

NOTA TÉCNICA N° 13

Febrero 2025



HSMI en salmón del Atlántico: Profundizando en su agente causal, PRV-1

Elaborado por:
Área Asistencia Técnica & Area I+D+i

Introducción

La Inflamación del Musculo Esquelético y Cardíaco (HSMI) es originada por *Piscine orthoreovirus* (PRV), un virus dsRNA, sin envoltura y con un genoma de 10 segmentos (Dhamotharan *et al.*, 2023a). Si bien afecta a las tres especies de salmónidos cultivadas en Chile, pueden existir diferencias de presentación según la variante genética, ya que algunas especies comparten variante.

Pese a llevar más de 20 años desde el primer diagnóstico de HSMI en Noruega, y 15 años desde la identificación del agente, aún existen muchas interrogantes sobre la relación entre PRV y HSMI y, en especial, los posibles factores que influyen en la presentación de la enfermedad.

Historia de HSMI en salmón del Atlántico y la asociación con PRV

- 1999: Se diagnostica HSMI por primera vez en salmón del Atlántico (*Salmo salar*) cultivado en Noruega (Kongtorp *et al.*, 2004).
- 2005: Se reporta HSMI en un cultivo de salmón del Atlántico en Reino Unido.

- 2006: Se observan partículas virales (mediante microscopía electrónica de transmisión, MET) en tejido renal y cardíaco de salmónes cursando cuadro de HSMI (Watanabe *et al.*, 2006), lo que evidencia el posible origen infeccioso-viral de la patología.
- 2010: Se describe por primera vez la asociación entre HSMI y PRV mediante técnica de pirosecuenciación de alto rendimiento (Palacios *et al.*, 2010), al identificar molecularmente PRV en salmón del Atlántico cursando brote de HSMI.
- 2011: Primer reporte de HSMI en salmón del Atlántico cultivado en Chile (Bustos *et al.*, 2011).
- Se reporta HSMI en salmón del Atlántico de cultivo en un amplio número de países, entre ellos: Canadá, Irlanda, Islandia, Alemania, Dinamarca, Francia y Estados Unidos (Biering y Garseth, 2012; Kibenge *et al.*, 2013; Rodger *et al.*, 2014; Marty *et al.*, 2015; Siah *et al.*, 2015; Garver *et al.*, 2016; Adamek *et al.*, 2018; Labrut *et al.*, 2018).

PRV

Actualmente, se describen tres variantes de PRV, dos de ellas presentes en Chile, siendo PRV-1 asociado a infección en salmón del Atlántico, trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) de muy rara presentación y salmón coho (*Oncorhynchus kisutch*), siendo particularmente patógeno en salmón del Atlántico. PRV-3 se ha asociado a la enfermedad en salmón coho y en trucha arcoíris, siendo especialmente complicada en el primero. Por su parte, PRV-2 es exótico para Chile y sólo se ha reportado en salmón coho en Japón asociado al cuadro Síndrome de Cuerpos de Inclusión Intraeritrocitarios (CIIE) (Takano *et al.*, 2016).

El análisis filogenético de secuencias parciales de los aislados de PRV agrupó las cepas de PRV de Noruega en un solo genotipo, genotipo 1 o PRV-1, con dos subgenotipos (1a y 1b) en base a variaciones del segmento S1, siendo sólo el subgenotipo 1b reportado en el salmón del Atlántico cultivado en Chile y solo el subgenotipo 1a en Canadá (Kibenge *et al.*, 2013). Sin embargo, el análisis de genoma completo permite tener una mejor capacidad para identificar

subgrupos en comparación con solo analizar el segmento S1 (Siah *et al.*, 2015), lo que puede ser significativo, ya que la evidencia sugiere que en Noruega puede estar ocurriendo una reorganización de segmentos entre subgrupos; es decir, entre PRV-1a y PRV-1b (Markussen *et al.*, 2018).

PRV-1 y HSMI

El aislamiento de PRV en cultivos celulares ha sido muy difícil, siendo la purificación de partículas virales desde eritrocitos de peces infectados la metodología de elección para estudios de patogenia. La dificultad para aislar el virus y propagarlo ha limitado el estudio del agente. Además, su naturaleza ubicua y alta prevalencia en peces aparentemente sanos ha generado debate sobre la real asociación entre PRV y HSMI. Un estudio realizado en 2015 por Garver y col en salmón del Atlántico del noroeste de Norteamérica, logró reproducir la infección con PRV-1, pero sin desarrollar HSMI. Además, existen estudios que demuestran la ausencia de cambios patológicos pese a la presencia y replicación del agente viral.

