

## Воспаление сердечных и скелетных мышц – новое опасное заболевание культивируемых лососевых рыб

В. П. Мельников<sup>1</sup>, В. В. Пронин<sup>2</sup>

ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), г. Владимир, Россия

<sup>1</sup> ORCID 0000-0003-2766-2875, e-mail: melnikov@arriah.ru

<sup>2</sup> ORCID 0000-0002-6240-3062, e-mail: pronin@arriah.ru

### РЕЗЮМЕ

Воспаление сердечных и скелетных мышц в настоящее время является одним из самых распространенных, экономически значимых заболеваний культивируемого атлантического лосося и представляет серьезную угрозу его аквакультуре. Впервые болезнь выявлена в 1999 г. в Норвегии. В 2006 г. норвежские ученые доказали ее вирусную этиологию. Воспаление сердечных и скелетных мышц является трансграничной, высококонтагиозной, новой, еще недостаточно изученной вирусной болезнью лососевых рыб, характеризующейся поражением эритроцитов, симптомокомплексом воспаления сердечных и скелетных мышц, нарушением кровообращения и желтухой. Экономический ущерб, наносимый этим заболеванием аквакультуре, чрезвычайно велик. Общая кумулятивная смертность может достигать 30%, а уровень заболеваемости составлять 100%. Снижение качества товарной рыбной продукции из-за меланизированных участков в мышцах лососевых еще больше повышает экономические потери от этого заболевания. Наиболее чувствителен к воспалению сердечных и скелетных мышц выращиваемый в аквакультуре атлантический лосось. Восприимчивыми видами также являются радужная форель, чавыча и кумжа, и этот список продолжает пополняться. Возбудителем заболевания является вирус, относящийся к роду *Orthoreovirus* семейства *Reoviridae*. На сегодняшний день орторевовирус рыб имеет тенденцию к глобальному распространению. Заболевание, вызванное этим вирусом, регистрируют в Норвегии, Шотландии, Ирландии, Исландии, Франции, Германии, Италии, Дании, на Фарерских островах, в Чили, Канаде, на Атлантическом побережье США и на Аляске. Наибольшее количество очагов отмечают в Средней и Северной Норвегии, пограничной с Мурманской областью. Близость неблагоприятных территорий к России, протекающий мимо норвежских берегов в сторону Мурманской области Гольфстрим, а также миграция диких лососевых через норвежские территориальные воды в Баренцево, Белое и Печорское моря в совокупности с высокой стабильностью вируса создают высокий уровень угрозы заноса орторевовируса рыб с территории сопредельных стран на территорию Российской Федерации.

**Ключевые слова:** орторевовирусы рыб, воспаление сердечных и скелетных мышц, болезни рыб, эпизоотическая ситуация.

**Для цитирования:** Мельников В. П., Пронин В. В. Воспаление сердечных и скелетных мышц – новое опасное заболевание культивируемых лососевых рыб. *Ветеринария сегодня*. 2020; 1 (32): 3–10. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-1-32-3-10.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Для корреспонденции:** Мельников Владимир Петрович, кандидат ветеринарных наук, заведующий референтной лабораторией болезней аквакультуры ФГБУ «ВНИИЗЖ», 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец, e-mail: melnikov@arriah.ru.

## Heart and skeletal muscle inflammation – novel dangerous disease of farmed *Salmonidae*

V. P. Melnikov<sup>1</sup>, V. V. Pronin<sup>2</sup>

FGBI "Federal Centre for Animal Health" (FGBI "ARRIAH"), Vladimir, Russia

<sup>1</sup> ORCID 0000-0003-2766-2875, e-mail: melnikov@arriah.ru

<sup>2</sup> ORCID 0000-0002-6240-3062, e-mail: pronin@arriah.ru

### SUMMARY

Heart and skeletal muscle inflammation (HSMI) is one of the most widespread economically relevant diseases of farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*), and it poses serious danger to its aquaculture. The disease was first reported in Norway in 1999. In 2006, the Norwegian researchers demonstrated its viral etiology. Heart and skeletal muscle inflammation is a novel and understudied highly contagious transboundary disease of *Salmonidae* characterized by erythrocyte damage, blood circulation failure, jaundice and aggregated signs of heart and skeletal muscle inflammation. The disease associated economic damage to aquaculture is enormous. Total cumulative mortality can reach 30% and morbidity can amount to 100%. Loss of quality of the commercial fish products due to melanised foci in the salmon's muscles further increases the disease-associated economic losses. Aquacultured Atlantic salmon is the most susceptible to HSMI. Rainbow trout, chub salmon and bull trout are also susceptible species and the list is still being continued. The disease is caused by the virus belonging to genus *Orthoreovirus* in the family *Reoviridae*. Currently Piscine orthoreovirus demonstrates the tendency towards its global spread. The virus-induced disease is reported in Norway, Scotland,

Ireland, Iceland, France, Germany, Italy, Denmark and Alaska. The majority of the outbreaks are registered in Central and Northern parts of Norway, which borders the Murmansk Oblast. The vicinity of the affected areas to Russia, the Gulf Stream passing the Norwegian shore while moving towards the Murmansk Oblast as well as wild *Salmonidae* migration to the Barents Sea, White Sea and Pechora Sea through the Norwegian territorial waters coupled with high stability of the virus compose high threat of Piscine orthoreovirus introduction to the Russian Federation from the adjacent countries.

**Key words:** Piscine orthoreoviruses, heart and skeletal muscle inflammation (HSMI), epidemic situation.

**For citation:** Melnikov V. P., Pronin V. V. Heart and skeletal muscle inflammation – novel dangerous disease of farmed *Salmonidae*. *Veterinary Science Today*. 2020; 1 (32): 3–10. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-1-32-3-10.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**For correspondence:** Vladimir P. Melnikov, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Head of Reference Laboratory for Aquaculture Diseases, 600901, Russia, Vladimir, Yur'evets, FGBl "ARRIAH", e-mail: melnikov@arriah.ru.

