

## Infections herpétiques chez les invertébrés : détection de virus de type herpès chez les mollusques bivalves marins

T. Renault\*

Parmi les maladies infectieuses observées chez les mollusques bivalves, les viroses sont souvent mal connues, en raison d'une certaine inadéquation des techniques de diagnostic généralement mises en œuvre lors de phénomènes de mortalité. En effet, la microscopie photonique a été et reste encore, dans de nombreux laboratoires travaillant sur les pathologies chez les mollusques, la méthode de base pour l'analyse des échantillons. Cette technique reste insuffisante en cas de pathologie d'étiologie virale si elle n'est pas complétée par d'autres approches telles que la microscopie électronique, la recherche d'effets cytopathogènes sur lignées cellulaires ou la détection de l'agent infectieux à l'aide de réactifs spécifiques (anticorps spécifiques et sondes nucléiques). De plus, aucune lignée cellulaire de mollusques bivalves n'étant actuellement disponible, la recherche *in vitro* d'effets cytopathogènes en système homologue est impossible. Par ailleurs, l'absence de cellules productrices d'anticorps chez les invertébrés fait que seul le diagnostic direct des infections est envisageable.

Toutefois, des virus apparentés à la famille des *Herpesviridae* ont été décrits chez différentes espèces de bivalves marins, associés à des mortalités anormales à caractère épizootique ou enzootique. Bien que leur pathogénéicité réelle n'ait été que très rarement démontrée par reproduction expérimentale de la maladie, ces virus sont considérés comme des agents dangereux pour les cheptels de coquillages.

\* Ifremer, Laboratoire de génétique  
et de pathologie, BP 133,  
17390 La Tremblade

Le premier cas d'infection virale a été observé, en 1972, chez l'huître américaine, *Crassostrea virginica*, aux États-Unis [1]. Au cours d'une étude concernant les effets de la température sur la croissance de cette huître, Farley *et al.* ont noté des mortalités plus importantes (52 %) sur les lots maintenus en élevage à 28-30 °C que sur les lots placés à 12-18 °C (18 %). L'examen histologique des huîtres placées à fortes températures a révélé la présence d'inclusions Feulgen positives, dans le noyau de certaines cellules, les hémocytes. Une étude plus approfondie en microscopie électronique à transmission a permis de mettre en évidence, dans les inclusions nucléaires, des particules virales de forme hexagonale, de 70 à 90 nanomètres de diamètre, ainsi que des particules virales enveloppées dans le cytoplasme des cellules infectées. Les caractéristiques structurales et la localisation de ces particules ont permis d'apparenter ce virus à la famille des *Herpesviridae*. En étudiant des échantillons prélevés à dif-

férentes périodes de l'année, il a été possible de montrer que l'infection virale se développait préférentiellement à des températures élevées. Les auteurs de ce travail ont posé l'hypothèse que le virus se trouverait à l'état latent ou endémique à température peu élevée, et qu'une augmentation de celle-ci favoriserait la propagation de la maladie, éventuellement en faisant passer le virus d'une phase de latence à une expression clinique.

À la suite de cette première description, aucun travail faisant état d'infections à virus de type herpès chez les mollusques n'a été publié au cours des vingt années qui ont suivi. Cependant, à partir de 1991, des mortalités massives, associées à la détection de virus apparentés à la famille des *Herpesviridae*, ont été à nouveau rapportées chez plusieurs espèces de bivalves marins dans différentes régions du globe.

