



# Aspects étio-épidémiologiques des Rhabdovirus de Poissons

P De Kinkelin

## ► To cite this version:

| P De Kinkelin. Aspects étio-épidémiologiques des Rhabdovirus de Poissons. Annales de Recherches Vétérinaires, 1990, 21 (4), pp.327-330. <hal-00901980>

HAL Id: hal-00901980

<https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00901980>

Submitted on 1 Jan 1990

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

reste à déterminer l'importance de la signification biologique de cette apparente hétérogénéité.

**Aspects étio-épidémiologiques des Rhabdovirus de Poissons.** P de Kinkelin (*Laboratoire de virologie immunologie moléculaires, Unité virus des Poissons INRA, Centre de recherches de Jouy-en-Josas, 78352 Jouy-en-Josas Cedex, France*)

Depuis 1963, 10 Rhabdovirus ont été isolés à partir des Poissons sauvages ou d'élevage sur, au moins, 3 continents : Amérique, Asie et Europe. Ces virus sont, par ordre chronologique d'isolement : les virus de la septicémie hémorragique virale (SHV), de la nécrose hématopoïétique infectieuse (NHI), de la virémie printanière de la carpe (VPC); le Rhabdovirus du brochet (RhB); le virus EVA/EVX de l'anguille, de la perche du Rio-Grande, B<sub>12</sub> de l'anguille, de la perche commune, du flet japonais (HRV), enfin le Rhabdovirus de *Ophicephalus striatus*, isolé dans le contexte d'un syndrome ulcéreux sévissant dans le Sud-Est asiatique.

Deux autres virus décrits l'un sous le nom de «Cod ulcus syndrome» au Danemark et l'autre sous celui de *Rhabdovirus salmonis* en URSS n'ont pas été retenus, car il semble s'agir dans les 2 cas de virus de SHV.

### Aspects virologiques

Les Rhabdovirus de Poissons partagent les caractéristiques morphologiques générales des Rhabdoviridés : cylindres comportant une extrémité semi-sphérique et une autre aplatie, éventuellement prolongée d'une queue produite par l'enveloppe, et présentant un certain pliomorphisme résultant de la présence de formes tronquées et de formes longues.

Chacun de ces virus se développe sur un nombre plus ou moins grand de lignées cellulaires provenant de diverses espèces de Poissons mais 3 lignées suffisent à étudier l'ensemble des Rhabdovirus décrits. Parmi elles, la lignée de carpe EPC (*Epithelioma papulosum cyprini*), convient pour 7 virus : VPC, RhB, EVA, SHV, NHI, B<sub>12</sub> et flet. La température de réplication *in vitro* de chacun des Rhabdovirus couvre

une large plage (20 °C en moyenne et jusqu'à 30 °C pour les virus VPC et RhB) et s'étend bien au-delà de la température permettant l'expression de la maladie clinique. Sous les climats tempérés, les rhabdoviroses (VPC, RhB, NHI, SHV, virose du flet) sont des maladies d'eau froide ( $t < 15$  °C). Il n'y a donc pas coïncidence entre l'optimum thermique de croissance *in vitro* et la gravité de l'infection.

Le comportement du pouvoir infectant des virus de Poisson à l'action des agents physico-chimiques est sensiblement le même que celui des Rhabdovirus des homéothermes. Cependant, leur thermolabilité est inférieure avec une graduation : les virus VPC, EhB, EVA perche du Rio-Grande, *Ophicephalus* forment un groupe plus résistant que celui des virus SHV, NHI, B<sub>12</sub>, perche et flet.