## ИСТОРИЯ ИЗУЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Воспаление сердечных и скелетных мышц (BCCM, Heart and skeletal muscle inflammation – HSMI) было впервые обнаружено в 1999 г. у атлантического лосося, выращенного на рыболовной ферме в Норвегии [1]. Причина заболевания долгое время оставалась неизвестной. Предположение о вирусной этиологии было высказано лишь в 2004 г., позже инфекционную природу болезни доказали норвежские ученые [1, 2]. В 2006 г. вирус был обнаружен при исследовании методом электронной микроскопии [3]. В 2010 г. с помощью молекулярно-биологических методов патоген был идентифицирован как реовирус [4], а позже отнесен к роду орторевовирусов рыб (*Piscine orthoreovirus*, PRV) [5]. В 2014 г. O. W. Finstad et al. установили, что PRV размножается в эритроцитах [6]. В 2016 г. ученые из Японии доказали, что известный с 1970-х гг. синдром эритроцитарных телец-включений (СЭТВ, Erythrocytic inclusion body syndrome, EIBS) у кижуча в Японии был вызван генетическим вариантом PRV [7], и орторевовирусы разделили на три типа. Последнее доказательство того, что орторевовирус рыб является возбудителем BCCM, было продемонстрировано O. Wessel et al. в 2017 г. [8].

## КЛАССИФИКАЦИЯ

Возбудитель воспаления сердечных и скелетных мышц – орторевовирус рыб, *Piscine orthoreovirus*, PRV – относится к роду *Orthoreovirus*. PRV сильно отличается от акваревовирусов. M. J. T. Kibenge et al. провели филогенетический анализ генов сегмента S1 у большого числа доступных изолятов вируса, что позволило им сгруппировать норвежские штаммы PRV в один генотип (PRV-1) с субгенотипами Ia и Ib. Канадские штаммы PRV соответствовали субгенотипу Ia, а чилийские штаммы PRV, выделенные от атлантического лосося, соответствовали субгенотипу Ib [5].

В последние несколько лет были охарактеризованы еще два генетических варианта PRV, которые адаптированы не к атлантическому лосося, а к другим видам лососевых. Один из этих вариантов, обозначенный как PRV-2, является возбудителем СЭТВ на фермах по выращиванию кижуча в Японии [7].

Другой генетический вариант, обозначенный как PRV-3 (также называется вирусом Y, или PRV-*Om*), вызывает BCCM-подобное заболевание у радужной форели [9]. К этому же генотипу относят штаммы PRV, выде-

ленные в Чили у кижуча [10]. Было показано, что PRV-3 более тесно связан с PRV-1, чем PRV-2 [11]. PRV-3 также реплицируется в организме атлантического лосося, но патогенность этого генотипа вируса для данного вида рыб меньше по сравнению с радужной форелью [12].

## УСТОЙЧИВОСТЬ ВИРУСА

Орторевовирусы устойчивы к действию дезинфектантов. Вирионы стабильны при значениях pH от 2 до 9, температуре до 55 °C, воздействии жирорастворителей и детергентов. УФ-облучение снижает инфекционность вируса.

## ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКИЕ ДАННЫЕ

Воспаление сердечных и скелетных мышц – тяжелая болезнь, характеризующаяся высокой заболеваемостью и продолжительностью. Постепенное увеличение тяжести поражения в месяцы, предшествующие появлению клинических признаков, указывает на то, что инфекция может присутствовать на ферме субклинически в течение очень длительного времени [2]. В Норвегии у выращиваемого в аквакультуре атлантического лосося заболеваемость BCCM доходит до 100% с показателем смертности до 20%. В Чили при выращивании в пресной воде смертность обычно не превышает 5%. При выращивании в морской воде наблюдается два пика гибели рыб: первый – через два месяца после перевода из пресной в морскую воду и составляет 2–10%, второй начинается через полгода после первого. Смертность во время второго пика достигает 30% и связана со вторичными инфекциями. Вспышки BCCM у атлантического лосося регистрируют как зимой, так и летом. Это позволяет сделать вывод, что на развитие заболевания сезонность и температура воды влияния не оказывают. Долгое время считалось, что BCCM возникает у рыб только в морской воде, обычно через 5–9 месяцев после перемещения атлантического лосося из пресноводных в морские садки. В последние годы (2016–2019 гг.) заболевание стали регистрировать и на пресноводных фермах [13]. В пресных водоемах PRV поражает молодую рыбу перед смолтификацией [14]. По последним данным, PRV-1 присутствует почти в каждой партии выращиваемого атлантического лосося в морской фазе [8]. Взрослая рыба болеет чаще, чем молодь; самцы болеют чаще, чем самки. Вспышки болезни с повышенным уровнем смертности длятся несколько недель. Количество вируса, обнаруживаемого методом

количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени, прямо коррелирует с развитием заболевания [15]. У диких видов рыб вирус выявляют, но клинических признаков заболевания не обнаруживают. Это связано с тем, что в естественной среде больная рыба быстро погибает или поедается хищниками. После переболевания PRV сохраняется в тканях рыб более года [16]. A. B. Kristoffersen et al. показали, что риск развития ВССМ возрастает с увеличением продолжительности жизни рыб, повышением концентрации вируса во внешней среде и увеличением плотности посадки [17].

*Географическое распространение и восприимчивые виды.* Несмотря на то что PRV широко распространен у культивируемого норвежского лосося [18], а также в диких популяциях атлантического лосося [4], ВССМ отмечено только у культивируемых рыб. Кроме Норвегии PRV широко распространен у аквакультурных атлантического лосося и кижуча в Чили [5, 10], Шотландии, Ирландии, Исландии и на Фарерских островах [19], у выращиваемого и дикого атлантического лосося в Дании [20], культивируемого атлантического лосося и дикой кеты, радужной форели и лосося Кларка в Канаде [5], культивируемых чавычи и кижуча на Атлантическом побережье США [21], выращенных в аквакультуре чавычи и дикого кижуча на Аляске [22]. В экспериментальных условиях K. A. Garver et al. воспроизвели инфекцию PRV у кижуча, чавычи и нерки [16], но патологии сердца или иммунного ответа у этих видов не выявили. Орторевовирус был также обнаружен у 3% исследованной анадромной кумжи, но не был выявлен у арктического гольца [23]. L. Bigarre et al. описали повышенную смертность, вызванную PRV, в популяции кумжи во Франции [24]. Вирус был обнаружен у сбегавшего из садка культивируемого атлантического лосося, что рассматривалось как один из способов распространения заболевания [25]. Во время ПЦР-скрининга проб, полученных от морской рыбы, выловленной вдоль норвежского побережья, S. R. Wiik-Nielsen et al. выявили PRV в низкой концентрации у атлантической мойвы, обыкновенной ставриды и морской корюшки. Авторы предположили, что, вероятно, существуют более сложные взаимосвязи, которые включают несколько носителей и вирусных резервуаров, поскольку не было получено ни одной положительной пробы от рыбы, выловленной вблизи рыбоводческих хозяйств, в которых были зарегистрированы вспышки ВССМ [26].