Por ejemplo, un estudio de desafío realizado por Purcell y col (2020), en el que se inoculó PRV-1 en trucha arcoiris, salmón coho y salmón Chinook (*Oncorhynchus tshawytscha*), evidenció la presencia del agente en los eritrocitos de todas las especies. Sin embargo, no se logró reproducir la enfermedad. En este caso, una explicación para lo observado podría ser la especificidad de PRV-1 por el huésped, al ser una variante altamente asociada a enfermedad en salmón del Atlántico. No obstante, en el mencionado estudio de Garver (2015), se desafiaron salmones del Atlántico con una cepa de PRV-1 purificada y obtenida desde peces naturalmente infectados de una piscicultura de British Columbia, Canadá. Los peces desafiados, inoculados intraperitonealmente y también por cohabitación, alcanzaron altas cargas virales, pero no se pudieron atribuir lesiones microscópicas, enfermedad o mortalidad por la presencia de PRV. El análisis comparativo del segmento S1 identificó una alta similitud entre esta secuencia norteamericana y secuencias previas asociadas con HSMI en Noruega.

Otro buen ejemplo corresponde a un estudio conjunto liderado por la Dra. Isabel Aguirre, entre la Universidad Austral de Chile y ADL, llevado a cabo el 2019, en el que salares de 70-90 g todos portadores de PRV-1 con niveles de Ct en PCR de 20-24, fueron desafiados con *Piscirickettsia salmonis* por cohabitación, de manera de hacer un seguimiento de la presencia del virus y de la bacteria en los peces co-habitantes, asumiéndose hipotéticamente que las cargas de PRV-1 y de *P. salmonis* se elevarían de manera importante y generarían cuadros patológicos. Los resultados, tras 30 días, mostraron que no hubo mortalidad por PRV (HSMI), incluso todos los peces y réplicas tendieron a reducir la carga viral.

Entonces ¿por qué en este caso particular no se logró reproducir la enfermedad?. ¿Qué otros factores son necesarios para que se presente HSMI?. Es probable que en estos casos existan factores como coinfección viral, presencia de otras variantes de PRV, condición del huésped o del ambiente necesarios para causar el cuadro clínico.

Esta misma situación ha experimentado la industria nacional, con reportes de positividad elevados a PRV (virus muy enzoótico), tanto en pisciculturas como en centros marinos (gráficos 1 y 2), en donde la mayoría de los casos no están asociados a enfermedad. Según reportes de ADL, existen múltiples casos de positividad en donde incluso individuos con Ct de PRV muy bajos (es decir, altas cargas virales) no manifiestan cambios patológicos.

En investigaciones realizadas por diversos grupos de científicos (Kongtorp *et al.*, 2004, Wessell *et al.*, 2017, Dhamotaran *et al.*, 2020, Wessel *et al.*, 2020), la enfermedad ha sido bien caracterizada, logrando reproducir la patología con métodos como inyección intraperitoneal (IP) directa del virus, o mediante estudios de cohabitación, donde se inocularon peces troyanos vía IP con PRV-1 purificado. Luego, los troyanos diseminaron el virus a peces sanos (cohabitantes), los que desarrollaron la patología clásica de HSMI.





Gráfico 1. Positividad a PRV-1 en agua dulce, salmón Atlántico. Casuística ADL 2018 a 2024 (incluye la totalidad de individuos analizados).

