

FICHES D'IDENTIFICATION DES MALADIES ET PARASITES DES POISSONS, CRUSTACES ET MOLLUSQUES

Préparées sous les auspices du Groupe de Travail CIEM sur la Pathologie et les Maladies des Organismes marins

IDENTIFICATION LEAFLETS FOR DISEASES AND PARASITES OF FISH AND SHELLFISH

Prepared under the auspices of the ICES Working Group on the Pathology and Diseases of Marine Organisms

FICHE N° 25

HYPERTROPHIE VIRALE DES GAMETOCTYES CHEZ LES HUÎTRES

LEAFLET NO. 25

VIRAL GAMETOCYTE HYPERSTROPHY IN OYSTERS

par / by

C. AUSTIN FARLEY

NOAA/NMFS, Northeast Fisheries Center  
Oxford Laboratory, Oxford, MD 21654, USA

Éditées par / Edited by  
CARL J. SINDERMANN

CONSEIL INTERNATIONAL POUR L'EXPLORATION DE LA MER

INTERNATIONAL COUNCIL FOR THE EXPLORATION OF THE SEA

Palægade 2-4, DK-1261 Copenhague K, Danemark / DK-1261 Copenhagen K, Denmark

Décembre / December 1985

ISSN 0109-2510

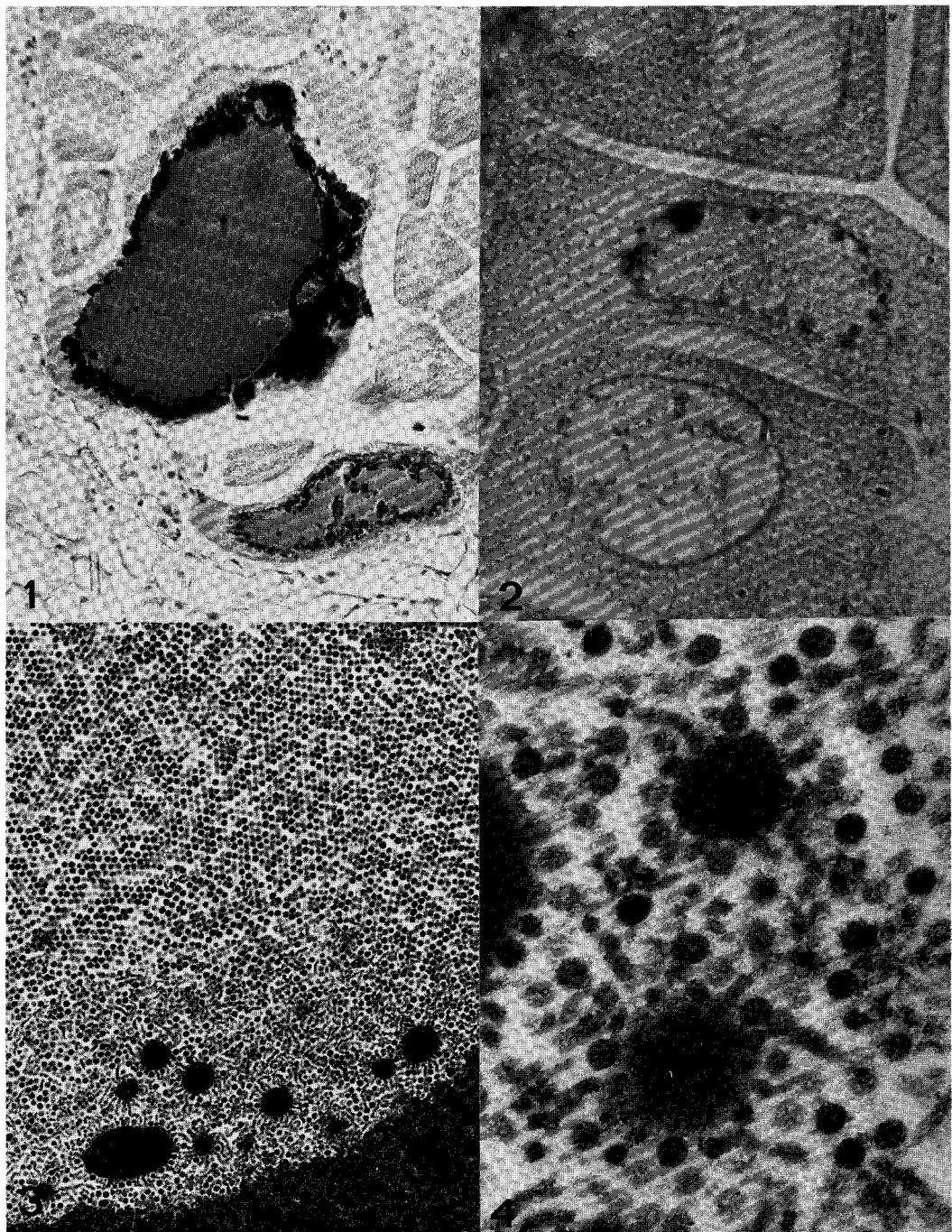


Figure 1. Two virus-infected cells in the ovary of an oyster, *C. virginica*. Densely stained regions are intranuclear virogenic stromal areas. The black material is probably host chromatin. Feulgen-picromethyl blue stain,  $\times 200$ . Figure 2. An early infection in an ovum. Feulgen-positive virogenic areas are apparent in the periphery of the nucleus (mature ova are normally Feulgen-negative). Feulgen-picromethyl blue stain,  $\times 800$ . Figure 3. Paracrystalline array of virions, assembly area, and stroma in the nucleus of an infected gametocyte.  $\times 29\,520$ . Figure 4. Assemblage of virus particles at the edge of virogenic stromal areas. Note 5- and 6-sided particles.  $\times 188\,800$ .

Figure 1. Deux cellules contaminées par virus dans l'ovaire d'une huître *C. virginica*. Les surfaces fortement colorées correspondent aux zones virogéniques intranucléaires du stroma. Les éléments qui apparaissent en noir sont sans doute de la chromatine de l'hôte. Coloration Feulgen-bleu de picrométhyl. Grossi 200 fois. Figure 2. Ovule récemment contaminé. Des zones virogéniques Feulgen-positives sont visibles à la périphérie du noyau (les ovules matures sont normalement Feulgen-négatifs). Coloration Feulgen-bleu de picrométhyl. Grossi 800 fois. Figure 3. Réseau paracristallin de virions, zone d'assemblage et stroma dans le noyau d'un gametocyte contaminé. Grossi 29 520 fois. Figure 4. Assemblage de particules virales en bordure des zones virogéniques du stroma; noter des particules à 5 et 6 cotes. Grossi 188 800 fois.

