

Les infections virales associées aux épizooties des huîtres du genre *Crassostrea*

Michel Comps

Laboratoire de Pathologie, Institut des Pêches maritimes, 1, rue Jean Vilar, 34200 Sète, France; Laboratoire de Pathologie comparée, Université des Sciences, Montpellier

Des infections virales ont été décrites chez les huîtres portugaises *Crassostrea angulata* des côtes françaises successivement affectées par la maladie des branchies et par la mortalité massive de 1970. Ultérieurement, un nouveau virus a été trouvé chez *Crassostrea gigas* durant des mortalités dans la Baie d'Arcachon. Les virus impliqués ont des caractéristiques similaires pour ce qui concerne la taille, la morphologie, l'ultrastructure et la morphogénèse intracytoplasmique.

Dans le cas des virus de mortalité, les cellules infectées du tissu interstitiel renferment une inclusion cytoplasmique et des granulations basophiles correspondant à un stroma virogène et à des particules. Les virions matures de structure icosaèdre mesurent 380 nm. Ils sont limités par un système de deux membranes et possèdent une zone centrale dense de 190 nm.

Pour les virus de la maladie des branchies, les cellules infectées au niveau de l'épithélium branchial, sont hypertrophiées et contiennent des particules de 380 nm associées à des masses de matériel dense où la présence d'ADN a été mise en évidence par les techniques histochimiques.

Ces virus et le virus récemment découvert chez des larves de *C. gigas* peuvent être rapprochés du groupe des iridovirus.

Virus infections in the oyster *Crassostrea angulata* from the French coast affected successively by the "gill disease" and the "mass mortality of 1970" are described. Further a new virus was found in *C. gigas* during summer mortalities in Arcachon Bay. The implicated viruses have similar characteristics; size, morphology, ultrastructure, and intracytoplasmic morphogenesis.

In the case of the mortalities associated with the virus, the infected cells of the interstitial tissues contain cytoplasmic inclusion and granular basophilic material corresponding to viroplasm and particles. The mature particles averaged 380 nm in diameter, and had an icosahedral structure. The viruses were limited by a membrane system and had electron opaque central measuring 190 nm. For the virus of the "gill disease", the infected cells in the epithelium of the gills were hypertrophied and contained particles 380 nm in size, associated with masses of electron dense material where the presence of DNA was shown by histochemical techniques.

These viruses and the virus recently discovered in *C. gigas* resemble those of the iridovirus group.

Des infections virales n'ont été mises en évidence qu'assez récemment chez les invertébrés marins et c'est essentiellement chez les crustacés décapodes que les recherches ont progressé le plus rapidement depuis la découverte par Vago (1966) d'un virus du crabe *Macropisus depurator*.

En ce qui concerne les mollusques, et plus particulièrement les huîtres, peu de virus sont connus chez ces animaux. Bien que l'hypothèse de maladie virale ait été avancée pour expliquer certaines mortalités massives, telle que la maladie de Malpègue (Rosenfield, 1969), la première description d'une virose de l'huître ne remonte qu'à 1972 avec le signalement d'un virus de type Herpès chez l'huître américaine *Crassostrea virginica* (Farley et

al., 1972). Quelques particules d'allure virale devaient par la suite être observées dans les tissus de différentes espèces d'huîtres sans toutefois qu'un effet pathogène précis puisse leur être effectivement attribué. Farley (1978) les a répertoriées et classées en suggérant des rapprochements avec certains groupes de virus.

Plus tard, avec les recherches sur la mortalité massive de l'huître portugaise en 1970 et conjointement sur la maladie des branchies de cette même espèce allaient être révélées les premières infections virales associées à des maladies épizootiques des huîtres dans le milieu naturel. Survenue plusieurs années après la fin des épizooties, la découverte de ces viroses n'a pu être suivie de recherches approfondies sur les caractéristiques bio-



chimiques ni sur la pathogénicité des agents infectieux. Cependant, par les techniques histologiques et histo-chimiques, des précisions ont pu être apportées sur la virogénèse, sur la morphologie des virions, et sur la nature de l'acide nucléique (Comps et al., 1976; Comps et Duthoit, 1976; Comps et Masso, 1978).

L'incidence de ces maladies fut considérable puisqu'elles devaient entraîner la disparition de l'huître portugaise des côtes de France et son remplacement par une espèce non indigène, l'huître du Pacifique *Crassostrea gigas*, qui devait ultérieurement subir des mortalités avec une infection virale comparable à celle de la mortalité massive de 1970.

Les viroses associées aux mortalités, aussi bien chez *Crassostrea angulata* que chez *C. gigas* ne correspondent à aucun symptôme externe fixe, si ce n'est dans certains cas une coloration grisâtre de la masse viscérale. Par contre, histologiquement on note une forte dégradation du tissu conjonctif qui présente de nombreuses lacunes. A ce niveau, on constate une intense infiltration hémocytaire et la présence de cellules atypiques renfermant une inclusion cytoplasmique fuchsinophile. Ces cellules dont le noyau est pratiquement dépourvu de chromatine sont le siège de lésions virales.

