

RECHERCHE D'ADN D'HERPESVIRUS INFECTANT LES BIVALVES DANS DES ECHANTILLONS D'EAU DE CLAIRES OSTREICOLES

G. Sollicc^{1,2}, V. Vigneron^{1,2}, H. Montanié¹, T. Renault²

1 LBEM, EA 3168, Université de La Rochelle, Avenue Michel Crépeau, 17042 La Rochelle, France

2 Laboratoire de Génétique et Pathologie, IFREMER, 17390 La Tremblade, France

La présence de virus de type herpès a été mise en évidence chez diverses espèces de bivalves marins dans différentes régions du monde et associées à des mortalités anormales. Cependant, peu de données sont disponibles sur la persistance de tels virus dans l'eau de mer. Les outils de diagnostic aujourd'hui disponibles tels que la PCR devraient permettre de rechercher ces agents infectieux dans des échantillons d'eaux marines et ainsi de mieux comprendre leur épidémiologie. Dans ces conditions, la présence de virus a été recherchée par PCR dans des échantillons d'eau provenant de claires ostréicoles.

Afin de valider la recherche d'ADN viral par PCR dans des échantillons d'eau de mer, la stabilité de l'ADN d'un virus de type herpès infectant les larves d'huîtres (Ostreid Oyster herpesvirus type 1 ou OsHV-1) a été testée en laboratoire dans différents milieux à différentes températures. La qualité du milieu, le temps et la température influencent la détection par PCR. En effet, les températures faibles sont associées à une meilleure conservation de la détection ; le traitement d'autoclavage et l'utilisation d'eau de mer, peu ou pas contaminée par des bactéries, favorisent également la détection.

Des prélèvements d'eau bimensuels ont été réalisés dans quatre claires expérimentales situées dans l'estuaire de La Seudre (Charente Maritime, France) de février à octobre 2002. Après clarification, les échantillons d'eau ont été ultracentrifugés et les culots ont servi à réaliser des réactions de PCR en utilisant plusieurs couples d'amorces spécifiques du virus OsHV-1. Certains produits de PCR, de taille attendue, ont été clonés et ont été séquencés afin de vérifier leur spécificité. La PCR devrait permettre d'obtenir des informations sur le devenir et la persistance de ces virus dans le milieu marin et aider à clarifier le cycle d'infection de cet herpesvirus de bivalves marins.

Abstract : Viral particles, associated with high mortality rates, have been reported among larvae and juveniles in different marine bivalve species and characterized as member of the *Hesperiviridae* family. Most studies focused on the detection of such viral infections among economically important species. However, the persistence of bivalve herpes viruses in marine environment is poorly documented. This topic appears as an important research domain in order to clarify the natural infection cycle of the herpesvirus of marine bivalves.

Genomic DNA of Ostreid Herpes Virus type 1 (OsHV-1) was detected by PCR in different media at different temperatures. Water parameters such as salinity, temperature, incubation time, autoclaving, influence the OsHV-1 DNA detection by PCR; viral detection and temperature showed an inverse correlation in regard to PCR detection. From February 2002 to October 2002, water samples were collected, bimonthly, in four experimental oyster ponds located in Ronce-les-Bains (Charente-Maritime, France). Viruses were concentrated by ultracentrifugation, then OsHV-1 DNA detection was realized by PCR, using several primers. Some PCR products of expected size were cloned and sequenced.