# VIRAL GAMETOCYTE HYPERSTROPHY IN OYSTERS

## Host species

*Crassostrea virginica* Gmelin, blue point oyster, American oyster. Similar histologic lesions seen in *Crassostrea gigas* Thunberg, Pacific oyster, *C. commercialis* Iredale and Roughley, Sydney rock oyster, *C. rhizophorae* Guilding, and *Ostrea lurida* Carpenter, Western oyster, Olympia oyster.

## Disease name

Viral gametocyte hypertrophy, Ovacystis

## Etiology

Ultrastructural demonstration of virus particles in the nucleus of hypertrophied cells. Particles are non-enveloped, 50 to 55 nm, icosahedral, and tentatively identified as genus *Papillomavirus*, family Papovaviridae.

## Geographic distribution

Infections have been diagnosed in *C. virginica* from Alabama, Florida, Georgia, Virginia, Maryland, Delaware, New Jersey, New York, Connecticut, Rhode Island, Massachusetts, and Maine. Histologically similar lesions have been seen in *C. gigas* from Oregon, Washington, Korea, and Japan and in *O. lurida* from Oregon, Washington, Korea, and Japan. *C. rhizophorae* from Puerto Rico also had similar lesions. These lesions range in peak prevalence from less than 1 % to as high as 30 % in the population. High prevalence has been seen in Maine.

Hypertrophied cells are most likely to be found in animals in the maturing and mature stages of gametogenesis (July–August); infections occur in both males and females but seem to be more common in females. Heavy infections are rare; 1 to 350 infected cells per histologic section have been found; the average is 4 per section.

## Significance

No clinical affect is recognized in oysters infected with this virus. The significance lies with the possibility of oncogenic transformation and possible relationship with malignant neoplasia in molluscs. The virus has not been isolated or characterized and its effect on other species including man are unknown. This was the second virus to be recognized as an infectious agent in bivalve molluscs (Farley, 1976).

## Control

Control measures are unwarranted in the United States because of the widespread occurrence. Since the disease has not yet been identified in Europe, introductions should be discouraged.