В Норвегии ВССМ является серьезной проблемой из-за большого количества эпизоотических очагов, в 2014 г. заболевание было диагностировано на 181 ферме [27]. В Чили в первой половине 2015 г. сообщалось о 44 случаях PRV у атлантического лосося [28]. В Британской Колумбии (Канада) 75% исследованных особей культивируемого атлантического лосося были положительными по PRV [29]. Ретроспективные молекулярно-генетические исследования архивных образцов клинического материала, полученного в период с 1974 по 2013 г. из Аляски и Британской Колумбии, показали наличие вируса у различных видов лососевых в образцах 1970-х гг., т. е. до появления аквакультуры атлантического лосося.

Сопровождаемое анемией заболевание, обозначенное как СЭТВ, впервые было описано в 1977 г. у радужной форели [30] и в 1987 г. у чавычи с тихоокеанского

побережья северо-запада США [31]. В 2016 г. в Японии у кижуча с диагнозом СЭТВ был обнаружен орторевовирус, который классифицировали как PRV-2 [7]. Однако, поскольку случаи 1977 и 1987 гг. предшествуют доказательству этиологической роли в заболевании СЭТВ, остается неизвестным, какой этиологический агент (PRV-1 или PRV-2) являлся причиной описанных выше поражений эритроцитов. На сегодняшний день распространение PRV-2 за пределами Японии не доказано.

В 2013 г. в Норвегии было зарегистрировано новое заболевание пресноводной радужной форели, сходное с ВССМ, возбудитель которого был определен как PRV-3 [9]. PRV-3 был обнаружен в Чили у лососевых с признаками поражения сердца [10], у клинически здоровой взрослой радужной форели в Норвегии [32]. В последние годы вирус выявляли во время вспышек заболевания в нескольких европейских странах, включая Шотландию, Германию, Италию и Данию, у радужной форели как с клиническими признаками болезни, так и без них [11]. H. Nauge et al. в 2017 г. опубликовали результаты проведенных опытов по изучению контактной передачи PRV-3 и установили, что вирус данного генотипа активно реплицируется в крови радужной форели и легко передается незараженному хозяину, в то время как его способность к репликации у атлантического лосося ограничена [12]. Есть мнение, что PRV-3 также может быть связан с синдромом пролиферативного потемнения (PDS) у кумжи в примыкающих к Альпам европейских странах [33].

*Передача.* Горизонтальная передача вируса была подтверждена в лабораторных опытах с зараженными и контактными рыбами [2]. На основании этих экспериментов исследователи сделали вывод, что вирус выделяется и передается через воду. H. Nauge et al. обнаружили вирус в фекалиях экспериментально зараженных рыб [34]. Максимальное количество вируса выделяется через две-три недели после экспериментального заражения, что совпадает с пиковыми уровнями накопления вируса в крови [6]. Вертикальная передача вируса менее изучена, и хотя, вероятно, она не является основным способом, ее необходимо учитывать, пока не появятся доказательства обратного [26]. Путь проникновения вируса в восприимчивый организм до сих пор неизвестен. Возможность передачи PRV морскими видами не может быть исключена. В 2012 г. S. R. Wiik-Nielsen et al. обнаружили геном PRV у золотой корюшки (*Argentina silus*), мойвы (*Mallotus villosus*), обыкновенной ставриды (*Trachurus trachurus*), атлантической сельди (*Clupea harengus*) [26]. Поэтому PRV представляет потенциальную угрозу выживанию популяции дикого атлантического лосося.

## ПАТОГЕНЕЗ

Клетками-мишенями PRV являются миоциты, эритроциты и макрофаги. Вирус поражает эритроциты лосося на ранних стадиях инфекции, причем в острой фазе заболевания поражение за короткое время может достигать 50% [6]. В эритроцитах обнаруживают тельца-включения, аналогичные таковым при СЭТВ. Эритроциты рыб, в отличие от эритроцитов млекопитающих, являются ядросодержащими клетками, способными к выработке белка [35], и следовательно, способны поддерживать репликацию вируса. D. Morera и S. A. MacKenzie обнаружили, что эритроциты рыб участвуют в иммунных реакциях организма [36].

Инфицирование эритроцитов PRV приводит к их дисфункции, снижению уровня гемоглобина в крови и анемии. Рыба становится более чувствительна к стрессовым факторам и гипоксическим условиям [37]. Увеличивается нагрузка на сердце, что в сочетании с размножением вируса в клетках сердечной мышцы приводит к поражению и дисфункции этого органа. Из-за сердечной недостаточности возникают нарушения кровообращения (застойные явления). При вскрытии погибших лососей чаще всего обнаруживаются признаки нарушения кровообращения. Печень не справляется со своей функцией, что приводит к ее поражению. Размножение PRV в эритроцитах приводит к инфекционной гемолитической анемии и последующей желтухе [10].

По литературным данным, PRV является причиной возникновения синдрома черных (меланизированных) очагов в красной и белой скелетной мускулатуре культивируемого атлантического лосося в Норвегии [38]. У пойкилотермных животных, в том числе и у рыб, есть популяции лейкоцитов, которые продуцируют меланин, являющийся мощным антиоксидантом. Очаговое изменение цвета в мышцах обусловлено меланинпродуцирующими макрофагами (меланомакрофагами), которые в норме встречаются в лимфоидных органах рыб [39]. Функция меланомакрофагов – защита от окислительных повреждений. Патогенез развития меланизированных очагов следующий: цитотоксические иммунные клетки используют окисление для инактивации патогенов. Размножение вируса в миоцитах (хро-

ническая антигенная стимуляция) ведет к хроническим воспалительным реакциям. Меланомакрофаги устремляются в места, где происходят хронические воспалительные реакции. Таким образом, меланизированные очаги в мышечной ткани, вероятно, являются следствием аутоиммунных реакций.

Вирус PRV распространен повсеместно, однако заболевание ВССМ развивается не всегда. Из этого можно сделать вывод, что основными пусковыми механизмами заболевания являются стресс и факторы внешней среды.

### КЛИНИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ

Обычно ВССМ появляется через 5–9 мес. после перемещения атлантического лосося из пресноводных в морские садки. По внешнему виду больная рыба не отличается от здоровой. В тяжелых случаях можно отметить взъерошенность чешуи, бледность жабр и экзофтальмию. Наблюдаются изменения в поведенческих реакциях. Больные рыбы становятся вялыми, отказываются от корма, наблюдается нарушение координации движения при плавании. Рыбы обычно располагаются около стенки садка и обращены головой к течению, что говорит о нехватке кислорода, повышается смертность [1].

