

Recherches d'ADN d'herpès virus infectant les mollusques dans les populations d'huîtres en milieu naturel et dans leur environnement

SYNTHESE

J.F. Pépin*, G. Sollic, V. Vigneron, A. Thébault, J. Lamothe,
T. Renault *

*Laboratoire de Génétique et Pathologie-
Ifremer – La Tremblade 17

CONTEXTE GENERAL

un herpès virus à part



-Descriptions de virus de type herpès chez différentes espèces de mollusques marins depuis 1972.

-Herpes-like virus

-Ostreid Herpes virus type1, OsHV-1, seul séquencé et représentant de son groupe, isolat type (*C. gigas*, France).

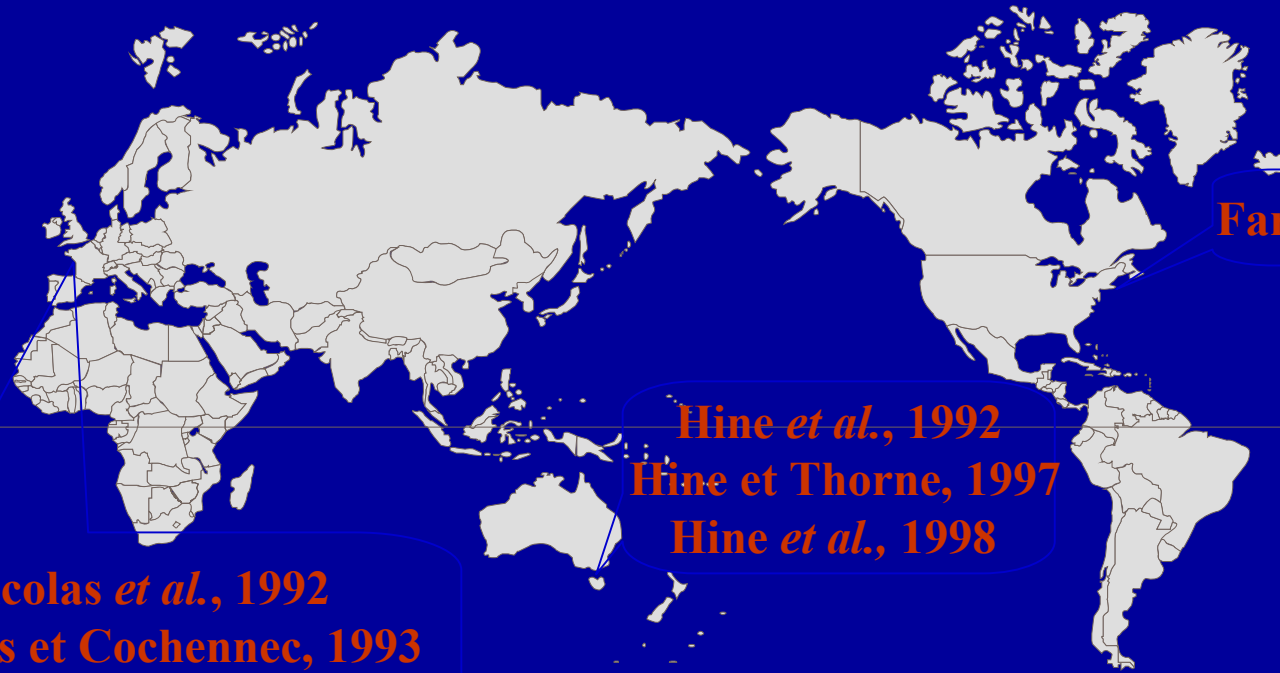
Taxonomie :

- *Malacoherpesviridae*, pas d'homologie aux autres herpes

- pas spécifique d'une espèce hôte, seul herpès d'invertébrés décrit à ce jour.

DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE

USA est/ouest, Mexique, Tasmanie, Nouvelle Zélande, Australie, Taiwan, Corée, Japon, Chine, France Atlantique et Médit., Royaume uni, Irlande, Espagne, Portugal...



Farley et al., 1972

Hine et al., 1992
Hine et Thorne, 1997
Hine et al., 1998

Nicolas et al., 1992
Comps et Cochenec, 1993
Renault et al., 1994a et b, 2000

1991-92 : Mortalités massives associées aux herpèsvirus chez différentes espèces de bivalves, à différents stades de développement et dans différentes régions du monde

EN FRANCE



- Le virus OsHV-1 est décrit dans certaines écloséries de *C. gigas* et chez *O. edulis* dès 1991. Depuis cette date est, il est observé systématiquement en France.
- OsHV-1 et son variant induisent fréquemment des mortalités chez les larves, naissain et juvéniles de *C. gigas*, majoritairement en période estivale.
- La détection d'OsHV-1 est régulièrement réalisée par le Répamo lorsque des épisodes de mortalités anormales sont déclarés.

ESPECES HÔTES



- Mortalités associées à la détection de virus de type herpès chez différentes espèces de bivalves :

Crassostrea virginica, C. gigas, C. angulata, C. ariakensis, C. hongkongensis, Ostrea edulis, O. angasi, Tiostrongia chilensis, Ruditapes decussatus, R. philippinarum et Pecten maximus.