Du point de vue de la constitution chimique, on trouve les 5 protéines majeures de Rhabdovirus et un ARN représentant moins de 3% du poids du virus. Le groupement dans les genres Vésiculovirus et Lyssavirus n'a pas été accepté par le Comité international de taxonomie mais, en pratique, l'ensemble VPC, RhB, EVA, *Ophicephalus* est considéré comme Vésiculovirus, tandis que SHV, NHI, B<sub>12</sub> et flet sont des Lyssavirus, les 2 virus de perche demeurant non classés. Comme chez tous les Rhabdovirus, l'antigénicité des protéines comporte, sur la base classique des anticorps polyclonaux, des antigènes de groupe (immunofluorescence, fixation du complément, co-agglutination, ELISA) et des antigènes de type révélés par neutralisation. La distinction actuelle entre Rhabdovirus de Poissons a été faite principalement par neutralisation, et des regroupements sont peut-être à prévoir, par exemple SVC et RhB. L'étude par les anticorps monoclonaux est à ses débuts et n'a été faite qu'avec les virus SHV et NHI. Pour le virus SHV, elle révèle des épitopes communs à chacune des protéines (IFI, ELISA) et pour la protéine G, un épitope de neutralisation, lui aussi partagé par les différentes souches. *In vivo*, la neutralisation de cet épitope génère une protection polyvalente. Inversement, il existe des épitopes de neutralisation responsables du type I avec pouvoir protecteur monospécifique. L'obtention de nouveaux anticorps révélera une variété accrue dans la structure antigénique des Rhabdovirus de Poisson.

L'étude génomique a débuté pour les virus VPC, NHI et SHV. Pour les 2 derniers, les sé-

quences des gènes G et N sont maintenant connues, au moins pour 1 type de chaque virus, et des essais d'immunisation par protéine G recombinante ont déjà été effectués. L'importance économique respective des 2 viroses concentre actuellement sur leurs agents les moyens de la biologie moléculaire et du génie génétique.

### *Aspects cliniques des rhabdoviroses*

L'infection rhabdovirale se présente chez les Poissons sous 3 formes cliniques avec, comme toujours, des possibilités évolutives. Ces formes sont :

- la rhabdovirose généralisée, représentée par les grandes infections septicémiques (VPC, RhB, SHV, NHI, rhabdovirose du flét et de la perche du Rio-Grande) à tropisme circulatoire et rénal, qui conduisent le plus souvent à la mort par rupture de l'équilibre hydrominéral. Au cours de leur évolution sur un cheptel, ces infections s'achèvent par des formes nerveuses, au cours desquelles le virus n'est résolable qu'à partir de l'encéphale. Au plan socio-économique, ce sont les 3 premières les plus importantes, tout spécialement en Europe;
- la rhabdovirose locale, pour l'instant constituée par des infections du système nerveux débouchant sur des troubles locomoteurs. On en trouve un exemple strict dans l'infection conférée par le Rhabdovirus de la perche commune;
- la rhabdovirose inapparente : c'est la manifestation constante de l'infection par des virus orphelins tels que EVA/EVX, B<sub>12</sub> et par celui isolé de *Ophicephalus striatus* dans le Sud-Est asiatique, associé à un syndrome ulcéreux, sans qu'un lien de cause à effet ait été établi. L'infection inapparente est aussi une forme fréquente des viroses généralisées chez les sujets adultes et sub-adultes.

Les tableaux cliniques ci-dessus résultent de l'atteinte de cellules cibles dont les conséquences se font sentir dans le cadre anatomo-physiologique propre aux Poissons. Comme d'autres virus, ainsi que de nombreuses bactéries et des parasites, infectent le système réticuloendothélial, associé étroitement au tissu hématopoïétique, on aboutit, dans les infections généralisées, à une remarquable uniformité des symptômes et des lésions. La technologie du laboratoire est donc indispensable au diagnostic.

### *Diagnostic des rhabdoviroses*

C'est un diagnostic direct, fondé soit sur l'isolement du virus en culture cellulaire, soit sur la détection des antigènes viraux dans les tissus ou sécrétions des malades et/ou porteurs asymptomatiques. C'est vers cette deuxième possibilité que portent les efforts actuels, aboutissant à des techniques dites «rapides», mais qui prennent parfois jusqu'à 24 h. Ces diagnostics rapides sont en majorité des «ELISA» mais peuvent être également fondés sur l'immuno-fluorescence ou la co-agglutination.

