



Organisation  
Mondiale  
de la Santé  
Animale

World  
Organisation  
for Animal  
Health

Organización  
Mundial  
de Sanidad  
Animal

Original: anglais

Septembre 2017

## RAPPORT DE LA RÉUNION DE LA COMMISSION DES NORMES SANITAIRES POUR LES ANIMAUX AQUATIQUES DE L'OIE

Paris, 13 - 20 septembre 2017

La Commission des normes sanitaires pour les animaux aquatiques de l'OIE (ci-après désignée par la Commission des animaux aquatiques) s'est réunie au siège de l'OIE, à Paris, du 13 au 20 septembre 2017. La liste des participants figure en annexe 1.

La Commission des animaux aquatiques a remercié les États membres suivants de lui avoir adressé des commentaires écrits : l'Australie, le Brésil, le Canada, la République populaire de Chine, le Taipei chinois, les Îles Cook, le Japon, la Nouvelle-Calédonie, la Nouvelle-Zélande, Singapour, la Suisse, les États-Unis d'Amérique, la Thaïlande, les États membres de l'Union européenne (UE) et le Bureau interafricain des ressources animales de l'Union africaine (UA-BIRA) au nom des États membres africains de l'OIE.

La Commission des animaux aquatiques a examiné les commentaires soumis par les États membres et a amendé les textes concernés figurant dans le *Code sanitaire pour les animaux aquatiques* (ci-après désigné par le *Code aquatique*) et dans le *Manuel des tests de diagnostic pour les animaux aquatiques* (ci-après désigné par le *Manuel aquatique*), chaque fois que nécessaire. Les amendements sont mis en exergue de la façon usuelle, c'est-à-dire par l'utilisation des fonctions « double souligné » et « ~~barre~~ » du logiciel de traitement de texte ; ils sont présentés dans les annexes du présent rapport. Les amendements apportés aux annexes lors de la présente réunion font l'objet d'un surlignage en couleur afin d'être différenciés de ceux effectués précédemment.

La Commission des animaux aquatiques a pris en considération tous les commentaires formulés par les États membres dans les délais alloués, dès lors qu'ils étaient justifiés. Néanmoins, la Commission n'a pas été en capacité de fournir des explications détaillées quant aux raisons motivant l'acceptation ou le rejet de chacune des propositions recueillies ; elle n'a donné des explications que sur les points les plus importants.

La Commission des animaux aquatiques encourage les États membres à se référer aux précédents rapports lors de l'élaboration de leurs commentaires sur des questions anciennes non résolues. La Commission des animaux aquatiques attire également l'attention des États membres sur les rapports des groupes *ad hoc*, qui comportent des informations importantes. Elle encourage les États membres à examiner ces rapports en complément des siens, chaque fois que nécessaire. Ces rapports sont disponibles sur le site Internet de l'OIE.

Le tableau ci-après fournit un récapitulatif des textes présentés dans les annexes. Les États membres doivent noter que les annexes 3 à 27B leur sont soumis afin qu'ils formulent des commentaires alors que les annexes 28 à 31 leur sont présentées à titre informatif.

Les commentaires formulés sur les annexes 3 à 27B du présent rapport devront être adressés au siège de l'OIE avant le **9 janvier 2018** afin que la Commission des animaux aquatiques puisse les examiner lors de sa réunion de février 2018. Les commentaires reçus après la date limite de dépôt ne seront pas soumis à la Commission des animaux aquatiques pour examen.

L'ensemble des commentaires doit être adressé au Service des normes de l'OIE, dont l'adresse électronique est : standards.dept@oie.int.

La Commission des animaux aquatiques encourage fortement les États membres à participer à l'élaboration des normes internationales de l'OIE, en lui soumettant des commentaires sur le présent rapport et en préparant leur participation au processus d'adoption de la Session générale. Les commentaires doivent être transmis sous format Word plutôt que pdf en raison des difficultés à incorporer le texte en format pdf dans les documents de travail de la Commission des animaux aquatiques. Les commentaires doivent être soumis sous forme de propositions de modifications rédactionnelles spécifiques, dûment étayées par des arguments structurés ou par des références scientifiques publiées. Les propositions de suppression doivent être indiquées par des caractères barrés (fonction « ~~barré~~ ») et celles d'ajouts par l'emploi du double soulignement (fonction « double surligné »). Les États membres ne doivent pas utiliser la fonction « suivi des modifications » des logiciels de traitement de texte car les marques du suivi de correction disparaissent lors de l'intégration de leurs propositions aux documents de travail de la Commission des animaux aquatiques. Les États membres sont également priés de **ne pas** faire figurer le texte d'un chapitre dans sa totalité car cela peut favoriser l'oubli de commentaires lors de la préparation des documents de travail.