- Et gastéropodes : genre *Haliotis supertexta, H. diversicolor, H. laevigata, H. ruber.*

LES OUTILS DE DIAGNOSTIC DISPONIBLES



- La microscopie électronique à transmission (initial)
- L'hybridation in situ
- Les PCRs :

PCR simples (routine), 15 paires d'amorces dans quatre régions différentes du génome viral A, B, C, Gp.

Nested PCR, deux couples d'amorces dans régions A, C.

PCR quantitatives (SYBR, Taqman 2006-2007), cinq couples d'amorces ciblant cinq gènes différents. plus sensibles que les autres techniques bio. mol.

- Aucune culture cellulaire permissive pour OsHV-1

Recherche d'ADN d'OsHV-1 par PCR dans des échantillons d'eau de claires ostréicoles (G. Sollicec EPHE 2004)

Problématique

- Développement de la maladie bien connue au sein des bivalves
- En revanche, peu de connaissance sur le devenir des virions dans le milieu extérieur

BUT : Comprendre les modes de dissémination et de transmission du virus

Objectif

- OsHV-1 (ADN) est-il présent dans le milieu marin?
- Est-il possible de le détecter par PCR ?

Recherche d'ADN d'OsHV-1 par PCR dans des échantillons d'eau de claires ostréicoles



- Etude préalable (DEA V. Vigneron, 2002) menée *in vitro* sur la persistance du génome viral d'OsHV-1 dans différents types d'eau, valide la PCR pour détecter l'ADN d'OsHV-1 dans l'eau de mer ou d'estuaire ($> 0,8 \mu\text{g/L} \sim 3 \cdot 10^{10}$ copies ADN).

Résultats

- Aucun des 475 échantillons collectés durant 10 mois dans 4 claires ostréicoles : 2 avec huîtres et 2 sans huîtres, n'a permis d'obtenir une bande de taille attendue avec l'ensemble des cinq couples d'amorces testées. Les bandes obtenues avec certaines ont été clonées et séquencées mais n'ont pas montrées d'homologie avec le génome d'OsHV-1.
- Est-il possible que les amorces utilisées permettent la détection d'autres herpèsvirus d'invertébrés marins non encore décrits?

Recherche d'ADN d'OsHV-1 par PCR dans des levures marines issues d'eau de claires ostréicoles



Plusieurs auteurs Kazama et al. (1972; 1973), Renault *et al.* (2003) ont observés des virus de type herpès au sein de champignons et d'algues. Possibles vecteurs d'OsHV-1 ?

- Une levure a été isolée et cultivée à partir d'eau de claires ostréicoles.

Recherche d'OsHV-1 dans les levures :

- Pas d'amplifications par PCRs simples.
- Détection par nested PCR d'ADN d'OsHV-1 dans un isolat de levure marine.
- Pas de mise en évidence de particules virales dans les cultures de levures par MET dans cette étude.

Recherche d'ADN d'OsHV-1 par PCR dans des larves de *C. gigas* pêchées en mer

A. Thébault, J. Lamothe, 1998-2001



Etude de l'état sanitaire des larves véligères d'huître creuse dans les bassins d'Arcachon et Marennes Oléron :

- Deux bassins, 3 sites par bassin
- Pêche des larves « sauvages » par trait de filet à plancton de juillet-août 1998 à 2001.
- analyse de 112 lots d'Arcachon, 213 de Marennes.
- Recherche d'OsHV-1 par PCR simple.

Résultats :

- Aucun lot positif sur les 315 analysés,
- pas de corrélation entre lots jugés moribonds et détection du virus.

CONCLUSIONS



Etat sanitaire des populations d'huîtres vis à vis d'OsHV-1 :

- Dans les cheptels d'huîtres creuses élevées d'un an et moins, détection récurrente d'OsHV-1, > 40% dans les lots à mortalité déclarés au LGP depuis plus de 10 ans (224 lots analysés).
- Hors épisodes de mortalité, fréquence de détection d'OsHV-1 < 2%.
- Populations « sauvages » hors mortalité, deux études étés 1998-2001 sur larves véligères de *C. gigas*, sans mise en d'OsHV-1 par PCR.
- Il n'existe pas d'étude sur le niveau de prévalence et l'impact d'OsHV-1 dans les populations de mollusques « sauvages », mais compte tenu des caractéristiques de ce virus (latence, cinétique d'infection rapide 8j), un suivi régulier 'a priori', ne paraît pas pertinent à mettre en oeuvre.
- Il n'existe pas d'étude sur l'impact de polluants marins associés à la détection d'OsHV-1.
- Proposition de recherches ciblées, espèces, stades, saisons ...

PERSPECTIVES



Printemps 2008 :

Etude de l'état sanitaire du naissain d'huître creuse issu de captage naturel dans les bassins d'Arcachon et Marennes Oléron :

- Animaux de 8-9 mois, trois sites de prélèvements par bassin.
- Recherche d'OsHV-1 par PCR quantitative.