Cependant, ces techniques rapides ont des limites de sensibilité et de spécificité et il faut se méfier des réactions faussement négatives ou positives. De plus, elles ne dispensent pas forcément de l'isolement de virus en culture cellulaire, car les anticorps employés ne sont pas préparés contre tous les agents possibles. Enfin, dans le diagnostic des viroses inapparentes (porteurs de virus), elles ne sont pas assez sensibles. C'est pourquoi la méthode classique d'isolement du pathogène, suivie d'une identification immunologique (éventuellement dans un test ELISA qui prend place après l'isolement et non directement sur le matériel prélevé), est la plus généralement employée, et c'est même celle qui est retenue au plan international pour les contrôles sanitaires.

Par ailleurs, l'absence de réactifs de diagnostic disponibles dans le commerce a longtemps freiné le développement du diagnostic virologique mais cette situation devrait disparaître dans les 2 prochaines années. Enfin, le contrôle virologique de l'eau n'a fait l'objet que d'essais très préliminaires, les virus enveloppés se prêtant mal aux techniques de concentration employées dans ce domaine, sans préjudice du coût d'un tel diagnostic.

Le diagnostic fondé sur la sérologie du Poisson n'a pas été utilisé en pratique, en raison du manque de connaissances sur l'immunité des Poissons, de l'absence de réactifs, de techniques mal maîtrisées (neutralisation des virus SHV ou NHI), de méfiance vis-à-vis de la sérologie du fait de l'existence d'inhibiteurs naturels dans les sérums des Poissons, etc. De ce fait, aucun système de contrôle sanitaire n'est fondé sur la sérologie, à laquelle il était reproché, en plus, de ne pouvoir révéler l'existence de nouveaux agents pathogènes comme pouvait le

faire le diagnostic classique par isolement en culture; reproche d'ailleurs justifié, mais l'objectif n'est pas le même. La situation devrait changer prochainement.

### *Éléments d'épidémiologie*

Les Rhabdovirus ont été isolés dans les pays à forte production piscicole de 3 continents mais les répartitions géographiques deviennent de plus en plus difficiles à cerner, du fait de l'intensification des échanges commerciaux. D'autre part, il est vraisemblable que les régions de vide virologique correspondent plutôt à l'absence de moyens diagnostiques qu'à celle de virus.

Les réservoirs de virus sont constitués par les Poissons eux-mêmes, malades cliniques ou porteurs symptomatiques, et ce sont évidemment ces porteurs qui constituent le plus grand danger pour la propagation de l'infection. Les adultes représentent les porteurs asymptomatiques les plus fréquents et ils disséminent les virus dans les produits sexuels. Hors ces derniers, les matières virulentes sont les reins, la rate, le tube digestif et ses organes annexes ainsi que l'encéphale, siège constant des infections inapparentes. Récemment, le pouvoir contaminant du mucus cutané vient d'être démontré pour la NHI.

Le mode le plus constant de contamination s'effectue par l'eau (contamination directe ou vectorielle, selon la manière de considérer les choses). La contamination directe se fait aussi par une association du virus aux œufs (contamination externe et interne) mais pas réellement verticale. Ainsi le virus de la NHI est-il à l'intérieur de la coquille. Nombre de contaminations vectorielles sont possibles et des invertébrés peuvent être vecteurs : *Argulus* (Crustacé, Branchioire) pour le virus VPC, *Piscicola* (Annelide) pour les virus VPC et NHI. De telles contaminations sont plus ou moins fréquentes selon les précautions prises. Malheureusement, en pratique, les piscicultures ne sont pas isolables, tant du point de vue aquatique qu'aérien.

