



AFSSA
AGENCE FRANÇAISE
DE SÉCURITÉ SANITAIRE
DES ALIMENTS

Laurent Bigarré, Joëlle Cabon, Marine Baud et Jeannette Castric – Afssa, Laboratoire d'études et de recherches avicoles, porcines et piscicoles, Ploufragan - Brest

Un herpesvirus émergent chez la carpe

UNE NOUVELLE MALADIE CHEZ LA CARPE

Les virus pathogènes exercent de sérieuses pressions sur les élevages aquacoles. En témoignent les forts impacts économiques qu'ont eu un orthomyxovirus (ISAV) sur les élevages de saumon au Chili fin 2007 et un herpesvirus (OsHV-1) sur les élevages ostréicoles français en 2008. C'est encore un herpesvirus, toutefois bien différent, qui affecte depuis une quinzaine d'années l'un des poissons majeurs de l'économie piscicole mondiale, la carpe de l'espèce *Cyprinus carpio* de la famille des cyprinidés.

La famille des cyprinidés constitue en effet à elle seule la première production aquacole globale, loin devant le tilapia, le saumon et les autres poissons. Les premières mortalités causées par l'herpesvirus alors inconnu ont été observées dans les années 1990 sur la carpe ornementale « japonaise » ou « koï » (Photo 1), qui est une variété de la carpe « commune », *Cyprinus carpio* destinée à l'alimentation. La maladie a depuis été signalée dans plusieurs

régions du monde, y compris dans les élevages de carpe commune provoquant des millions de dollars de pertes, notamment en Asie. L'Europe n'est pas épargnée, notamment les élevages de carpe commune en Pologne et surtout en Allemagne durement affectée en 2009. Depuis 2003, le Royaume-Uni a subi en outre plusieurs épizooties en milieu naturel ou en pisciculture obligeant parfois les autorités à restreindre l'accès à certaines zones (23 sites touchés en 2006). Très récemment, le fleuve Colorado aux États-Unis a également été affecté par ce virus qui a provoqué la mort de milliers de carpes communes, et l'épizootie devrait encore s'étendre géographiquement.

Comment expliquer la propagation d'une maladie de poisson d'eau douce à une aussi large échelle en quelques années ? Ceci est le résultat de l'intense commerce international de carpes ornementales. Partie émergée de cet iceberg commercial, les compétitions internationales de carpes japonaises (« show koï ») ont participé à leur mesure à cette vaste dissémination selon un principe simple : des poissons originaires de



MINISTÈRE
DE L'ALIMENTATION,
DE L'AGRICULTURE
ET DE LA PÊCHE



Photo 1. *Cyprinus carpio* koi

régions très diverses sont mis en contact quelques heures dans un même bassin pour le plaisir d'amateurs ou l'intérêt de professionnels, puis repartent dans leur région d'origine ou sont transférés chez un acquéreur à la fin de la compétition. Si un poisson est porteur du virus, la transmission aux individus en contact est quasi assurée étant donné le fort potentiel contagieux de ce virus.

LATENCE ET TRANSIT INCOGNITO

Comme beaucoup d'herpesvirus, ce virus peut entrer en phase de latence, c'est-à-dire rester présent dans le poisson avec une charge virale très basse, à la limite des méthodes de détection, sans provoquer de symptôme. On sait peu de chose sur ce phénomène mais il est certain qu'il est contrôlé en partie par la température de l'eau. À une température comprise entre 16 et 28 °C, le virus provoque fréquemment la maladie qui s'avère souvent fatale pour le poisson (Photo 2).

En revanche, à température plus froide ou plus chaude, le virus ne provoque pas la maladie mais reste éventuellement en phase de « sommeil » dans le poisson qui peut alors fabriquer des anticorps. Un retour à une température permissive quelques mois plus tard peut toutefois conduire à un déclenchement de la maladie, malgré la présence d'anticorps. La latence a une importance fondamentale dans l'épidémiologie de la maladie. Elle explique qu'un seul poisson

apparemment sain puisse contaminer un cheptel, qui peut être décimé après un certain délai si la température de l'eau monte progressivement, par exemple au cours d'un été en Europe. Pour illustrer les conséquences de la latence, une étude récente a montré que dans un vaste lac au Japon, une population naturelle de carpes communes qui avait subi une forte mortalité en 2004, présentait encore au moins 30 % d'individus porteurs de virus deux ans plus tard [1]. Le virus s'est ainsi installé définitivement dans le lac et continuera à provoquer des mortalités aussi occasionnelles qu'imprévisibles. Il est à noter que seule l'espèce *Cyprinus carpio* peut être affectée par des mortalités. En revanche, l'implication d'autres cyprinidés comme réservoirs potentiels de virus n'est pas encore élucidée.

