

IDENTIFICATION ET DETECTION PAR cPCR DE 4 GENOGROUPES DE PERHABDOVIRUS CHEZ LES PERCIDES

Pallandre Laurane ¹, Feuvrier Claudette ², Pozet Françoise ², Bigarré Laurent ¹

¹ ANSES, Laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Niort, Technopole Brest Iroise, 29280 Plouzané, France

² Laboratoire Départemental d'Analyses du Jura, 39802 Poligny, France

Résumé

Les perhabdovirus PRV (*Perch rhabdovirus*) et LTRV (*Lake trout rhabdovirus*) constituent une menace sanitaire pour l'élevage des percidés (*Perca fluviatilis* et *Sander lucioperca*) en Europe. Les méthodes de diagnostic moléculaire restent encore peu développées et les études de diversité virale peu nombreuses (Betts et al. 2003, Talbi et al. 2011, Bigarré et al. 2017). Dans le cadre du projet PERCI-HATCH, nous avons caractérisé au niveau génétique une série de virus isolés sur culture de cellule en France depuis 1999 en nous basant sur le gène N (nucléoprotéine), l'objectif étant de développer des méthodes de diagnostic moléculaire adaptées à chaque virus.

Ainsi, 13 nouvelles séquences ont été comparées entre elles et avec d'autres séquences de PRV et LTRV déjà disponibles dans les bases de données. Globalement, les niveaux d'identité nucléique varient entre 68,4 et 98,5 %. En particulier, trois nouveaux isolats montrent des différences marquées avec les séquences types PRV et LTRV: les isolats 18-203 et 18-206 sont quasi-identiques entre eux, mais montrent des identités maximales de 82,7 % avec un variant du LTRV, tandis que l'isolat 18-193 présente une identité maximale de 88 % avec un isolat précédemment décrit (N4925) et seulement 75 % et 70 % avec le PRV et le LTRV. Ce sont donc au moins 4 clusters génétiques qui se distinguent dans un arbre phylogénétique: le LTRV, le PRV, le cluster N4925/18-193 et le cluster représenté par les virus 18-203 et 18-206.

Cette forte diversité génétique est un défi pour le diagnostic moléculaire car il faut trouver des sondes spécifiques de chaque cluster. En tenant compte des différences et similarités des 4 groupes génétiques, nous avons choisi 4 couples d'oligonucléotides discriminants, utilisables en PCR conventionnelle. Les tests préliminaires sur de l'ARN viral purifié de culture cellulaire et mélangé ou non à de l'ARN total de perche montrent des signaux aux tailles attendues (330, 384, 430 et 507 bp) pour chacun. Des échantillons de terrain seront testés à l'avenir pour valider la méthode.

Ces cPCR devraient être utiles pour tester la présence de perhabdovirus dans les futurs épisodes de mortalités de percidés en Europe, faire du traçage moléculaire et améliorer la prévention.

Références

- Betts AM, Stone DM, Way K, Torhy C, Chilmonczyk S, Benmansour A, de Kinkelin P (2003) Emerging vesiculo-type virus infections of freshwater fishes in Europe. *Dis Aquat Organ* 57:201-212
- Bigarré L, Plassiart G, de Boisseson C, Pallandre L, Pozet F, Ledore Y, Fontaine P, Liefvrig F (2017) Molecular investigations of outbreaks of Perch perhabdovirus infections in pike-perch. *Dis Aquat Organ* 127:19-27
- Talbi C, Cabon J, Baud M, Bourjaily M, de Boisseson C, Castric J, Bigarré L (2011) Genetic diversity of perch rhabdoviruses isolates based on the nucleoprotein and glycoprotein genes. *Arch Virol* 156:2133-2144