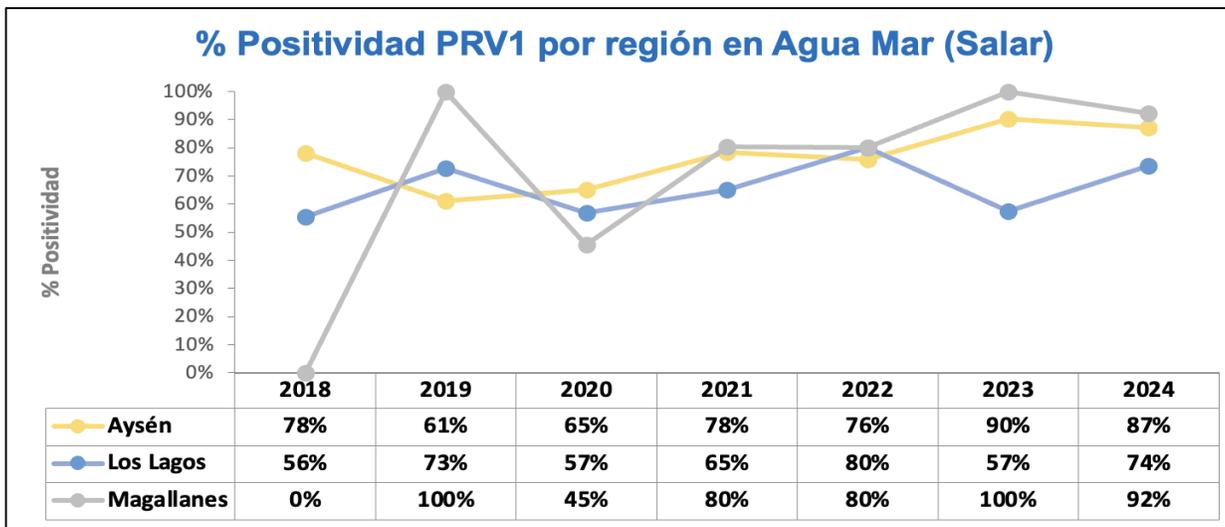


Gráfico 2. Positividad a PRV-1 en centros marinos, salmón Atlántico. Casuística ADL 2018 a 2024 (incluye la totalidad de individuos analizados).

Signos clínicos y hallazgos anatomopatológicos de HSMI en salmón del Atlántico



Externos



- Buena condición corporal
- Branquias pálidas

Internos



- Corazón pálido, hemopericardio y dilatación auricular
- Hígado pálido, ictérico o congestivo, ocasionalmente con capa de fibrina en la superficie (pseudomembrana)
- Trastornos circulatorios, como ascitis y congestión
- Presencia de coágulos en cavidad abdominal
- Esplenomegalia

Otros signos generales en un brotes son anorexia, nado errático e incremento en la mortalidad. La anemia no suele ocurrir en salmón del Atlántico (pero sí en salmón coho).

Vías de Transmisión

La transmisión horizontal es la principal vía de diseminación de PRV. La transmisión vertical genera debate y opiniones diversas. Uno de los pocos estudios al respecto fue realizado por Wiik-Nielsen *et al* (2012), quienes realizaron el seguimiento de una población de reproductores y su progenie, desde mayo de 2008 hasta abril de 2011, para intentar dilucidar la presencia de transmisión vertical. En 2008, los smolt (futuros reproductores) fueron transferidos al mar y luego de cinco meses presentaron signología sugerente a HSMI. Los peces fueron evaluados mediante RT-PCR tanto en agua de mar como luego de su transferencia a agua dulce para el desove. La progenie fue evaluada de la misma manera, recolectándose ovas fertilizadas, alevines post eclosión y alevines de primera alimentación para detectar la posible transmisión vertical del virus.

Los resultados mostraron una prevalencia de PRV del 100% en reproductores, tanto en mar como en agua dulce. En cuanto a la progenie, los RT-PCR de las ovas fertilizadas y alevines de primera alimentación fueron negativos, aunque un 25% de los alevines post eclosión fueron positivos con Ct muy altos (cercanos al límite de detección).

Aunque estos resultados no son concluyentes y no permiten asegurar la ausencia de transmisión vertical, los autores sugieren que esta no parece ser una ruta de diseminación de importancia. En comunicación personal con investigadores asociados al tema, se indica que la transmisión vertical es probable (Hamish Rodger, 2025 com. pers.), argumentando que haber reducido prácticamente a 0% la prevalencia de PRV en pisciculturas canadienses, mediante la triple desinfección de las ovas, podría evidenciar su existencia, aunque es claro que no hay evidencia irrefutable sobre su presencia o ausencia (Emiliano Di Cicco, 2024 com. pers.).

Diseminación y Persistencia de PRV-1

Como se mencionó anteriormente, la principal vía de diseminación de PRV es horizontal. La ruta de entrada al huésped aún no es clara, pero es reconocida la transmisión fecal-oral en muchos reovirus. Además, se ha reportado la presencia de PRV-1 en heces de peces infectados (Hauge *et al.*, 2016) y la capacidad de PRV para infectar a peces a través de intubación anal (Hauge *et al.*, 2016), lo que sugiere que la transmisión fecal-oral es al menos una ruta probable.