В естественных условиях ВССМ осложняется коинфекцией другими вирусными патогенами (альфавирусом лососевых – возбудителем заболевания поджелудочной железы (PD), инфекционным некрозом гематопозитической ткани (IHNV), вирусным миокардитом рыб (PMCV) и др.), а также бактериальными и грибковыми заболеваниями (*Piscirickettsia salmonis*, *Flavobacterium psychrophilum*, *Saprolegnia* sp. и др.), которые делают клиническую картину смазанной [40].

### ПАТОЛОГОАНАТОМИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ

При патологоанатомическом вскрытии у атлантического лосося отмечают признаки анемии (бледность жабр и сердца, желтушность), нарушения гемодинамики и сердечной деятельности (асцит, увеличение сердца и потеря его структуры, кровоизлияния в перикард, воздушный пузырь и висцеральный жир), поражения печени (гепатомегалия, изменение цвета печени, кровоизлияния в печень), увеличение селезенки и почек (рис. 1). Одним из часто встречающихся патологоанатомических признаков является гемоперикард (кровоизлияние в полость перикарда), который провоцирует развитие тампонады сердца и может закончиться кровоизлиянием в полость тела и гибелью рыбы [1, 3, 10, 19]. Поджелудочная железа при ВССМ не поражается. Патологические признаки ВССМ указывают на недостаточность кровообращения (застойные явления), возникшую из-за сердечной недостаточности.

Патологоанатомические признаки ВССМ-подобного заболевания в Чили у культивируемого кижуча включают: бледность жабр, гемоперикард, бледность сердца и желтую печень [10].

Поражение мышц чаще проявляется в более поздние стадии развития заболевания. В мышцах радужной форели распространенность меланизированных очагов незначительна, несмотря на то что она выращивалась в аналогичных с атлантическим лососем условиях (рис. 2). Также нет сообщений о подобных поражениях у диких лососевых [38].

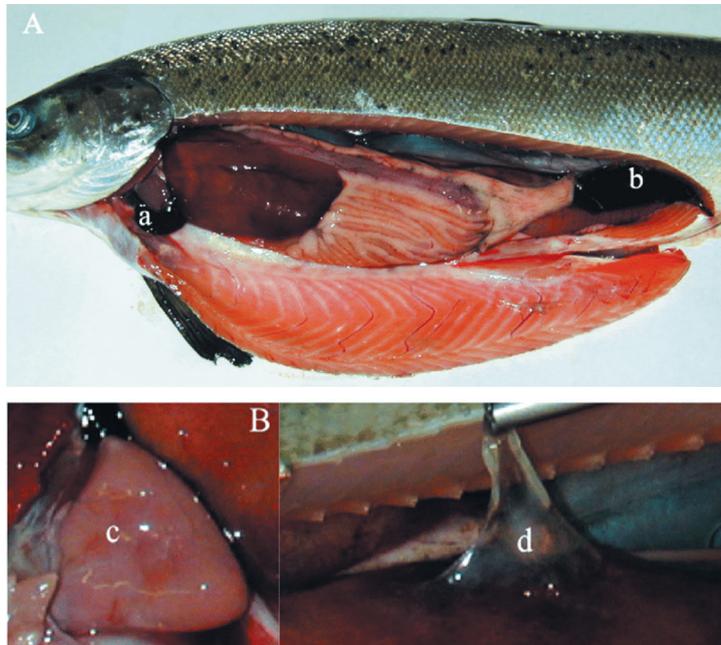


Фото: ©R. T. Kongtorp

(<https://www.int-res.com/articles/dao2004/59/d059p217.pdf>)

Рис. 1. Макроскопические изменения при воспалении сердечных и скелетных мышц (HSMI) у атлантического лосося

A – гемоперикард (a), увеличение селезенки (b);

B – бледное сердце (c), фибриновая пленка на печени (d).

Fig. 1. *Salmo salar*. Macroscopic lesions in heart and skeletal muscle inflammation

A – haemopericardium (a), swollen spleen (b);

B – pale heart (c), fibrinous layer on the liver (d).

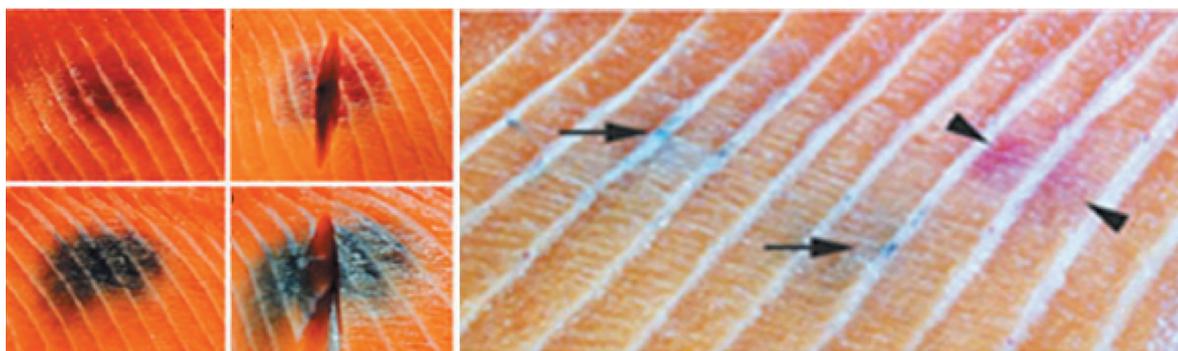


Фото: ©Havard Bjorgen

(<https://veterinaryresearch.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/s13567-015-0244-6>)

Рис. 2. Изменения в мышцах при симптомокомплексе воспаления сердечных и скелетных мышц (HSMI)

Fig. 2. Muscle lesions in case of aggregated signs of heart and skeletal muscle inflammation (HSMI)

Еще одним признаком ВССМ является синдром желтухи (jaundice syndrome) у чавычи и кижуча. Причиной синдрома желтухи является инфекционная гемолитическая анемия, связанная с размножением PRV в эритроцитах [10].

### ГИСТОПАТОЛОГИЯ

Гистопатологические поражения при ВССМ обнаруживаются в сердце и красной скелетной мышце (миокардит и некроз красной скелетной мышцы, рис. 3). При дегенерации и некрозе мышечных клеток в сердце в обширную воспалительную реакцию вовлекаются как компактный, так и губчатый слои желудочка. Инфильтраты состоят из моноцитов. Встречается обширный эпикардит, обычно тесно связанный с миокардитом. Дегенерация миокарда и некроз наблюдаются на поздних стадиях заболевания. Воспаление красных мышц происходит по той же схеме, что и в сердце: в пораженных миоцитах появляются признаки дегенерации, потери поперечной исчерченности и эозинофилии, вакуолизации и кариорексиса. Также могут наблюдаться очаговый некроз печени, нарушения кровообращения, отек и накопление эритроцитов в некоторых ор-

ганах [1, 2, 3, 6, 27]. Гистопатологические изменения у кижуча при заболевании, связанном с PRV-3, отличались от тех, что отмечались у атлантического лосося и у радужной форели, пораженных орторевиром в Норвегии. У чилийского кижуча воспаление сердца было диффузным и, как правило, затрагивало губчатый слой; поражение красных мышц было незначительным или вовсе отсутствовало [10].