L'étude ultrastructurale montre en effet que l'inclusion fuchsinophile correspond à une aire granuleuse homogène, dense aux électrons à la périphérie de laquelle se forment des particules. Sur la bordure de ce viroplasma, des membranes se différencient, entourant puis isolant une portion du stroma virogène. Les particules ainsi formées présentent un contour hexagonal ou pentagonal, indiquant une structure icosaèdre des particules. Morphologiquement, ces virions sont constitués d'une zone centrale opaque aux électrons de 250 nm, enveloppée par un système membranaire à quatre feuillettes, de 25 nm d'épaisseur. D'autres particules, libres dans le cytoplasme de la cellule infectée ont une structure plus complexe dérivant de celle des particules initialement formées, à la suite d'un processus de maturation impliquant une condensation du matériel. Les particules matures comportent un «nucléotide» de 220 nm, limité par un feuillet simple: la partie centrale est dense alors que la périphérie, sur une épaisseur ne dépassant pas 20 nm est claire. Cette formation est entourée d'une couche dense de 25 nm; les limites de la particule sont constituées par deux membranes séparées par un espace peu dense aux électrons.

De structure icosaèdre, ces virions mesurent 380 nm (côté à côté).

Bien que les symptômes de la maladie n'aient pas été reproduits expérimentalement, l'effet pathogène de l'agent infectieux n'est pas douteux puisque dans les cas extrêmes observés, tout le tissu interstitiel est atteint et cela dans tous les organes.

Ce fait peut, d'ailleurs, être étendu à l'ensemble des populations affectées par les mortalités. Seul symptôme aisément reconnaissable en microscopie photonique, est la présence de cellules atypiques, c'est à dire l'infection

par le virus a été décelée à l'origine lors des premières constatations de mortalités au cours de l'été 1970 et notée systématiquement chez les animaux malades durant toute l'épizootie, soit jusqu'en 1973. Les examens histologiques ont par ailleurs permis d'établir que la virose s'était étendue à tous les sites de culture de l'huître portugaise en France, exception faite du secteur méditerranéen, et montré ainsi la possibilité pour le pathogène de s'adapter à des conditions de milieu aussi différentes que celles du bassin d'Arcachon et de la rivière d'Étel en Bretagne.

Par contre on a pu noter une grande spécificité de l'agent au regard de l'hôte, seule l'huître portugaise étant atteinte; cohabitant avec cette espèce, l'huître du Pacifique se montra par contre extrêmement résistante. Durant toute la période des mortalités, les parcs de *C. gigas*, dont le développement de la culture avait surtout été sensible dans le bassin de Marennes-Oléron, ont en effet été épargnés. La résistance de cette espèce se manifestait en outre par une grande vigueur pour ce qui est de la croissance et de l'engraissement. En raison des caractéristiques de cette huître, sa culture a représenté une solution rapide et efficace aux problèmes posés par la mortalité massive de l'huître portugaise.

Il semble néanmoins que plus de dix ans après les premiers essais d'élevage de *C. gigas* en France, sa résistance doit être remise en cause. L'introduction massive de naissains du Japon, principalement en 1970 et 1971 et le semi de géniteurs provenant de Colombie britannique ont favorisé la reproduction de cette espèce et le captage massif de naissain, permettant ainsi une implantation rapide. L'adaptation aux conditions hydrologiques des côtes françaises et consécutivement une surproduction vraisemblable ont été assorties d'une certaine diminution de la vigueur. Ce phénomène se trouverait confirmé par des mortalités estivales, notamment en 1977 dans la Baie d'Arcachon. Limitée à une population restreinte, la maladie présentait les mêmes caractéristiques que la mortalité de 1970 avec présence de lésions virales chez les huîtres atteintes.

Au niveau du tissu interstitiel, les cellules infectées renferment un viroplasma intracytoplasmique à partir duquel se forment des particules qui subissent, comme chez l'huître portugaise un processus de maturation aboutissant à des virions icosaédres de 380 nm. Leur morphologie est similaire à celle du virus de mortalité de *C. angulata*.

Le troisième cas de virose noté chez les huîtres creuses concerne la maladie des branchies de l'huître portugaise qui avait précédé la mortalité massive de 1970 et dont les causes avaient été attribuées à un protiste nouveau, *Thanatostrea polymorpha* (Franc et Arvy, 1969). Cette maladie se manifeste par une ulcération évolutive des branchies et des palpes, par un amaigrissement et enfin par la mort des animaux. Elle a débuté à l'automne 1966; son évolution a été marquée par un maximum en 1967, des signes de rémission très nets étant constatés en 1968; au début des mortalités massives

ves de 1970, les symptômes étaient encore observés chez certaines huîtres. Elle persiste à l'état endémique dans les populations naturelles de *C. angulata* qui subsistent au Portugal et dans la baie de Cadix.

L'étude en microscopie électronique des tissus nécrosés a montré que des cellules géantes admises initialement comme formes de *T. polymorpha* étaient infectées par un virus dont la taille, la morphologie et le mode de virogénèse intracytoplasmique indiquaient des similitudes importantes avec les virus de mortalités.