Luego del ingreso, las primeras células infectadas son los eritrocitos, pudiendo observarse CIIE (figura 1). Posteriormente, se produce la diseminación sistémica, infectando células como cardiomiocitos, hepatocitos y enterocitos (Di Cicco *et al.*, 2018; Dhamotharan *et al.*, 2020). En este último, se observó que, posterior a la infección, el virus se eliminó del tejido cardíaco en regeneración y de los hepatocitos, pero persistió en los eritrocitos. Un estudio posterior de los mismos autores, donde se desafiaron salmones del Atlántico en etapa de alevín hasta parr, encontró que PRV-1 puede persistir en los eritrocitos y órganos linfoides durante al menos 65 semanas. Si bien la infección por PRV-1 causó lesiones cardíacas y musculares típicas de HSMI en las primeras etapas de la infección, estas se resolvieron posteriormente. A pesar de alcanzar una alta viremia, la infección por PRV-1 no causó mortalidad durante el período de desafío (Dhamotharan *et al.*, 2023b).

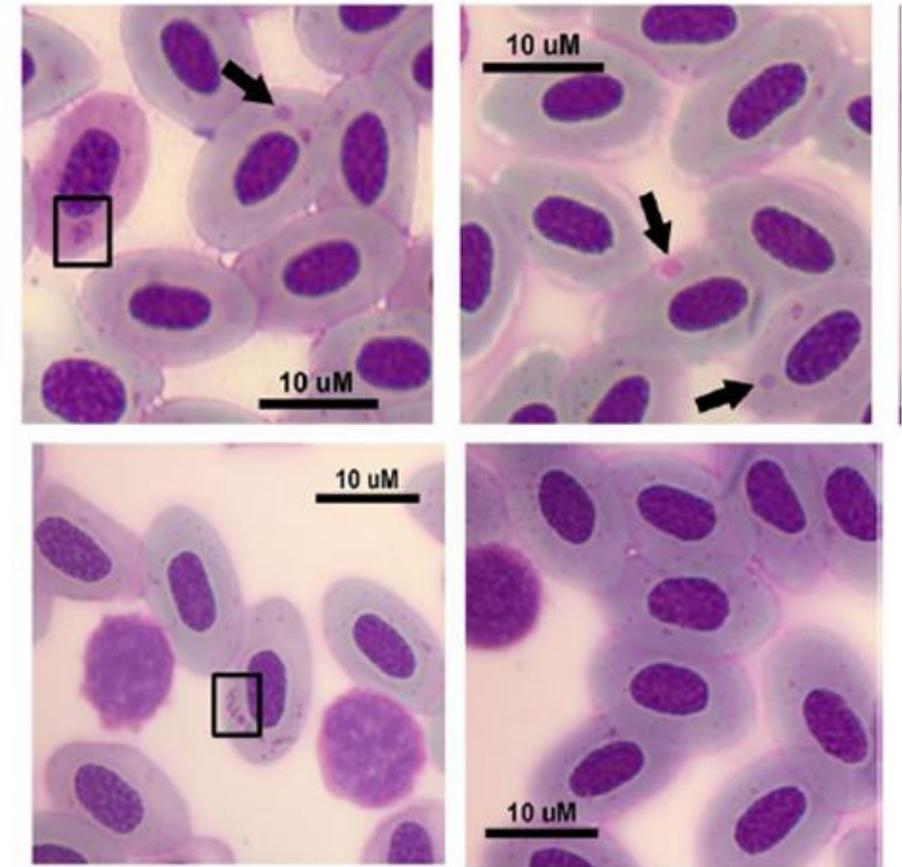


Figura 1 PRV purificado de peces con y sin lesiones de HSMI genera cuerpos de inclusión en eritrocitos (flechas) (Polinski *et al.*, 2019)

Diagnóstico

Como ya se ha señalado, la sola presencia del virus no significa necesariamente enfermedad; el diagnóstico presuntivo de HSMI se realiza mediante la observación de signos clínicos de la enfermedad, previamente descritos en el texto. La confirmación se realiza mediante RT-PCR PRV-1 junto a cambios histopatológicos en el ventrículo cardíaco y en el músculo esquelético rojo, principales órganos afectados por el virus, para constatar alteraciones como epicarditis (figura 2), miocarditis y miositis. Es importante señalar que, fue materia de debate en los años posteriores a la detección del virus y HSMI en Chile, si se trataba o no de HSMI. Sin embargo podríamos decir que está consensuado que la presencia del proceso inflamatorio en el músculo esquelético muchas veces no se presenta en el cuadro clínico. En la sangre, se pueden encontrar alteraciones en la línea roja, por ejemplo, anemia, aunque esta no es frecuente en salmón del Atlántico, y a nivel de frotis sanguíneo se puede observar la presencia de Cuerpos de Inclusión Intraeritrocitarios (CIIE).