Основными гистологическими признаками синдрома желтухи являются кровоизлияния во все органы и тяжелый гемосидероз, сопровождающийся эритрофагоцитозом в почках и селезенке [10].

### ИММУНИТЕТ

Инфицирование PRV активирует как клеточные, так и гуморальные иммунные реакции [41]. Как было отмечено выше, ткани сердца являются местом репликации вируса. Иммунной реакцией на размножение вируса является появление в сердце цитотоксических Т-лимфоцитов (CD8+), это говорит о том, что иммунный ответ направлен на зараженные вирусом клетки. O. W. Finstad et al. отметили, что цитотоксические клеточные реакции против инфицированных клеток

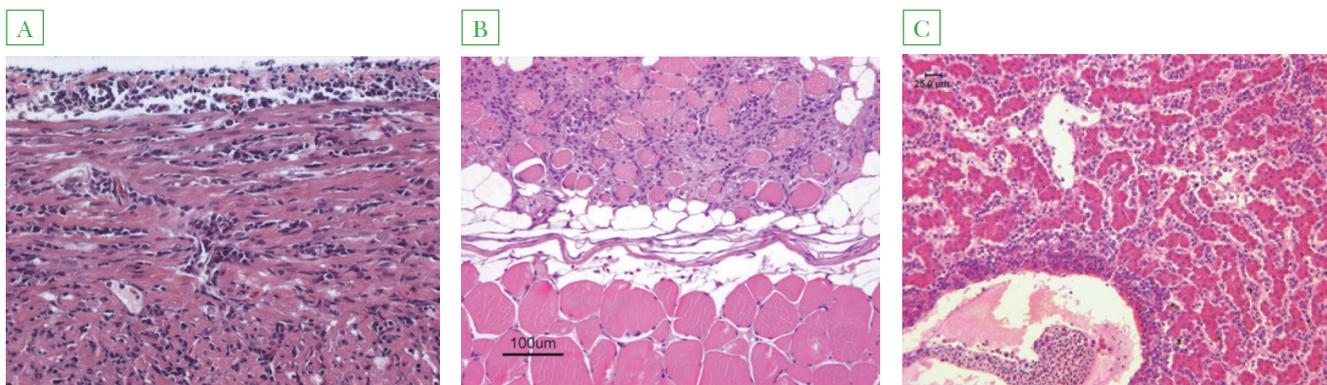


Фото: ©David W. Bruno

(<https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2F978-94-007-2010-7.pdf>)

Рис. 3. Гистопатологические поражения при ВССМ

A – воспаление в сердце;

B – дегенерация и воспаление красных мышц (вверху);

C – воспаление в печени.

Fig. 3. HSMI histopathological lesions

A – heart inflammation;

B – red muscle degeneration and inflammation (top);

C – liver inflammation.

играют важное значение в иммунитете против ВССМ, в то же время эти реакции напрямую ответственны за развитие поражений в сердце и скелетных мышцах. Эритроциты атлантического лосося являются клетками-мишенями для репликации PRV [6] и могут играть непосредственную роль в иммунном ответе [36]. Эритроциты реагируют на инфекцию интерферон-опосредованным противовирусным иммунным ответом [42], который способен защитить от последующего заражения IHNV, альфавирусом лососевых и, возможно, от других инфекционных агентов [40, 43].

### МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ

Диагноз ВССМ основан на гистологических признаках воспаления миокарда, переходящего на эпителиальный эндокард, некроза миокарда, миозита и некроза красной скелетной мышцы [1] в сочетании с постановкой количественной ПЦР в режиме реального времени (RT-qPCR). Целевой тканью, отбираемой для диагностики, обычно является сердце, так как необходимо связать наличие вируса с патологией сердечных мышц. ВССМ необходимо дифференцировать от болезни поджелудочной железы [44] и синдрома кардиомиопатии (CMS) [45].

### ПРОФИЛАКТИКА И КОНТРОЛЬ

Воспаление сердечных и скелетных мышц не подлежит обязательной нотификации во Всемирную организацию здравоохранения животных (МЭБ). Заболевание, связанное с PRV-инфекцией, было официально зарегистрировано только в Норвегии [4, 46] и Чили [10]. ВССМ было исключено из Национального списка-3 и поэтому в настоящее время определено как не подлежащее уведомлению в Норвегии [27].

Несмотря на выработку специфических антител после заражения PRV [41], вирус повсеместно распространен в популяциях чувствительных к нему рыб. Данный факт указывает на то, что иммунная система не способна полностью элиминировать вирус, и это является проблемой при разработке эффективных вакцин. Несколько производственных компаний и научных учреждений в мире официально поставили цель разработать вакцины против ВССМ с использованием различных стратегий (цельновирионные вакцины, рекомбинантные субъединичные и ДНК-вакцины). В настоящее время ни одной вакцины не создано.

Болезнь рыбы чрезвычайно чувствительна к стрессовым факторам и гипоксическим условиям. Необходимо проводить диагностические исследования по определению наличия вируса PRV в популяции рыб рыбоводного хозяйства. При обнаружении положительных по PRV рыб, для уменьшения потерь от ВССМ, необходимо отказаться от иммуносупрессивных и стрессовых обработок, ограничить транспортировку рыбы и обращаться с ней максимально бережно. Это снизит нагрузку на сердце инфицированных рыб и сократит их гибель.

Для профилактики заболевания целесообразно применение дезинфектантов, уменьшающих количество вирусов и условно-патогенных бактерий во внешней среде. Применение противовоспалительных средств также дает положительный эффект при борьбе с ВССМ. Есть сообщения о разработке лечебных кормов, которые обладают антиоксидантным и противовоспалительным действием, что способ-

ствует сокращению потерь от ВССМ, а также уменьшает долю выбраковки рыб с наличием темных пятен в мышцах [47].