KHV OU CyHV3, UN MÊME NOUVEAU VIRUS

Parce qu'il a touché en premier les carpes koi, le virus a été initialement appelé Koi herpesvirus (KHV). Mais après l'obtention des premières informations génétiques, le nom s'est transformé en Cyprinid herpesvirus type 3 (CyHV3), pour le distinguer des herpesvirus type 1 et type 2 auparavant décrits chez les cyprinidés. Le séquençage complet du génome du CyHV3 a révélé une surprise de taille; c'est en effet le plus long génome parmi les herpesvirus connus: 285 kpb, soit presque 2 fois la taille d'un herpesvirus de poisson-chat et 1,2 fois la longueur du plus long des herpesvirus humain (cytomegalovirus). Autant d'énigmes pour comprendre le fonctionnement du virus. L'analyse informatique prédit environ 150 gènes. Si pour quelques-uns, des fonctions ont été prédites, beaucoup restent à caractériser. En particulier, les protéines de structure cibles des réponses immunitaires (anticorps) de la carpe sont encore inconnues. Il est pourtant essentiel de connaître ces protéines car elles pourraient être autant de candidates pour développer, par génie génétique, un test de diagnostic sérologique spécifique. Un tel test serait très utile, par exemple, pour écarter des géniteurs positifs avant introduction dans un élevage ou dans le milieu naturel. Les tests de sérologie actuels sont basés sur la reconnaissance du virus purifié qui sert « d'appât » pour la recherche d'anticorps, ce qui pose un problème car le CyHV3 est délicat à produire et partage quelques antigènes en commun avec le CyHV1. De surcroît, les tests sérologiques ont une limite



Photo 2. Mortalité de carpes Koi infectées par un herpesvirus: présence de mucus abondant sur la peau.

car le taux d'anticorps anti-CyHV3 de carpes ayant survécu à une infection se réduit avec le temps et devient éventuellement indétectable. Des carpes peuvent donc être porteuses de virus et être négatives par test ELISA (faux négatifs).

UN VACCIN EFFICACE MAIS MAL ÉVALUÉ

Un vaccin a été développé par une équipe en Israël, pays très touché par cette maladie. Il est basé sur une souche de CyHV3 atténuée après passages successifs *in vitro* [2]. Le vaccin est efficace pour protéger de la maladie, mais des interrogations subsistent sur son utilisation et font que sa vente est interdite en Europe (même si l'on peut se procurer des poissons vaccinés dans des jardinerie) : quelle est la possibilité de réversion de cette souche vers plus de virulence ? Par ailleurs, comment distinguer par test sérologique les carpes vaccinées de carpes porteuses de virus de manière latente (faux positifs) ? Des poissons vaccinés par la souche atténuée peuvent-ils être porteurs latents et transmettre la souche virulente ? Autant de questions nécessitant des réponses avant d'autoriser la mise sur le marché d'un vaccin contenant une souche virale vivante.

GENOTYPAGE DES SOUCHES

En cas de propagation d'un pathogène, quel qu'il soit, dans une population hôte, il est parfois utile de tracer son origine (géographique ou espèce réservoir) par une identification génétique afin de prévenir de nouvelles introductions. Nous avons essayé d'appliquer ce principe sur le CyHV3 en nous basant sur des résultats produits par une équipe américaine. En 2007, 3 isolats ont ainsi été séquencés entièrement et ont permis une comparaison très précise entre des génotypes du Japon, des États-Unis et d'Israël. Ces génomes se sont révélés quasi-identiques, exceptions faites de quelques minuscules domaines sur lesquels nous avons porté notre attention. Un test PCR a été développé ciblant simultanément deux de ces domaines porteurs d'information génétique. Ce test a été appliqué avec succès à une cinquantaine d'isolats européens (Pologne, Pays-Bas et France) pour la plupart portés par des carpes koi d'importation [3]. Il est ainsi apparu que chacun des échantillons provenant des 3 pays européens était porteur d'au moins 2 à 3 génotypes différents, l'un apparenté à un génotype américain, l'autre à un génotype du Japon, sans que les lots de poissons porteurs soient précisément originaires de l'un ou l'autre pays. Deux génotypes ont ainsi été détectés sur le territoire français en 2007 (Figure).

Ces résultats ne permettent pas de corréler un génotype de CyHV3 avec une origine géographique. Si l'on veut comprendre l'origine d'une épizootie, il faut donc tracer le parcours des lots incriminés et les éventuels mélanges de poissons. Plus fondamentalement, les quelques travaux de séquençage d'isolats publiés par diverses équipes montrent sans ambiguïté qu'on a affaire à un seul virus qui s'est disséminé à large échelle et qui s'est engagé dans une évolution (par mutations) qu'il sera intéressant de suivre.