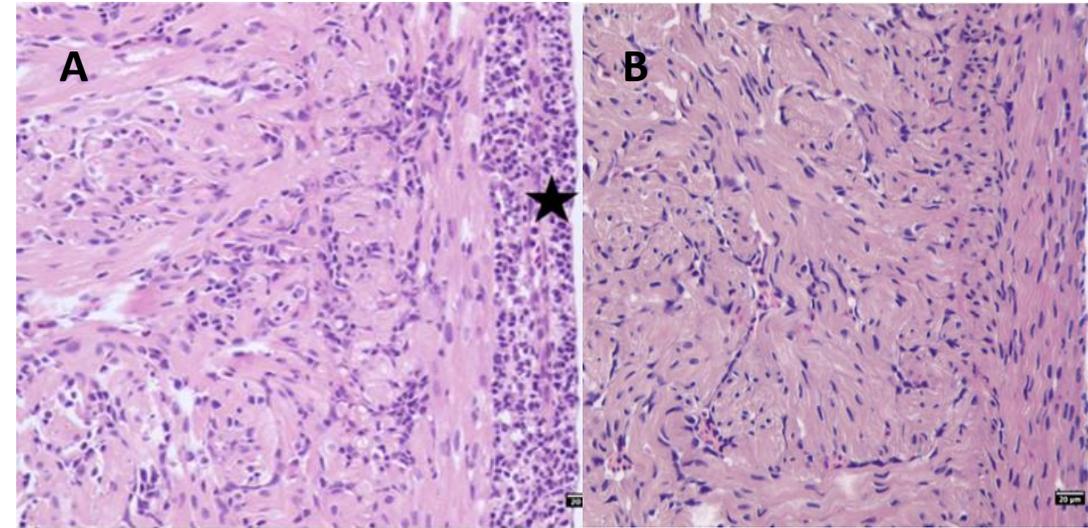


Figura 2. Cambios histopatológicos cardíacos por HSMI. A. Se observa severa epicarditis (estrella). B. Corazón sin alteraciones. (Dhamotharan *et al*, 2023a).

Melanosis y PRV 1

La melanización muscular en el salmón puede ocurrir por varias razones, incluyendo reacciones por encapsulación de metacercarias de parásitos, traumas, reacciones a cuerpos extraños e inflamación por inyección intramuscular (vacunas), entre varias otras. Sin embargo, la forma más prevalente de melanización en salmón del Atlántico son los "cambios focales melanizados" (MFC, por sus siglas en inglés), que se caracterizan por inflamación crónica con presencia de células epitelioides (un tipo de macrófago), células gigantes multinucleadas y acumulaciones extracelulares de lípidos (Bjørngen *et al.*, 2024).

Existen estudios que han vinculado la presencia de focos de melanización (MFC) con PRV-1 en salmón del Atlántico. Entre ellos, podemos mencionar a Bjørngen *et al.*, 2015 y Malik *et al.*, 2021, quienes mostraron una asociación significativa entre la infección por PRV-1 y la presencia de MFC en músculo. Sin embargo, fue el mismo Bjørngen y col. (2019), quien modificó la premisa al evaluar secuencialmente una población de salmones durante su cultivo en mar (negativos para PRV-1 en agua dulce) que fue naturalmente infectada por el virus.

Los peces desarrollaron MFC antes de la infección natural por PRV-1. En paralelo, se realizó un ensayo experimental en el que se inyectó la musculatura de un grupo de peces con PRV-1, los que no desarrollaron MFC, ni otro tipo de lesión muscular. Sin embargo, el seguimiento de la población naturalmente infectada evidenció cambios musculares severos (melanosis granulomatosa difusa), los que solo ocurrieron luego de la infección por PRV-1. Por lo tanto, sugirieron que la infección por PRV no causaría cambios focales, pero si pareciera ser importante en el desarrollo de melanización granulomatosa difusa.