La porte d'entrée des Rhabdovirus des septémies n'est pas démontrée mais la plus probable est la branchie avec, depuis peu, l'épithélium cutané des régions anatomiques où il est mince (nageoires des jeunes sujets). Il s'ensuit une phase «d'éclipse» durant 12 à 15 h, correspondant à une multiplication virale proche de la surface corporelle (cellule épithéliale, macrophage, endothélium des capillaires sous-

cutanés). Le virus devient ensuite décelable dans les leucocytes du rein et de la rate (coculture), dans des broyats *in toto* (isolement du virus). On le visualise enfin en microscopie électronique dans les endothéliums vasculaires (dont les lésions expliquent les œdèmes, hémorragies et anémies), le rein interstitiel (où il détruit les cellules hématopoïétiques), la rate et les cellules du myocarde. Ces résultats sont obtenus avec les 3 principaux Rhabdovirus au cours d'infections expérimentales en conditions optimales. Par ailleurs, le virus VPC est régulièrement décelable dans les lamelles branchiales après 24 h d'infection.

Comme pour toute pathologie, des facteurs modulent la gravité des rhabdoviroses. Il y a tout d'abord la souche virale elle-même (exemple récent de souches avirulentes SHV de type I isolées aux États-Unis). L'environnement vient ensuite jouer un rôle, par le biais de la température de l'eau, qui intervient à la fois directement sur la cinétique de réplication virale et sur l'immunité naturelle, puis sur la réaction immunitaire acquise. Les rhabdoviroses graves sont des infections d'eau froide ( $t < 15^{\circ}\text{C}$ ). Il n'a pas été démontré que l'altération de la qualité de l'eau, pour une espèce donnée, augmente sa réceptivité aux rhabdoviroses. Quant à l'influence de la nutrition, les démonstrations restent à faire.

Le Poisson lui-même détient la clé de la réceptivité aux rhabdoviroses. Par son patrimoine génétique d'abord, s'exerçant au travers de l'espèce et de l'individu, et qui est déjà exploité sous la forme d'hybrides interspécifiques réfractaires à la SHV, puis par son état physiopathologique. Dans ce dernier interviennent l'âge (la gravité de l'infection est la plus élevée chez les jeunes), l'activité physiologique (la reproduction coïncide avec la dissémination du virus par les porteurs asymptomatiques), et les infections ou affections intercurrentes (la nécrose pancréatique infectieuse diminue la réceptivité à la SHV, de même que l'irradiation qui détruit le système réticulo-endothélial).

À l'INRA, sont actuellement entrepris des travaux à terme pour fonder l'intervention antivirale sur des méthodes génétiques s'appliquant au Rhabdovirus et aux Poissons.

### *Références*

- Amos KH (1985) *Procedures for the Detection and Identification of Certain Fish Pathogens*.