PERSPECTIVES

L'herpesvirose type 3 de la carpe est depuis un an soumise à la réglementation européenne. C'est donc une maladie à déclaration obligatoire en France. Depuis 2001, peu de cas ont été répertoriés sur le territoire national, et un seul en milieu naturel, ce qui contraste avec la situation au Royaume-Uni ou en Allemagne. Est-ce la conséquence de précautions particulières mises en place par la profession ou d'une carence dans les techniques de diagnostic ? Dans la situation où la maladie est réellement sous contrôle, il est nécessaire de ne pas baisser la garde et maintenir les efforts.

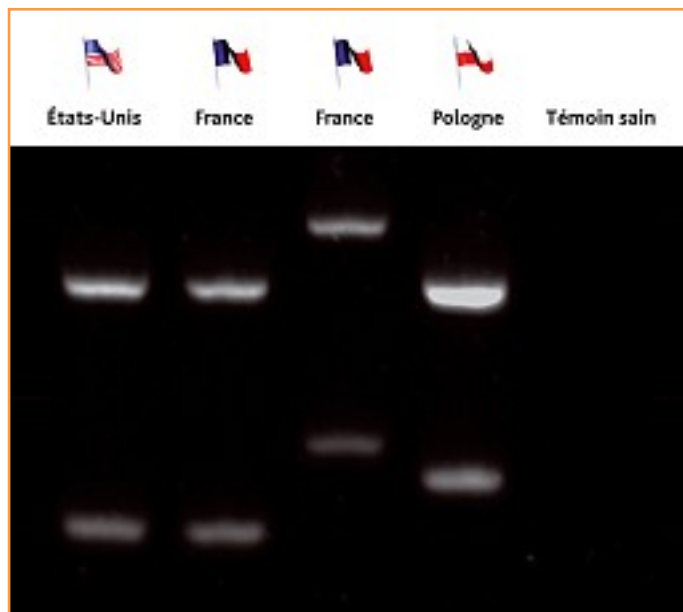


Figure. Exemples de test PCR pour différencier des génotypes de CyHV3 à partir de poissons morts. Un poisson sain est utilisé comme témoin.

L'information des particuliers et des milieux professionnels est un facteur-clé pour la prévention. Il est impératif également d'avoir à disposition des outils de diagnostic efficaces. À ce jour, le diagnostic de poissons morts suite à une infection par le CyHV3 est fiable et rapide grâce à la PCR, sous réserve que l'échantillon ait été stocké dans de bonnes conditions, par congélation par exemple. Certaines équipes européennes ont toutefois notifié l'existence d'isolats d'herpesvirus apparentés au CyHV3 mais originaux, et qui échappent au test PCR recommandé par l'Organisation mondiale de la santé animale (OIE) [4]. En cas de suspicion de la maladie et de test négatif par la méthode OIE, d'autres méthodes PCR peuvent et doivent être appliquées.

Le vrai défi actuel concerne plutôt la détection des porteurs sains ayant très peu de virus dans le sang, mais susceptibles de déclencher une épizootie. La PCR « quantitative » permet de détecter un certain nombre de ces poissons mais n'est pas encore fiable à 100 %. Les méthodes sérologiques basées sur la recherche d'anticorps anti-virus sont très intéressantes, mais elles doivent être encore améliorées en termes de sensibilité et de spécificité pour des criblages performants. Étant donné le risque élevé d'introduction de CyHV3 sur le territoire français avec les poissons régulièrement produits dans d'autres pays, il est pertinent pour un importateur de recouper différentes informations sanitaires concernant le producteur - état général, certificats de tests de laboratoire ELISA et PCR sur des échantillons - plutôt que de se baser sur une seule méthode.

RÉFÉRENCES

- [1] Uchii K, Matsui K, Iida T, Kawabata Z (2009) Distribution of the introduced cyprinid herpesvirus 3 in a wild population of common carp, *Cyprinus carpio* L. *J Fish Dis* 32 :857-864.
- [2] Perelberg A, Ronen A, Hutoran M, Smith Y, Kotler M (2005) Protection of cultured *Cyprinus carpio* against a lethal viral disease by an attenuated virus vaccine. *Vaccine* 23: 3396-3403.
- [3] Bigarré L, Baud M, Cabon J, Antychowicz J, Bergmann SM, Engelsma M, Pozet F, Reichert M, Castric J (2009) Differentiation between Cyprinid herpesvirus type-3 lineages using duplex PCR. *J Virol Methods* 158: 51-57.
- [4] Bercovier H, Fishman Y, Nahary R, Sinai S, Zlotkin A, Eynigor M, Gilad O, Eldar A, Hedrick RP (2005) Cloning of the koi herpesvirus (KHV) gene encoding thymidine kinase and its use for a highly sensitive PCR based diagnosis. *BMC Microbiol* 5: 13.
www.passionbassin.com/koi/KHV-koi.php
www.aquatechnobel.be/index.php?pg=poisson/khv1
www.uaex.edu/agoodwin/