En base a estos antecedentes, es posible y probable que PRV-1 sea un factor importante en la presentación de melanosis. Particularmente, en el caso de los MFC, los hallazgos no respaldan que la infección PRV-1 inicie su patogénesis, pero si pareciera modular la condición de manera desfavorable, resultando en casos de MFC graves y no resueltos (Bjørngen *et al.*, 2024).

Sin embargo, estudios llevados a cabo por ADL hace más de 8 años atrás, orientados a entender mejor la problemática de melanosis focalizada en filetes en salares, descartó de manera consistente, y en muchos ejemplares afectados, la presencia de PRV-1 en dichas zonas melanizadas, lo que no significa que se descarte eventuales asociaciones (A. Sandoval, 2025 com. pers.).

Medidas de control y desafíos

Al ser HSMI una enfermedad viral, no existen tratamientos disponibles que eliminen el virus. Las principales medidas de control consisten en reducir estrés, disminuir la tasa de alimentación, asegurar un óptimo bienestar de los peces, y la utilización de dietas funcionales (por ejemplo, con componentes antiinflamatorios, favorecer la respuesta inmunitaria antiviral y antioxidantes, etc). Actualmente, no existen vacunas disponibles para prevenir la enfermedad, aunque recientemente un equipo de investigadores desarrolló y patentó una (portalusach.cl). En Noruega, existe un QTL de resistencia validado para la enfermedad, comercialmente disponible, pero aún no implementado en nuestro país.

HSMI no es una enfermedad emergente, ya van 14 años desde la primera descripción en el país, y hay evidencia que muestra la presencia del agente al menos desde 1994 (Rozas-Serri *et al.*, 2023). Bajo las actuales prevalencias y evidencia, sus variantes podrían ser importantes de considerar y vigilar. Aún no representa ser un desafío sanitario de relevancia para la industria, pero paulatinamente ha ido adquiriendo importancia, por lo que efectivas medidas de control deberían ir tomando fuerza.

Es relevante indicar que PRV es un virus segmentado; puede diversificar su genoma a través del reordenamiento genético, la recombinación y las mutaciones puntuales, lo que favorece el cambio de hospedero, la evasión de la respuesta inmunitaria y el aumento de su virulencia. Por lo tanto, es importante estudiar estas posibles variaciones y adquirir conocimientos sobre la relación entre el huésped y el patógeno, lo que hoy aún exhibe brechas importantes; basta considerar la ausencia de respuestas claras frente a las diferencias en patogenicidad reportada entre cepas de PRV-1 en la costa oeste de Norteamérica, Canadá y Noruega.

Bibliografía

Adamek, M.; Hellmann, J.; Flamm, A.; Teitge, F.; Vendramin, N.; Fey, D.; Riße, K.; Blakey, F.; Rimstad, E.; Steinhagen, D. 2018. Detection of piscine orthoreoviruses (PRV-1 and PRV-3) in Atlantic salmon and rainbow trout farmed in Germany. *Transboundary and emerging diseases*. 66(1), 14–21. doi:10.1111/tbed.13018.

Biering, E.; Garseth, A. 2012. Heart and Skeletal Muscle Inflammation (HSMI) of farmed Atlantic Salmon (*Salmo salar*) and the associated Piscine Reovirus (PRV). In: Feist S, editor. ICES Identification Leaflets for Diseases and Parasites of Fish and Shellfish. Copenhagen: International Council for the Exploration of the Sea; p. 6.

Bjørngen, H.; Wessel, Ø.; Fjellidal, P.; Hansen, T.; Sveier, H.; Bones, K.; Monsen, E.; Kvellestad, K.; Rimstad, E.; Koppang, E. 2015. Piscine Orthoreovirus (PRV) in Red and Melanised Foci in White Muscle of Atlantic Salmon (*Salmo salar*). *Veterinary Research*. 46: 89. doi:10.1186/s13567-015-0244-6.

Bjørngen, H.; Haldorsen, R.; Oaland, Ø.; Kvellestad, A.; Kannimuthu, D.; Rimstad, E.; Koppang, E. 2019. Melanized focal changes in skeletal muscle in farmed Atlantic salmon after natural infection with Piscine orthoreovirus (PRV). *J Fish Dis*. 42(6):935-945. doi: 10.1111/jfd.12995.

Bjørngen, H.; Rimstad, E.; Koppang, E. 2024 Melanisation in Salmonid Skeletal Muscle: A Review. *J Fish Dis*. 11:e14063. doi: 10.1111/jfd.14063.

