

ETUDE DU VIRUS DE TYPE HERPES OBSERVE CHEZ LES HUITRES

R.M. Le Deuff, C. Lipart, B. Chollet, Ph. Haffner, C. Delsert, N. Cochenec et T. Renault
URAPC - La Tremblade

Depuis 1991, de fortes mortalités sporadiques de larves d'huître creuse, *Crassostrea gigas*, ont été observées, au cours de l'été, dans différentes écloséries françaises. Ces mortalités ont été associées à la détection d'un virus en microscopie électronique à transmission. Ce dernier (caractéristiques morphologiques et cycle de développement) semble apparenté à la famille des *Herpesviridae*. Le pouvoir pathogène de cet agent viral a été démontré au laboratoire par reproduction expérimentale de mortalité sur larves saines. Par ailleurs, des mortalités concomitantes ont été rapportées chez les larves des deux espèces *Crassostrea gigas* et *Ostrea edulis*, élevées dans les mêmes installations, avec détection d'un virus de type herpes.

De fortes mortalités sporadiques ont également été observées au cours des étés 1993, 1994, 1995 et 1996, sur des lots particuliers de naisains d'huître creuse, produits en écloséries ou provenant de captage naturel. Pour ces animaux de moins d'un an, il a été possible de détecter un virus de type herpes comparable à celui mis en évidence chez les larves. Cependant, dans ce cas, la démonstration du pouvoir pathogène du virus (reproduction expérimentale de mortalités sur animaux sains à partir de matériel biologique infecté) nécessite des travaux complémentaires.

La difficulté de l'étude de ces virus observés chez les huîtres, réside non seulement dans l'impossibilité actuelle de pouvoir les cultiver *in vitro*, mais également aussi dans leurs caractéristiques biologiques. En effet, les virus appartenant à la famille des *Herpesviridae* peuvent exister dans les cellules de l'hôte sous plusieurs formes : une forme latente, une forme peu productive et une forme d'infection aiguë. En phase de latence (absence de symptôme et de mortalités), le virus n'est présent que sous forme d'ADN, intégré au génome de l'hôte ou sous formes circulaires dans la cellule.

Pour pallier les difficultés du diagnostic de l'infection à virus de type herpes chez les huîtres, divers travaux ont été réalisés, depuis 1992, au sein du Laboratoire de Génétique, Aquaculture et Pathologie de La Tremblade.

Les travaux réalisés ont permis de purifier à plusieurs reprises des particules virales à partir de larves virosées fraîches. Les quantités de virus purifié ainsi obtenues ont permis d'entreprendre divers travaux :

- De réaliser l'extraction de l'ADN viral et d'effectuer une première caractérisation de ce matériel (ADN, double brin, d'environ 180 Kpb). Ce résultat étaye l'hypothèse de l'appartenance de ce virus à la famille des *Herpesviridae*.

- De cloner des fragments de l'ADN extrait des particules virales purifiées, après digestion par l'enzyme EcoRI. Quatre des fragments, choisis en fonction de leur longueur différente et testés en Southern blotting afin de vérifier leur spécificité donnent un marquage net sur les ADN extraits de larves et de naisains virosés et pas de marquage sur de l'ADN extrait d'huîtres creuses adultes saines.

- De séquencer partiellement d'un des quatre fragments clonés a été réalisé afin de définir des zones propices à la construction de couples d'amorces pour la PCR. Les amorces obtenues permettent d'obtenir une amplification claire sur ADN viral purifié, sur ADN extraits de larves virosés, sur broyats de larves et de naisains infectés et une absence d'amplification sur ADN d'huîtres adultes saines. Une méthodologie a été définie au laboratoire de La Tremblade pour analyser en PCR des échantillons de larves et de naisain présentant des mortalités.

- D'entreprendre le séquençage complet de l'ADN viral (collaboration Medical Research Council Virology Unit, Glasgow).

- De produire par immunisation de souris, des anticorps polyclonaux spécifiques du virus.