Еще одним способом борьбы с ВССМ является разведение устойчивых к заболеванию рыб и выведение устойчивых пород.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Воспаление сердечных и скелетных мышц является инфекционной болезнью рыб с высоким уровнем заболеваемости и длительным течением. В условиях аквакультуры неизбежно происходит интенсификация рыбоводства, включающая увеличение плотности посадки, что облегчает передачу патогена, вызывает стресс и снижает устойчивость к заболеваниям. На сегодняшний день заболевание имеет тенденцию к широкому распространению (страны Европы, Северная и Южная Америка), выявляются новые варианты вируса, увеличивается диапазон чувствительных видов. Заболевание, вызываемое PRV, является третьим по значимости в популяции культивируемого атлантического лосося в Норвегии. Воспаление сердечных и скелетных мышц повсеместно распространено в Норвегии среди культивируемого и дикого атлантического лосося. С 2010 г. в Норвегии ежегодно выявляют от 100 до 200 неблагополучных по ВССМ пунктов [13]. Наибольшее количество очагов отмечают в Средней и Северной Норвегии, пограничной с Мурманской областью. До 20% филе атлантического лосося на перерабатывающих предприятиях Норвегии имеют меланизированные очаги в мышцах [48], что снижает качество продукции и увеличивает экономические потери от этого вируса для аквакультуры. Это говорит о том, что последствия заражения PRV могут быть более тяжелыми, чем предполагалось первоначально.

Несмотря на вышеперечисленные обстоятельства по ВССМ, в 2014 г. Управление по безопасности пищевых продуктов Норвегии исключило это заболевание из Национального списка-3 болезней, подлежащих уведомлению. Поэтому наблюдаемое с 2015 г. снижение количества неблагополучных пунктов, вероятно, не соответствует действительности. Кроме того, в Норвегии отсутствует государственная программа по борьбе с ВССМ, в связи с чем положительных сдвигов в ситуации не предвидится.

Орторевовирус рыб обнаруживают у дикого мигрирующего атлантического лосося [38], что свидетельствует о том, что вирус может распространяться естественным путем на большие расстояния. Доказательством данного факта служит то, что в генетическом отношении варианты PRV, обнаруженные на различных континентах, имеют большое сходство [10].

Приведенные выше данные свидетельствуют о существенной угрозе заноса вируса PRV из сопредельных стран на территорию Российской Федерации.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Kongtorp R. T., Kjerstad A., Taksdal T., Guttvik A., Falk K. Heart and skeletal muscle inflammation in Atlantic salmon, *Salmo salar* L.: a new infectious disease. *J. Fish Dis.* 2004; 27 (6): 351–358. DOI: 10.1111/j.1365-2761.2004.00549.x.
2. Kongtorp R. T., Taksdal T. Studies with experimental transmission of heart and skeletal muscle inflammation in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *J. Fish Dis.* 2009; 32 (3): 253–262. DOI: 10.1111/j.1365-2761.2008.00983.x.
3. Watanabe K., Karlsen M., Devold M., Isdal E., Litlabo A., Ny-lund A. Virus-like particles associated with heart and skeletal muscle