Bustos, P.; Rosas, M.; Bohle, H.; Ildefonso, R.; Sandoval, A.; Gaete, A.; Araya, C.; Grothusen, H.; Tapia, E.; Gallardo, A.; Rojas, M.; Lara, M.; Labra, A.; Gálvez, C. 2011. Primer reporte de Piscine Reovirus en Salmón del Atlántico (*Salmo salar*), cultivado en Chile. *Versión diferente*, (15): 65-68.

Dhamotharan, K.; Bjørngen, H.; Malik, M.; Nyman, I.; Markussen, T.; Dahle, M.; Koppang, E.; Wessel, Ø.; Rimstad, E. 2020. Dissemination of *Piscine orthoreovirus-1* (PRV-1) in Atlantic Salmon (*Salmo salar*) during the Early and Regenerating Phases of Infection. *Pathogens*. 9(2):143. doi: 10.3390/pathogens9020143

Dhamotharan, K.; Hyeongjin, R.; Morton, H.; Peñaranda, Ma.; Vossgård, A.; Hansen, T.; Fjellidal, P.; Karlsbakk, E.; Fiksdal, I.; Dahle, M.; Berg-Rolness, H.; Mæhle, S.; B.; Nordbø, J.; Patel, S.; Madhun, A.; Grove, S.; Kvamme, B. 2023a. Experimental transmission of piscine orthoreovirus-1 (PRV-1) in different life stages of Atlantic salmon (*Salmo salar*) and brown trout (*Salmo trutta*). *Frontiers in Marine Science*.

Dhamotharan, K.; Hyeongjin, R.; Michelle, Ma.; Wessel, Ø .; Morton, H.; Peñaranda, Ma.; Mæhle, S.; B.; Nordbø, J.; Ghebretnsae, D.; Grove, S.; Kvamme, B. 2023b. 2023. Long-term persistence of piscine orthoreovirus-1 (PRV-1) infection during the pre-smolt stages of Atlantic salmon in freshwater. *Vet Res.* 54(1):59. doi: 10.1186/s13567-023-01201-w.

Di Cicco, E.; Ferguson, H.; Kaukinen, K.; Schulze, A.; Li, S.; Tabata, A.; Gunther, O.; Mordecai, Gideon.; Suttle, C.; Miller, K. 2018. The same strain of Piscine orthoreovirus (PRV-1) is involved in the development of different, but related, diseases in Atlantic and Pacific Salmon in British Columbia. *Facets.* 3(10)1139.

Garver, K.; Johnson, S.C.; Polinski, M.P.; Bradshaw, J.C.; Marty, G.D.; Snyman, H.N.; Morrison, D.B.; Richard, J. 2016. 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.* 11(1). doi: 10.1371/journal.pone.0146229.

Gunnarsdóttir, H. M.; Sigurðardóttir, H.; Bragason, B.; Guðmundsdótti, S. 2018. A survey of three viruses in wild and cultured salmon in Iceland. In 8th International Symposium on Aquatic Animal Health. Charlottetown. American Fisheries Society Fish Health Section. pp 405.

Hauge, H.; Dahle, M.; Moldal, T.; Thoen, E.; Gjevre, A. G.; Weli, S.; Alarcon, M.; Grove, S. 2016. Piscine orthoreovirus can infect and shed through the intestine in experimentally challenged Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Vet. Res.* 47(1): 57.

Kibenge, M.; Iwamoto, T.; Wang, Y.; Morton, A.; Godoy, M.; Kibenge, F. 2013. 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. *Virology J.* 10:230. doi: 10.1186/1743-422X-10-230.

Kongtorp, R.T; Taksdal, T.; Lyngøy, A. 2004. Pathology of heart and skeletal muscle inflammation (HSMI) in farmed Atlantic salmon *Salmo salar*. *Dis Aquat Organ.* 59(3):217-24. doi: 10.3354/dao059217.

Labrut, S.; Bigarré, L.; Boitard, P.; Jamin, M. 2018. Emergence of the Heart and Skeletal Muscle Inflammation syndrome in France. World Aquaculture Society Meeting. Montpellier France. August 25-29. World Aquaculture Society.

Malik, M.; Bjørgen, H.; Nyman, I.; Wessel, Ø.; Koppang, E.; Dahle, M.; Rimstad, E. 2021. PRV 1 Infected Macrophages in Melanized Focal Changes in White Muscle of Atlantic Salmon (*Salmo salar*) Correlates With a Pro-Inflammatory Environment. *Front Immunol.* 12:624:664. doi: 10.3389/fimmu.2021.664624.