- 3rd ed Fish Health Section, American Fischer Society. Corvallis, Oregon, 114 p
- Batts WN, Winton JR (1989) Concentration of infectious hematopoietic necrosis virus from water samples by tangential flow filtration and polyethylene glycol precipitation. *Can J Fish Aquat Sci* 46, 964-968
- Bernard J, Lecoq-Xhonneux F, Rossius M, Thiry M, de Kinkelin P (1990) Cloning and sequencing the messenger RNA of the N gene of viral haemorrhagic septicaemia virus (Egtved virus). *J Gen Virol* 71, 1669-1674
- Chevassus B, Dorson M (1990) Genetics of resistance to diseases in fishes. *Aquaculture* 85 (sous presse)
- Chilmonczyk S, Oui E (1988) The effects of gamma irradiation on the lymphoid organs of rainbow trout and subsequent susceptibility to fish pathogens. *Vet Immunol Immunopathol* 18, 173-180
- Dorson M, Chevassus B (1985) Étude de la réceptivité d'hybrides triploïdes truite arc-en-ciel x saumon coho à la nécrose pancréatique infectieuse et à la septicémie hémorragique virale. *Bull Fr Pêche Piscic* 296, 29-34
- Fijan N, Sulimanovic D, Bearzotti M, Muzinic D, Zwillemberg LO, Chilmonczyk S, Vautherot JF, de Kinkelin P (1983) Some properties of the *Epithelioma papulosum cyprini* (EPC) cell line from Carp (*Cyprinus carpio*). *Ann Virol (Inst Pasteur)* 134 E, 207-220
- de Kinkelin P (1986) Diagnostic of Virus Diseases of Fish. In: *IVth International Symposium fo Veterinary Laboratory Diagnosticians* (Borst GH et al, eds), June 2-6, International Congrescentrum RAI, Amsterdam, The Netherlands, 399-408
- de Kinkelin P, Chilmonczyk S, Dorson M, Le Berre M, Baudouy A-M (1979) Some pathogenic facets of rhabdoviral infection of Salmonid Fish. In: *Symposia of Microbiology: Mechanisms of Viral Pathogenesis and Virulence* (Bachman PA, ed) WHO, Munich, 357-375
- Kurath G, Ahern KG, Pearson GD, Leong JC (1985) Molecular cloning of the six species of infectious hematopoietic necrosis virus, a Fish Rhabdovirus, and gene order determination by R loop mapping. *J Virol* 53, 469-476
- La Patra SE, Rohovec JS, Fryer JL (1989) Detection of infectious hematopoietic virus in Fish mucus. *Fish Pathol* 24, 197-202
- Mulcahy D, Klaybor D, Batts WN (1990) Isolation of infectious hematopoietic necrosis virus from a Leech (*Piscicola salmonitica*) and a Copepod (*Salmincola* sp), Ectoparasites of Sockeye Salmon *Oncorhynchus nerka*. *Dis Aquat Org* 8, 29-34
- Roy P, Gupta KC, Kiuchi A (1984) Characterization of spring viremia of Carp virus mRNA Species and the 3' sequence of the viral RNA. *Virus Res* 1, 189-202
- Way R, Dixon PF (1988) Rapid detection of VHS and IHN viruses by the enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). *J Appl Ichtyol* 4, 182-189
- Les Rhabdovirus en pisciculture nouvelle.** J Castric (CNEVA, Laboratoire de pathologie des animaux aquatiques, BP 70, 29280 Plouzané, France)
- Deux rhabdoviroses ont été décrites chez les espèces de Poissons faisant l'objet de tentatives d'élevage intensif au cours des 15 dernières années. Il s'agit de la rhabdovirose de *Paralichthys olivaceus* et de *Plecoglossus altivelis* élevés en mer au Japon, et de la septicémie hémorragique virale (SHV) de la truite Arc-en-ciel *Oncorhynchus mykiss* élevée en France et au Danemark. Le virus Hirame Rhabdovirus (HRV), responsable de l'épidémie observée au Japon, est sérologiquement différent des autres Rhabdovirus décrits chez les Poissons; il mesure 180 à 200 nm de long sur 80 nm de diamètre et se multiplie entre 5 et 20 °C. La maladie a pu être reproduite expérimentalement chez *P olivaceus* à 10 °C et chez *O mykiss* entre 12 et 14 °C.
- La SHV, maladie surtout connue en truiticulture d'eau douce, est due à des Rhabdovirus mesurant 180 nm x 60 nm dont la température optimale de croissance est de 15 °C. Cette virose se manifeste également dans les élevages de truite en eau de mer et en eau saumâtre; la mortalité a pu être retransmise expérimentalement en mer chez la truite Arc-en-ciel, mais également chez des espèces exclusivement marines : le bar *Morone labrax*, le turbot *Psetta maxima* et la daurade *Chrysophrys aurata*. Ces 3 espèces se sont révélées très sensibles au virus de la SHV (souche 07/71, sérotype 1) après inoculation intraperitoneale ou après balnéation dans une eau contaminée. Tout comme chez la truite, la mortalité est élevée en eau