- inflammation (HSMI). *Dis. Aquat. Organ.* 2006; 70 (3): 183–192. DOI: 10.3354/dao070183.
4. Palacios G., Lovoll M., Tengs T., Hornig M., Hutchison S., Hui J., Kongtorp R.-T., Savji N., Bussetti A. V., Solovyov A., Kristoffersen A. B., Celone C., Street C., Trifonov V., Hirschberg D. L., Rabadan R., Egholm M., Rimstad E., Lipkin W. I. Heart and skeletal muscle inflammation of farmed salmon is associated with infection with a novel reovirus. *PLoS One.* 2010; 5(7):e11487. DOI: 10.1371/journal.pone.0011487.
  5. Kibenge M. J. T., Iwamoto T., Wang Y., Morton A., Godoy M. G., Kibenge F. S. Whole-genome analysis of piscine reovirus (PRV) shows PRV represents a new genus in family Reoviridae and its genome segment S1 sequences group it into two separate sub-genotypes. *Virologica J.* 2013; 10:230. DOI: 10.1186/1743-422X-10-230.
  6. Finstad O. W., Dahle M. K., Lindholm T. H., Nyman I. B., Lovoll M., Wallace C., Olsen C. M., Storset A. K., Rimstad E. Piscine orthoreovirus (PRV) infects Atlantic salmon erythrocytes. *Vet. Res.* 2014; 45:35. DOI: 10.1186/1297-9716-45-35.
  7. Takano T., Nawata A., Sakai T., Matsuyama T., Ito T., Kurita J., Terashima S., Yasuie M., Nakamura Y., Fujiwara A., Kumagai A., Nakayasu C. Full-genome sequencing and confirmation of the causative agent of erythrocytic inclusion body syndrome in coho salmon identifies a new type of *Piscine orthoreovirus*. *PLoS One.* 2016; 11(10):e0165424. DOI: 10.1371/journal.pone.0165424.
  8. Wessel O., Braaen S., Alarcon M., Haatveit H., Roos N., Markussen T., Tengs T., Dahle M. K., Rimstad E. Infection with purified *Piscine orthoreovirus* demonstrates a causal relationship with heart and skeletal muscle inflammation in Atlantic salmon. *PLoS One.* 2017; 12(8):e0183781. DOI: 10.1371/journal.pone.0183781.
  9. Olsen A. B., Hjortaa M., Tengs T., Hellberg H., Johansen R. First description of a new disease in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* (Walbaum)) similar to heart and skeletal muscle inflammation (HSMI) and detection of a gene sequence related to piscine orthoreovirus (PRV). *PLoS One.* 2015; 10(7):e0131638. DOI: 10.1371/journal.pone.0131638.
  10. Godoy M. G., Kibenge M. J. T., Wang Y., Suarez R., Leiva C., Vallejos F., Kibenge F. S. B. First description of clinical presentation of piscine orthoreovirus (PRV) infections in salmonid aquaculture in Chile and identification of a second genotype (Genotype II) of PRV. *Virologica J.* 2016; 13:98. DOI: 10.1186/s12985-016-0554-y.
  11. Dhamotharan K., Vendramin N., Markussen T., Wessel O., Cuenca A., Nyman I. B., Olsen A. B., Tengs T., Krudtaa D. M., Rimstad E. Molecular and antigenic characterization of *Piscine orthoreovirus* (PRV) from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Viruses.* 2018; 10 (4):170. DOI: 10.3390/v10040170.
  12. Hauge H., Vendramin N., Taksdal T., Olsen A. B., Wessel O., Mikkelson S. S., Alencar A. L. F., Olesen N. J., Dahle M. K. Infection experiments with novel *Piscine orthoreovirus* from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in salmonids. *PLoS One.* 2017; 12 (7):e0180293. DOI: 10.1371/journal.pone.0180293.
  13. Hjeltnes B., Borno G., Jansen M. D., Haukaas A., Walde C. (Eds.). The health situation in Norwegian aquaculture 2016 (Rapport 4b, 2017). *Norwegian Veterinary Institute.* 2017. Available at: <https://www.vetinst.no/rapporter-og-publikasjoner/rapporter/2017/fish-health-report-2016> (date of access: 10.11.2019).
  14. Wiik-Nielsen C. R., Ski P.-M. R., Aunsmo A., Lovoll M. Prevalence of viral RNA from piscine reovirus and piscine myocarditis virus in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., broodfish and progeny. *J. Fish Dis.* 2012; 35 (2): 169–171. DOI: 10.1111/j.1365-2761.2011.01328.x.
  15. Garseth A. H., Biering E., Aunsmo A. Associations between piscine reovirus infection and life history traits in wild-caught Atlantic salmon *Salmo salar* L. in Norway. *Prev. Vet. Med.* 2013; 112 (1–2): 138–146. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2013.06.007.
  16. Garver K. A., Johnson S. C., Polinski M. P., Bradshaw J. C., Marty G. D., Snyman H. N., Morrison D. B., Richard J. Piscine orthoreovirus from Western North America is transmissible to Atlantic Salmon and Sockeye Salmon but fails to cause heart and skeletal muscle inflammation. *PLoS One.* 2016; 11 (1):e0146229. DOI: 10.1371/journal.pone.0146229.
  17. Kristoffersen A. B., Bang J. B., Jansen P. A. Risk mapping of heart and skeletal muscle inflammation in salmon farming. *Prev. Vet. Med.* 2013; 109 (1–2): 136–143. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2012.08.012.
  18. Lovoll M., Alarcón M., Jensen B. B., Taksdal T., Kristoffersen A. B., Tengs T. Quantification of piscine reovirus (PRV) at different stages of Atlantic salmon *Salmo salar* production. *Dis. Aquat. Organ.* 2012; 99 (1): 7–12. DOI: 10.3354/dao02451.
  19. Ferguson H. W., Kongtorp R. T., Taksdal T., Graham D., Falk K. An outbreak of disease resembling heart and skeletal muscle inflammation in Scottish farmed salmon, *Salmo salar* L., with observations on myocardial regeneration. *J. Fish Dis.* 2005; 28 (2): 119–123. DOI: 10.1111/j.1365-2761.2004.00602.x.
  20. Mikkelsen S. S., Arno J., Bruun M. S. PMCV and PRV occurrence in wild and farmed fish in Denmark. *European Union Reference Laboratory for Fish Diseases Report: 18<sup>th</sup> Annual Workshop of the National Reference Laboratories for Fish Diseases, 3–4 June 2014.* Frederiksberg, 2014: 38–39. Available at: [https://backend.orbit.dtu.dk/ws/portalfiles/portal/103751339/Pages\\_from\\_Report\\_18th\\_AW\\_2014\\_1\\_.pdf](https://backend.orbit.dtu.dk/ws/portalfiles/portal/103751339/Pages_from_Report_18th_AW_2014_1_.pdf) (date of access: 10.11.2019).
  21. WFR (Western Fisheries Research Center) Information Sheet, May 2014. Piscine reovirus. – Available at: <http://wfr.usgs.gov/field-stations/hq/viruspdf/piscinereovirus05272014.pdf> (date of access: 10.11.2019).
  22. Marty G. D., Morrison D. B., Bidulka J., Joseph T., Siah A. Piscine reovirus in wild and farmed salmonids in British Columbia, Canada: 1974–2013. *J. Fish Dis.* 2015; 38 (8): 713–728. DOI: 10.1111/jfd.12285.
  23. Garseth Å. H., Fritsvold C., Opheim M., Skjerve E., Biering E. Piscine reovirus (PRV) in wild Atlantic salmon, *Salmo salar* L., and sea-trout, *Salmo trutta* L., in Norway. *J. Fish Dis.* 2013; 36 (5): 483–493. DOI: 10.1111/j.1365-2761.2012.01450.x.
  24. Bigarre L., Boitard P.-M., Labrut S., Jamin M. Short item. Emergence of HSMI syndrome on salmonids in France. *Bull. Epidemiol. Sante animale – alimentation.* July 2018. Available at: <https://www.researchgate.net/publication/334561736> (date of access: 10.11.2019).
  25. Madhun A. S., Karlsbakk E., Isachsen C. H., Omdal L. M., Eide Sorvik A. G., Skaala O., Barlaup B. T., Glover K. A. Potential disease interaction reinforced: double-virus-infected escaped farmed Atlantic salmon, *Salmo salar* L., recaptured in a nearby river. *J. Fish Dis.* 2015; 38 (2): 209–219. DOI: 10.1111/jfd.12228.
  26. Wiik-Nielsen C. R., Lovoll M., Sandlund N., Faller R., Wiik-Nielsen J., Bang Jensen B. First detection of piscine reovirus (PRV) in marine fish species. *Dis. Aquat. Organ.* 2012; 97 (3): 255–258. DOI: 10.3354/dao02425.
  27. Bornø G., Lie Linaker M. (eds) Fiskehelse rapporten – 2014. *Harstad: Veterinærinstituttet.* 2015: 38. Available at: [https://www.vetinst.no/attachment/download/fish\\_health\\_report\\_2014.pdf](https://www.vetinst.no/attachment/download/fish_health_report_2014.pdf) (date of access: 11.11.2019).
  28. Informe sanitario de la Salmonicultura en Centros Marinos 2014. Departamento de Salud Animal Subdirección Nacional de Acuicultura Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura, febrero 2015. Available at: [http://www.sernapesca.cl/sites/default/files/informe\\_sanitario\\_2014.pdf](http://www.sernapesca.cl/sites/default/files/informe_sanitario_2014.pdf) (date of access: 11.11.2019).
  29. Feinberg J. Science divided on fish virus found in Cultus Lake trout. *The Chilliwack Progress.* July 23, 2012. Available at: <https://www.theprogress.com/news/science-divided-on-fish-virus-found-in-cultus-lake-trout> (date of access: 11.11.2019).
  30. Landolt M. L., MacMillan J. R., Patterson M. Detection of an intra-erythrocytic virus in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Fish Health News.* 1977; 6: 4–6.
  31. Leek S. L. Viral erythrocytic inclusion body syndrome (EIBS) occurring in juvenile spring chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) reared in freshwater. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1987; 44: 685–688.
  32. Gjevne A. G., Modahl I., Spilsberg B., Lyngstad T. M. The surveillance programme for virus associated with disease in rainbow trout (PRV-Om) in 2016 (Annual report). The Norwegian Veterinary Institute; 2017: 8. Available at: [https://www.vetinst.no/overvaking/Piscine-orthoreovirus-Oncorhynchus-mykiss-PRVom-fisk/\\_attachment/download/d6ff8741-307e-4c30-8456-50b85002b678:1c5088843c6f2c7dd4bc6e8c0c1d8fd-caad7c921/2017\\_OK\\_PRVom\\_2016.pdf](https://www.vetinst.no/overvaking/Piscine-orthoreovirus-Oncorhynchus-mykiss-PRVom-fisk/_attachment/download/d6ff8741-307e-4c30-8456-50b85002b678:1c5088843c6f2c7dd4bc6e8c0c1d8fd-caad7c921/2017_OK_PRVom_2016.pdf) (date of access: 11.11.2019).
  33. Kuehn R., Stoeckle B. C., Young M., Popp L., Tæubert J.-E., Pfaffl M. W., Geist J. Identification of a piscine reovirus-related pathogen in proliferative darkening syndrome (PDS) infected brown trout (*Salmo trutta fario*) using a next-generation technology detection pipeline. *PLoS One.* 2018; 13(10):e0206164. DOI: 10.1371/journal.pone.0206164.
  34. Hauge H., Dahle M., Moldal T., Thoen E., Gjevne A.-G., Weli S., Alarcón M., Grove S. Piscine orthoreovirus can infect and shed through the intestine in experimentally challenged Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Vet. Res.* 2016; 47 (1): 57–69. DOI: 10.1186/s13567-016-0343-z.
  35. Lund S. G., Phillips M. C., Moyes C. D., Tufts B. L. The effects of cell ageing on protein synthesis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) red blood cells. *J. Exp. Biol.* 2000; 203 (14): 2219–2228. PMID: 10862734.
  36. Morera D., MacKenzie S. A. Is there a direct role for erythrocytes in the immune response? *Vet. Res.* 2011; 42:89. DOI: 10.1186/1297-9716-42-89.
  37. Lund M., Krudtaa Dahle M., Timmerhaus G., Alarcon M., Powell M., Aspehaug V., Rimstad E., Jorgensen S. M. Hypoxia tolerance and responses to hypoxic stress during heart and skeletal muscle inflammation in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *PLoS One.* 2017; 12 (7):e0181109; DOI: 10.1371/journal.pone.0181109.
  38. Bjorgen H., Wessel O., Fjellidal P. G., Hansen T., Sveier H., Sæbo H. R., Enger K. B., Monsen E., Kvellestad A., Rimstad E., Koppang E. O. Piscine orthoreovirus (PRV) in red and melanised foci in white muscle of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Vet. Res.* 2015; 46:89. DOI: 10.1186/s13567-015-0244-6.
  39. Agius C., Roberts R. J. Melano-macrophage centres and their role in fish pathology. *J. Fish. Dis.* 2003; 26 (9): 499–509. DOI: 10.1046/j.1365-2761.2003.00485.x.