# HYPERTROPHIE VIRALE DES GAMETOCYTES CHEZ LES HUÎTRES

## Espèces hôtes

*Crassostrea virginica* Gmelin, huître. Des lésions histopathologiques similaires sont observées chez *Crassostrea gigas* Thunberg, huître du Pacifique, *C. commercialis* Iredale et Roughley, *C. rhizophorae* Guilding et *Ostrea lurida* Carpenter.

## Nom de la maladie

Hypertrophie virale des gamétocytes, «Ovacystis»

## Étiologie

L'ultrastructure met en évidence la présence de particules virales dans le noyau de cellules hypertrophiées. Ces particules sont sans enveloppe, icosakdriques et classifiées, pour le moment, dans le genre *Papillomavirus*, famille des Papovaviridae.

## Distribution géographique

La maladie a été diagnostiquée chez *C. virginica* provenant des états d'Alabama, Floride, Géorgie, Virginie, Maryland, Delaware, New Jersey, New York, Connecticut, Rhode Island, Massachusetts et Maine. Des lésions histologiquement similaires ont été observées chez *C. gigas* de l'Orégon, du Washington, de Corte et du Japon. Des *C. rhizophorae* venant de Porto Rico présentaient également des lésions similaires. La prévalence maximale de ces lésions dans les populations d'huîtres s'échelonnait entre moins de 1 % et 30 %. On a observé une prévalence élevée dans le Maine.

C'est chez les individus qui sont en période de maturation sexuelle ou qui ont atteint la maturité sexuelle (juillet-août) que l'on a le plus de chances de trouver des cellules hypertrophiées. Les contaminations se produisent chez les mâles comme chez les femelles mais semblent plus fréquentes chez ces derniers. Les fortes contaminations sont rares; on a trouvé de 1 à 350 cellules atteintes par coupe histologique; la moyenne est de 4 par coupe.

## Importance

On n'a pas reconnu d'effet clinique particulier chez les huîtres contaminées par ce virus. L'importance de la maladie dépend de la possibilité de transformation oncogène et d'une relation possible avec les tumeurs malignes chez les mollusques. Le virus n'a été ni isolé ni caractérisé; ses effets sur les autres espèces, homme inclus, sont inconnus. C'est le second virus à être reconnu comme agent infectieux chez les mollusques bivalves (Farley, 1976).

## Prophylaxie et traitement

Des mesures prophylactiques sont peu justifiées aux Etats-Unis du fait de la large extension géographique de

## **Gross clinical signs**

No gross clinical signs are evident. The disease may be diagnosed by microscopic examination of live gamete preparations; hypertrophied cells are up to 0.5 mm in diameter (much larger than ova, 45 µm in diameter).

## **Histopathology**

The disease is recognized by the presence of one or more grossly enlarged cells in the gonad tubules. Infected cells are 50 to 500 µm in diameter and have large basophilic nuclei composed of finely granular material and dense perinuclear chromatin (Fig. 1).

Nucleoli are 1 to 3 µm in diameter. The finely granular material is moderately Feulgen-positive, the chromatin is strongly Feulgen-positive, and nucleolar material is Feulgen-negative. The earliest recognizable stage is a cell about the size of mature ova with faintly Feulgen-positive material in the nucleus (Fig. 2) (mature ova are Feulgen-negative). As the nucleus and cell enlarge, the nucleus becomes more Feulgen-positive, finally resulting in lysis of the cell and inflammatory response characterized by infiltration of phagocytic cells. Lesions disappear with spawning.

**Ultrastructure.** Hypertrophied cells contain the usual array of organelles. The cytoplasm has rough and smooth ER, numerous vesicles, mitochondria with tubular cristae, microtubules, and an abundance of free ribosomes. The plasma membrane is unmodified except for desmosomal connections to adjacent normal and infected cells. The nucleus has nuclear pores and peripheral chromatin, the nucleolus is large and composed of RNP bodies. The vast intranuclear space is filled with single and paracrystalline arrayed virus particles which are icosahedral but non-membrane bound (Fig. 3). Particles assemble from single viral structures emanating from spherical virogenic stromal masses (Fig. 4). Microtubules and helical nucleoprotein structures are also present in some infected nuclei. The particles are 50 to 55 nm in diameter and both empty capsids and capsids with nucleoids can be found. Particles can be found extracellularly near lysing cells and adsorbed to the glycocalyx of ova.

## **Comments**

While no serious manifestations are known, two potential dangers exist: 1) that cross infections to other species could produce virulent disease problems in other hosts; and 2) potential for tumour production in oysters is a possibility.