De fortes mortalités sporadiques sont ainsi observées en France depuis 1991 sur des larves d'huître creuse, *Cras-*

*ostrea gigas*, et d'huître plate, *Ostrea edulis*, produites en écloséries. Certains de ces phénomènes de mortalité ont été associés à la détection en microscopie électronique d'un virus de type herpès chez les animaux malades [2]. Ces mortalités de larves d'huître (80 à 100 % sur certains lots) sont régulièrement observées, au cours de l'été, dans différentes écloséries françaises, en association à l'observation de virus en microscopie électronique. Ces derniers, par leurs caractéristiques morphologiques et leur cycle de développement, peuvent être apparentés à la famille des *Herpesviridae*. La pathogénicité de ces agents pour le stade larvaire a été démontrée par reproduction expérimentale de mortalités sur larves axéniques. Dans ces conditions, le virus est capable de provoquer la mortalité totale de lots de larves saines. Une démonstration de l'intervention du facteur température et de l'origine des géniteurs a été également réalisée. En effet, les températures élevées favorisent le développement de l'infection virale au stade larvaire et la maladie semble pouvoir être transmise aux larves par les géniteurs.

De la même façon, en France, des épisodes de mortalités anormales ont également été observés sur des juvéniles des deux espèces d'huître (*Crassostrea gigas* et *Ostrea edulis*) en association avec la présence de virus de type herpès [2]. De fortes mortalités sporadiques (60 à 100 %) ont ainsi été observées au cours de chaque été, entre 1993 et 1996, sur des lots particuliers de juvéniles d'huître creuse, produits en éclosérie ou provenant de captage naturel [2]. Pour ces animaux âgés de moins de un an, il a été possible de détecter, en microscopie électronique à transmission, un virus de type herpès comparable à celui mis en évidence chez les larves. Cependant, dans ce cas, la démonstration du pouvoir pathogène du virus reste encore en cours d'étude.

De plus, des mortalités concomitantes ont été rapportées chez les larves et les juvéniles d'huître creuse, *Crassostrea gigas*, et d'huître plate, *Ostrea edulis*, élevées dans les mêmes installations (écloséries et nurseries), en France, avec détection en microscopie électronique à transmission d'un virus de type herpès, chez les deux espèces (T. Renault, communication personnelle). Enfin, au cours de l'été 1997, des mortalités concomitantes ont été également observées chez les larves des espèces *Crassostrea gigas* et *Ruditapes philippinarum* (palourde japonaise) élevées dans une éclosérie privée française. Des analyses ont permis de détecter, chez les deux espèces de bivalve, des particules virales de type herpès (figures 1 et 2).

Des virus similaires ont également été décrits chez des larves d'huître de l'espèce *Crassostrea gigas* et de l'espèce *Tiostrea chilensis*, produites en éclosérie en Nouvelle-Zélande et présentant de fortes mortalités [3]. Enfin, des particules virales de type herpès ont été observées

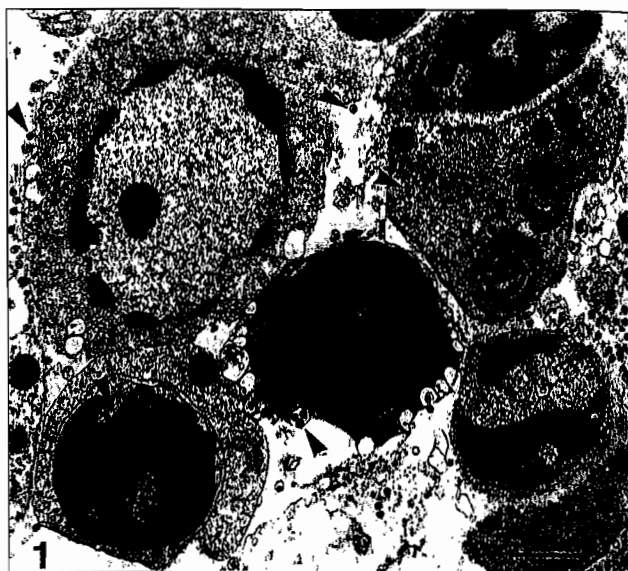


Figure 1. Particules virales de type herpétique observées dans le tissu conjonctif du velum d'une larve de palourde japonaise, *Ruditapes philippinarum*. De nombreuses particules virales (pointes de flèche) sont présentes dans les cellules et les espaces intercellulaires (barre : 1 µm).

dans des hémocytes d'huîtres adultes de l'espèce *Ostrea angasi*, en Australie [3]. Dans ce cas, l'infection est limitée à quelques cellules à l'échelle de l'animal et n'est pas associée à des phénomènes de mortalité.