Marty, G.; Morrison, D.; Bidulka, J.; Joseph, T.; Siah, A. 2015. Piscine reovirus in wild and farmed salmonids in British Columbia, Canada: 1974–2013. *J. Fish Dis.* 38(8):713–728.

Markussen, T.; Tengs, T.; Dhamotharan, K.; Nyman, I. B.; Wessel, Ø.; Dahle, M.; Rimstad, E. 2018. Analyses of genome sequences and protein structure of strains of piscine orthoreovirus (PRV1) with putative different virulence in Atlantic salmon (*Salmo salar*). In 8th International Symposium on Aquatic Animal Health. Charlottetown, PEI. September 2-6. pp 405.

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. 2010. Heart and skeletal muscle inflammation of farmed salmon is associated with infection with a novel reovirus. *PLoS One.* 5(7). doi: 10.1371/journal.pone.0011487.

Polinski, M. P.; Marty, G. D.; Snyman, H. N.; Garver, K. A. 2019. Piscine orthoreovirus demonstrates high infectivity but low virulence in Atlantic salmon of Pacific Canada. *Sci. Rep.* 40025: doi: 10.1038/s41598-41019-40025-41597.

Purcell, M.; Powers, R.; Taksdal, T.; McKenney, D.; Conway, C.M.; Elliott, D.; Polinski, M.; Garver, K.; Winton, J. 2020. Consequences of Piscine orthoreovirus genotype 1 (PRV-1) infections in Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*), coho salmon (*O. kisutch*) and rainbow trout (*O. mykiss*). *J Fish Dis.* 43(7):719-728. doi: 10.1111/jfd.13182.

Rodger, H.; McCleary, S.; Ruane, N. 2014. Clinical cardiomyopathy syndrome in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *J. Fish Dis.* 37(10): 935-939.

Rozas-Serri, M.; Idefonso, R.; Jaramillo, V.;

Siah, A.; Morrison, D.; Fringuelli, E.; Savage, P.; Richmond, Z.; Johns, R.; Purcell, M. Johnson, S.; Saksida, S. 2015. Piscine Reovirus: Genomic and Molecular Phylogenetic Analysis from Farmed and Wild Salmonids Collected on the Canada/US Pacific Coast, *PLoS One*, 10: e0141475.

Takano, T.; Nawata, A.; Sakai, T.; Matsuyama, T.; Ito, T.; Kurita, J.; Terashima, S.; Yasuike, M.; Nakamura, Y.; Fujiwara, A.; Kumagai, A.; Nakayasu, C. 2016. 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* 11(10): e0165424.

Watanabe, K.; Karlsen, M.; Devold, M.; Isdal, E.; Litlabø, A.; Nylund, A. 2006. Virus-like particles associated with heart and skeletal muscle inflammation (HSMI). *Dis Aquat Organ.* 70(3):183-92. doi: 10.3354/dao070183.

Wessel, Ø.; Hansen, E.; Dahle, M.; Alarcon, M.; Vatne, N.; Nyman, I.; Soleim, K.; Dhamotharan K.; Timmerhaus, G.; Markussen, T.; Lund, M.; Aanes, H.; Devold, M.; Inami, M.; Løvoll, M.; Rimstad, E. 2020. Piscine Orthoreovirus-1 Isolates Differ in Their Ability to Induce Heart and Skeletal Muscle Inflammation in Atlantic Salmon (*Salmo salar*). *Pathogens*. 9(12):1050. doi: 10.3390/pathogens9121050.

Wessel, Ø.; Braaen, S.; Alarcon, M.; Haatveit, H.; Roos, N.; Markussen, T.; Tengs, T.; Dahle, M.; Rimstad, E. 2017. Infection with purified Piscine orthoreovirus demonstrates a causal relationship with heart and skeletal muscle inflammation in Atlantic salmon. *PLoS One*. 12(8):e0183781. doi: 10.1371/journal.pone.0183781.

Wiik-Nielsen, C.; Ski, P.; Aunsmo, A.; Løvoll, M. 2012. Prevalence of viral RNA from piscine reovirus and piscine myocarditis virus in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., broodfish and progeny. *J Fish Dis*. 35(2):169-71. doi: 10.1111/j.1365-2761.2011.01328.x.