The papovaviruses all have an oncogenic capability. The ubiquitous nature of this virus in oyster populations and the indication that only a low percentage of cells show lytic infections suggest that this may be a lysogenic virus. This could make it impossible to certify a population as

la maladie. Il conviendrait d'éviter les introductions d'huîtres en Europe du fait que la maladie n'y a pas encore été identifiée.

## **Signes cliniques macroscopiques**

Il n'y a pas de signe clinique macroscopique manifeste. La maladie peut être diagnostiquée par l'examen de préparations microscopiques de gammes vivantes; les cellules hypertrophiées ont jusqu'à 5 mm de diamètre, elles sont donc beaucoup plus grandes que les ovules qui ont, eux, 45 µm de diamètre.

## **Histopathologie**

On identifie la maladie par la présence d'une ou de plusieurs cellules développées au-delà de la mesure dans les tubules des gonades. Les cellules contaminées ont un diamètre de 50 à 500 µm; elles sont pourvues de grands noyaux basophiles composés de substances finement granuleuses et de chromatine périnucléaire dense (Fig. 1). Les nucléoles ont un diamètre de 1 à 3 µm. Les substances finement granuleuses sont modérément Feulgen-positives; la chromatine est fortement Feulgen-positive tandis que les constituants nucléolaires sont Feulgen-négatifs. Le premier stade identifiable consiste en une cellule qui a, à peu près, la taille des ovules matures et dont les composants nucléaires sont très légèrement Feulgen-positifs (Fig. 2) alors que les ovules matures sont Feulgen-négatifs. Au fur et à mesure que le noyau et la cellule s'agrandissent, le noyau devient de plus en plus Feulgen-positif; il en résulte, finalement, une lyse de la cellule et une réaction inflammatoire caractérisée par une infiltration à cellules phagocytaires. Les lésions disparaissent avec la ponte.

**Ultrastructure.** Les cellules hypertrophiées contiennent l'habuel réseau d'organelles. Le cytoplasme possède un réseau endoplasmique à la fois rugueux et lisse, de nombreux vésicules, des mitochondries à crêtes tubulaires, des microtubules et des ribosomes libres en abondance. La membrane cytoplasmique n'est pas modifiée excepté en ce qui concerne les connexions des desmosomes avec les cellules adjacentes, normales ou contaminées. Le noyau a des pores et une chromatine périnucléaire: le nucléole est grand et composé de corps «RNP». L'espace périnucléaire est très vaste et rempli de particules virales isolées ainsi que groupes en réseau paracrystallin; ces particules sont icosédriques mais pourvues d'enveloppe (Fig. 3). Des particules s'assemblent à partir de structures virales simples tmergeant des masses virogéniques, sphériques du stroma (Fig. 4). Des microtubules et des structures nucléoprotéiniques hélicoïdales sont également présents dans certains noyaux contaminés. Les particules ont de 50 à 55 nm de diamètre et l'on peut trouver aussi bien des capsides vides que des capsides pourvues de nucléoïdes. On peut observer des particules extracellulaires auprès de cellules en voie de lyse qui s'adsorbent au glycocalyx des ovules.

virus free and excludes the possibility of safe introduction of oysters from infected to non-infected sites.

### Remarques

Bien qu'aucune manifestation sérieuse de la maladie ne soit connue, il existe deux dangers potentiels: le premier est que des contaminations croisées avec d'autres espèces puissent produire des affections pathologiques virulentes chez d'autres hôtes; le second est qu'il existe une possibilité potentielle de formation néoplasique chez les huîtres.

En effet, tous les papovavirus ont un pouvoir oncogène. Le caractère ubiquiste de ce virus parmi les populations d'huîtres et le fait que seul un faible pourcentage de celles présente des lyses amènent à penser qu'il peut s'agir d'un virus lysogénique. Ceci pourrait faire qu'il soit impossible de certifier qu'une population est exempte de virus et exclut la possibilité de garantir l'innocuité du transfert d'huîtres d'un secteur contaminé à un secteur non contaminé.

### Key references Références bibliographiques

- FARLEY, C. A. 1976. Ultrastructural observations on epizootic neoplasia and lytic virus infection in bivalve molluscs. *Prog. exp. Tumor Res.*, 20: 283–294.  
FARLEY, C. A. 1978. Viruses and virus-like lesions in marine molluscs. *Mar. Fish. Rev.*, 40: 18–20.

### Key laboratory Laboratoire de référence

NOAA/NMFS  
Northeast Fisheries Center  
Oxford Laboratory  
Oxford, MD 21654, USA