Ces descriptions multiples reflètent le caractère ubiquitaire de cette famille de virus chez les mollusques. Une étude comparative de l'ensemble des virus apparentés aux *Herpesviridae* décrits chez les bivalves a été récemment réalisée [3]. Du point de vue de leurs dimensions, en



Figure 2. Particules virales de type herpétique observées dans le tissu conjonctif du manteau d'une larve d'huître creuse, *Crassostrea gigas* (barre : 50 nm).

microscopie électronique à transmission, les nucléocapsides des virus de type herpès décrits chez les différentes espèces d'huître se situent dans une gamme relativement large (70 à 120 nanomètres). Cette variabilité est encore plus importante lorsque les dimensions des particules enveloppées sont comparées. Leur diamètre est en effet compris entre 90 et 180 nanomètres. Toutefois, ces comparaisons de taille restent difficiles à interpréter, car les valeurs obtenues peuvent varier en fonction de la technique retenue pour la préparation des échantillons en vue des examens en microscopie électronique et de la méthode de mesure. Une caractéristique commune à l'ensemble de ces virus peut toutefois être notée. En effet, lors de la première description (1972) de ce type de virus chez l'huître américaine, *Crassostrea virginica*, les animaux originaires du milieu naturel dont la température était de 12-18 °C avaient été placés dans une eau chauffée à 28-30 °C. Les observations ultérieures de mortalité de larves et de naissains de différentes espèces d'huître, en association à la détection de virus de type herpès, ont été réalisées pendant les périodes chaudes de l'année. Ces observations suggèrent que des températures élevées sont un facteur favorable au développement des infections à virus de type herpès. En effet, la température pourrait influencer la rapidité du développement de l'infection, mais elle pourrait également intervenir dans l'activation de virus présents chez les coquillages sous forme latente (phénomène observé pour les virus appartenant à la famille des *Herpesviridae* chez les vertébrés). Cependant,

il est à noter que, dans le cas de l'infection à virus de type herpès observée chez *Tiostrea chilensis*, la maladie semble mieux se développer à basses températures (14-18 °C) qu'à fortes températures (24-27 °C).

Des travaux sont développés, depuis 1992, au sein de l'Ifremer (Institut de recherche pour l'exploitation de la mer), afin d'obtenir des outils diagnostiques adaptés à la recherche des virus de type herpès observés chez les huîtres. L'étape clé de cette approche, la purification du virus, a été franchie au cours de l'été 1995, par la mise au point d'un protocole reproductible [4]. La disponibilité de virus purifié a ouvert la voie à de nombreux travaux, la priorité étant donnée au développement d'outils de diagnostic basés sur l'utilisation de méthodes immunologiques et de biologie moléculaire. Les techniques développées vont permettre d'étudier la diversité des virus de type herpès observés chez les mollusques bivalves marins.

#### Références

1. Farley CA, Banfield WG, Kasnic JRG, Foster WS. Oyster herpes-type virus. *Science* 1972 ; 178 : 759-60.
2. Renault T, Le Deuff RM, Cochenec N, Maffart P. Herpesviruses associated with mortalities among Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, in France. Comparative study. *Rev Med Vet* 1994 ; 145 : 735-42.
3. Hine PM. Trends in research on diseases of bivalve molluscs. *Bull Eur Ass Fish Pathol* 1997 ; 17 : 181-3.
4. Le Deuff RM. Contribution à l'étude de virus de mollusques marins apparentés aux *Iridoviridae* et aux *Herpesviridae*. Thèse de doctorat, 1995. Université de Bordeaux II, p. 234.