Numéro du point	Points soumis aux États membres pour commentaire	Numéro de l'annexe	Numéro de la page
<b>CODE AQUATIQUE</b>			
1.2	Critères d'inclusion dans la liste des espèces sensibles à une infection par un agent pathogène spécifique (chapitre 1.5.)	Annexe 3	25
1.3	Critères d'évaluation de la sécurité sanitaire des marchandises issues d'animaux aquatiques (chapitre 5.4.)	Annexe 4	29
2.1.	Guide de l'utilisateur	Annexe 5	31
2.2.	Glossaire	Annexe 6	35
2.3.	Maladies listées par l'OIE (chapitre 1.3.)	Annexe 7	37
2.4.	Procédures internes à l'OIE en rapport avec l'Accord sur l'Application des mesures phytosanitaires et sanitaires de l'Organisation mondiale du commerce (chapitre 5.3.)	Annexe 8	39
2.5.1. and 2.5.2.	Nouveau projet de chapitre sur l'infection à <i>Batrachochytrium salamandrivorans</i> (chapitre 8.X.) ; Infection à <i>Batrachochytrium dendrobatidis</i> (chapitre 8.1.) et infection à ranavirus (chapitre 8.2.)	Annexe 9A Annexe 9B Annexe 9C	47 53 61
2.7.	Infection par le virus de la nécrose hypodermique et hématopoïétique infectieuse (Article 9.4.2.)	Annexe 10	69
2.8.	Nécrose hématopoïétique épizootique (chapitre 10.1.)	Annexe 11	71
2.8.	Infection à <i>Gyrodactylus salaris</i> (chapitre 10.3.)	Annexe 12	77
2.8.	Infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon (chapitre 10.4.)	Annexe 13	85
2.8.	Infection à <i>Aphanomyces invadans</i> (syndrome ulcératif épizootique) (chapitre 10.2.)	Annexe 14	95
2.8.	Infection par l'alphavirus des salmonidés (chapitre 10.5.)	Annexe 15	101
2.8.	Nécrose hématopoïétique infectieuse (chapitre 10.6.)	Annexe 16	109
2.8.	Herpès-virose de la carpe koï (chapitre 10.7.)	Annexe 17	117
2.8.	Iridovirose de la daurade japonaise (chapitre 10.8.)	Annexe 18	123
2.8.	Virémie printanière de la carpe (chapitre 10.9.)	Annexe 19	131
2.8.	Septicémie hémorragique virale (chapitre 10.10.)	Annexe 20	139
2.10.	Articles X.X.8., X.X.9., X.X.10. et X.X.11.	Annexe 21	147

Numéro du point	Points soumis aux États membres pour commentaire	Numéro de l'annexe	Numéro de la page
<b>MANUEL AQUATIQUE</b>			
4.11	Infection par le virus du syndrome des points blancs (chapitre 2.2.8.)	Annexe 22	149
5.2.	Nécrose hématopoïétique épizootique (chapitre 2.3.1.)	Annexe 23	167
5.2.	Infection à <i>Gyrodactylus salaris</i> (chapitre 2.3.3.)	Annexe 24	193
5.2.	Infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon (chapitre 2.3.5.)	Annexe 25	205
2.7. et 5.3.	Infection par le virus de la nécrose hypodermique et hématopoïétique infectieuse (chapitre 5.5.4., paragraphes 2.2.1. et 2.2.2.)	Annexe 26	225
5.4.	Évaluation de la sensibilité de la crevette kuruma ( <i>Penaeus japonicus</i> ) en vue de son intégration au paragraphe 2.2.2. du chapitre sur la maladie de nécrose hépatopancréatique aiguë (chapitre 2.2.1.)	Annexe 27A	227
		Annexe 27B	229
<b>ANNEXES SOUMIS AUX ÉTATS MEMBRES À TITRE INFORMATIF</b>			
2.11.	Évaluation d'un nouveau virus proche des orthomyxovirus, le virus du tilapia lacustre, en vue de son inclusion dans la liste des maladies de l'OIE	Annexe 28	231
2.12.	Fiche technique sur <i>Batrachochytrium salamandrivorans</i>	Annexe 29	235
3.1.	Rapport du groupe <i>ad hoc</i> sur la sensibilité des espèces de poissons à l'infection par les maladies de la Liste de l'OIE	Annexe 30	239
I.	Plan de travail de la Commission des normes sanitaires pour les animaux aquatiques pour 2017/2018	Annexe 31	267

#### A. Réunion avec le Directeur général

La docteure Monique Eloit, Directrice générale de l'OIE, a accueilli les membres de la Commission des animaux aquatiques et les a informés que le nouveau processus de sélection des experts candidats à l'élection des Commissions spécialisées avait été lancé, ce qu'elle considérait comme étant une étape importante dans la mise en œuvre des objectifs du sixième Plan stratégique. Elle a également souligné qu'il pouvait être envisagé d'utiliser ce processus de sélection à des fins de constitution d'une liste répertoriant les experts d'intérêt, à prendre en considération lors de la création de groupes *ad hoc*. Elle a ajouté qu'à ce jour, il n'existait aucune procédure officielle permettant d'accéder à ce type d'information. La docteure Eloit a encouragé la Commission des animaux aquatiques à travailler avec la Commission des normes biologiques sur la meilleure façon d'impliquer le réseau des Centres collaborateurs dans la réalisation des objectifs de l'OIE.