40. Rosæg M. V., Lund M., Nyman I. B., Markussen T., Aspehaug V., Sindre H., Dahle M. K., Rimstad E. Immunological interactions between *Piscine orthoreovirus* and *Salmonid alphavirus* infections in Atlantic salmon. *Fish Shellfish Immunol.* 2017; 64: 308–319. DOI: 10.1016/j.fsi.2017.03.036.
41. Teige L. H., Lund M., Haatveit H. M., Rosæg M. V., Wessel O., Dahle M. K., Storset A. K. A bead based multiplex immunoassay detects *Piscine orthoreovirus* specific antibodies in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Fish Shellfish Immunol.* 2017; 63: 491–499. DOI: 10.1016/j.fsi.2017.02.043.
42. Dahle M. K., Wessel O., Timmerhaus G., Nyman I. B., Jorgensen S. M., Rimstad E., Krasnov A. Transcriptome analyses of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) erythrocytes infected with piscine orthoreovirus (PRV). *Fish Shellfish Immunol.* 2015; 45 (2): 780–790. DOI: 10.1016/j.fsi.2015.05.049.
43. Vendramin N., Alencar A. L. F., Iburg T. M., Dahle M. K., Wessel O., Olsen A. B., Rimstad E., Olesen N. J. *Piscine orthoreovirus* infection in Atlantic salmon (*Salmo salar*) protects against subsequent challenge with infectious hematopoietic necrosis virus (IHNV). *Vet. Res.* 2018; 49 (1):30. DOI: 10.1186/s13567-018-0524-z.
44. McLoughlin M. F., Graham D. A. Alphavirus infections in salmonids – a review. *J. Fish Dis.* 2007; 30 (9): 511–531. DOI: 10.1111/j.1365-2761.2007.00848.x.
45. Ferguson H. W., Poppe T., Speare D. J. Cardiomyopathy in farmed Norwegian salmon. *Dis. Aquat. Org.* 1990; 8: 225–231. Available at: <https://www.int-res.com/articles/dao/8/d008p225.pdf> (date of access 12.11.2019).
46. Mikalsen A. B., Haugland O., Rode M., Solbakk I. T., Evensen O. Atlantic salmon reovirus infection causes a CD8T Cell myocarditis in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *PLoS One.* 2012; 7 (6):e37269. DOI: 10.1371/journal.pone.0037269.
47. Martinez-Rubio L., Morais S., Evensen O., Wadsworth S., Ruohonen K., Vecino J. L. G., Bell G., Tocher D. R. Functional feeds reduce heart inflammation and pathology in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) following experimental challenge with Atlantic salmon reovirus (ASRV). *PLoS One.* 2012; 7(11):e40266. DOI: 10.1371/journal.pone.0040266.
48. Morkore T., Heia K. Black spots in salmon fillet – extent and methods of measurement. *Norsk Fiskeoppdrett.* 2012; 3: 50–53.

Поступила 27.11.2019

Принята в печать 05.02.2020

Submitted on 27.11.2019

Approved for publication on 05.02.2020

### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**Мельников Владимир Петрович**, кандидат ветеринарных наук, заведующий референтной лабораторией болезней аквакультуры ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

**Пронин Валерий Васильевич**, доктор биологических наук, профессор, руководитель центра доклинических исследований ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

**Vladimir P. Melnikov**, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Head of Reference Laboratory for Aquaculture Diseases FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

**Valery V. Pronin**, Doctor of Science (Biology), Professor, Head of the Centre for Preclinical Tests FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.