C. 2005. *Manual de procedimientos de laboratorio en técnicas básicas de hematología*, MINSA-INS. pp. 1-88.
- Murias, A. 2010. *Descubren nueva bacteria en el salmón*. www.fis.com Chile Thursday, June 03, 2010.
- Nematollahi, A.; Decostere, A.; Pasmans, F.; Ducatelle, R. & Haesebrouck, F. 2003. Adhesion of high and low virulent *Flavobacterium psychrophilum* strains to isolated gill aches of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*, *Diseases of Aquatic Organisms*, 55:101-107.
- Ostland, V.P.; Byrne, P.J.; Lumnsden, J.S.; MacPhee, D.D.; Derksen, J.A.; Haulena, M.; Skar, K.; Myhr, E. & Ferguson, H.W. 1999. Atypical bacterial gill disease: a new form of bacterial gill disease affecting intensively reared salmonids. *Journal of Fish Disease*, 22:351-358.
- Pacha, R.E. & Porter, S. 1968. Characteristics of myxobacteria isolated from the surface of freshwater fish. *Applied Microbiology*, 16:1901-1906.
- Rangdale, R.E.; Richards, R.H. & Aldeman, D.J. 1996. Isolation of *Cytophaga psychrophila*, causal agent of rainbow trout fry syndrome (RTFS) from reproductive fluids and egg surface of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Bulletin of the European Association of Fish pathologists*, 16:63-67.
- Rangdale, R.E. 1999. Rainbow trout fry syndrome. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 19:295.
- Santos, Y.; Huntly, P.J.; Turnbull, A. & Hastings, T.S. 1992. Isolation of *Cytophaga psychrophila* (*Flexibacter psychrophilus*) in association with rainbow trout mortality in United Kingdom. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 12:209-210.
- Sarti, B.M.; Giorgetti, G. & Manfrin, A. 1992. Method for the rapid diagnosis of visceral myxobacteriosis in reared trout

- in Italy. Bulletin of the European Association of Fish Pathologists, 12:53.
- Starliper C.E. & Schill, W.B. 2011. *Flavobacterial Diseases: Columnaris Disease, Coldwater Disease and Bacterial Gill Disease*. In: *Fish Diseases and Disorders*, Vol. 3: Viral, Bacterial and Fungal Infections 2nd Ed. CABI. USA. pp. 606-631
- Toranzo, A.E. & Barja, J.L. 1993. Fry mortality syndrome (FMS) in Spain. Isolation of the causative bacterium *Flexibacter psychrophilus*. Bulletin of the European Association of Fish Pathologists, 13:30-32.
- Vatsos, I.N.; Thompson, K.D. & Adams, A. 2001. Adhesion of the fish pathogen *Flavobacterium psychrophilum* to unfertilized eggs of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and n-hexadecane. Letters in Applied Microbiology, 33:178-182.

Received May 15, 2013.
Accepted August 29, 2013.