L'infection paraît débiter par l'apparition d'une inclusion cytoplasmique où l'on note la présence d'ADN. Le développement de ce corps aboutit à une masse riche en ADN, comme le montrent la réaction de Feulgen et surtout les examens en fluorescence avec l'acridine-orange et le DAPI.

À l'examen au microscope électronique, cette masse apparaît dense aux électrons avec des zones plus opaques correspondant à une basophilie plus accusée sur coupes semi-fines et à une fluorescence plus intense. Suivant un mode identique à celui décrit pour les virus de mortalités, des particules se forment à la périphérie à partir du stroma dense. La morphologie est comparable à celle des précédents virus; à noter toutefois que le «nucléotide» central n'est pas généralement entouré d'une couche claire. La taille des virions matures est de 380 nm.

Les virus impliqués dans ces trois épizooties, dont on a vu qu'ils présentaient des caractères communs pour ce qui est de la structure, de la morphologie, de la taille et du mode de virogénèse, peuvent être rapprochés des iridovirus en tenant compte des indications obtenues sur la nature de l'acide nucléique.

Certaines particularités comme la présence dans le cas du virus de *C. gigas* d'un réseau paracrystallin comparable aux formations de même type signalées par Kelly et Tinsley (1974) dans des cellules d'*Aedes aegypti* infectées par des iridovirus, confirmeraient ces rapprochements.

Dans le cas du virus de la maladie des branchies, l'hypertrophie cellulaire qui paraît consécutive à l'infection rappelle les symptômes de la maladie lymphocystis de certains poissons, également attribuée à des iridovirus.

Il convient néanmoins de préciser que par rapport à ce groupe, les virus des huîtres *C. angulata* et *C. gigas* occuperaient une position particulière.

C'est vraisemblablement encore à ce groupe que pourrait aussi être rattaché un quatrième virus dont Elston (1979) a donné une description récente. Ce pathogène a en effet été décelé dans les cellules épithéliales du velum de larves de *C. gigas* subissant des mortalités en élevage contrôlé dans une éclosure aux États Unis.

Selon l'auteur, les particules «complètes» sont associées à des vacuoles claires, alors que les particules «incomplètes» sont associées à des inclusions denses aux électrons; peu de détails sont fournis sur le mode de virogénèse et aucune précision n'est apportée sur la nature de l'acide nucléique. Les virions, d'une taille de 228 ± 7 nm sont limités par une double membrane de 8.5 nm d'épaisseur; ils possèdent une zone centrale paracirculaire de 106 nm de large et de 160 nm pour la plus grande dimension.

Avec cette nouvelle virose, on notera que les résultats acquis au cours de ces dernières années sur les infections virales des huîtres indiquent des progrès sensibles dans un domaine encore peu exploré et annoncent, comme le montrent déjà certaines recherches entreprises sur le plan expérimental (Hill et Alderman, 1977), une évolution nouvelle de la pathologie de ces mollusques.

Références

- Comps, M., Bonami, J. R., Vago, C. et Campillo, A. 1976. Une virose de l'huître portugaise (*Crassostrea angulata*). C. R. Acad. Sci. Paris, 282 (D): 1991-1993.
- Comps, M. et Duthoit, J. L. 1976. Infection virale associée à la «maladie des branchies» de l'huître portugaise *Crassostrea angulata* Lmk. C. R. Acad. Sci. Paris, 283 (D): 1595-1596.
- Comps, M., and Masso, R. M. 1978. Study with fluorescent technics of the virus infections of the Portuguese oyster *Crassostrea angulata* Lmk. Proc. Int. Coll. Invertebr. Pathol., 11-17 sept. 1978: 11-12.
- Elston, R. 1979. Virus-like particles associated with lesions in larval Pacific oysters (*Crassostrea gigas*). J. Invertebr. Pathol., 33: 71-74.
- Farley, C. A. 1978. Viruses and virus-like lesions in marine molluscs. Mar. Fish. Rev., 40: 18-20.
- Farley, C. A., Banfield, W. G., Kasnic, G., and Foster, W. 1972. Oyster herpes-type virus. Science, 178: 759-760.
- Franc, A. et Arvy, L. 1969. Sur *Thanatostrea polymorpha* g.n., sp.n., agent de destruction des branchies et des palpes de l'huître portugaise. C. R. Acad. Sci. Paris, 268 (D): 3189-3190.
- Hill, B. J., and Alderman, D. J. 1977. Observations on the experimental infection of *Ostrea edulis* with two molluscan viruses. Haliotis, 8: 297-299.
- Kelly, D. C., and Tinsley, T. W. 1974. Iridescent virus replication: a microscope study of *Aedes aegypti* and *Antheraea eucalypti* cells in culture infected with iridescent virus types 2 and 6. Microbios, 9: 75-93.
- Rosenfield, A. 1969. Oyster diseases in North America and some methods for their control. Proc. conf. artif. propa. commer. valuable shellfish. Oysters. Oct. 22-23, 1969. College of marine studies, University of Delaware. pp. 67-78.
- Vago, C. 1966. A virus disease in crustacea. Nature, 209: 1290.