Le docteur Ingo Ernst, Président de la Commission des animaux aquatiques, a assuré à la docteure Eloit que la Commission des animaux aquatiques était consciente de l'importance de l'implication des Laboratoires de référence et des Centres collaborateurs comme support des travaux réalisés en santé des animaux aquatiques et qu'elle œuvrait, avec la Commission des normes biologiques, à réviser le processus de sélection et de validation des Centres collaborateurs.

Le docteur Ernst a indiqué que la Commission des animaux aquatiques avait discuté de trois sujets de préoccupation importants, à savoir les maladies émergentes, la résistance aux agents antimicrobiens et l'engagement des Centres de référence, avec comme objectif d'identifier les actions que la Commission des animaux aquatiques pourrait mener pour y répondre. Il a insisté sur le faible nombre de déclarations d'États membres concernant les maladies émergentes et a rappelé la volonté de la Commission des animaux aquatiques de persévérer dans sa recherche de solutions pour remédier à cette situation. Il a indiqué que la Commission des animaux aquatiques poursuivait, à cet égard, son travail de sensibilisation aux maladies émergentes en élaborant des fiches techniques sur les maladies. La Commission des animaux aquatiques a également discuté de la meilleure façon dont les Centres de référence pourraient offrir leur soutien aux États membres dans le domaine de la santé des animaux aquatiques. Elle a noté que certains Centres collaborateurs incluaient, dans leur rapport annuel, les activités dédiées à la santé des animaux aquatiques, citant en exemple le Centre collaborateur sur les maladies nouvelles et émergentes. S'agissant du sujet de la résistance aux agents antimicrobiens, le docteur Ernst a rappelé qu'il était nécessaire d'identifier les facteurs de risques et les possibles mécanismes mis en œuvre dans l'émergence de la résistance aux agents antimicrobiens en réponse à l'administration d'agents antimicrobiens aux animaux aquatiques. Il a également insisté sur l'importance de disposer de données pour conduire une évaluation. Il a informé la docteure Eloit que la Commission des animaux aquatiques discutait de l'opportunité de désigner un Centre collaborateur pour la résistance aux agents antimicrobiens chez les animaux aquatiques en vue d'apporter une aide pour la gestion des risques associés à la résistance aux agents antimicrobiens chez les animaux aquatiques.

## B. Adoption de l'ordre du jour

Le projet d'ordre du jour adressé préalablement à la tenue de la réunion a été discuté, mis à jour puis validé. L'ordre du jour de la réunion adopté figure en annexe 2.

## C. Réunion avec le Président de la Commission des normes sanitaires pour les animaux terrestres de l'OIE

Le Président de la Commission des animaux aquatiques a rencontré, pendant la semaine où les deux Commissions tenaient leur réunion respective, le président de la Commission des normes sanitaires pour les animaux terrestres (ci-après désignée par la « Commission du Code »). Les deux présidents ont discuté des sujets d'intérêt commun aux *Codes aquatique* et *terrestre*, afin de faciliter les travaux d'harmonisation des chapitres correspondants lors de leur mise à jour par les Commissions respectives. Les sujets concernaient notamment :

- l'harmonisation des guides de l'utilisateur figurant respectivement dans les *Codes aquatique* et *terrestre* ;
- l'élaboration d'un document d'orientation sur l'application des critères d'inclusion dans la liste des maladies de l'OIE ;
- les propositions de modifications, dans le Glossaire, des définitions des termes « sécurité biologique » et « plan de sécurité biologique » qui sont nécessaires au regard de l'élaboration du nouveau projet de chapitre « Sécurité biologique dans les établissements d'aquaculture », destiné au Titre 4 ; la Commission du Code a manifesté son intérêt pour les travaux réalisés dans le cadre de ce nouveau chapitre et a indiqué qu'elle en suivrait l'avancement ;
- le Président de la Commission du Code a précisé que la suppression proposée de la définition du terme « maladie » du Glossaire serait suivie mais que les définitions des termes « maladie listée », « maladie émergente » et « maladie à déclaration obligatoire » seraient conservées ;
- la révision du chapitre 1.4. relatif à la surveillance dans le *Code terrestre* et la révision prochaine du chapitre correspondant figurant dans le *Code aquatique* ;
- s'agissant des chapitres relatifs au zonage et à la compartimentation, le Président de la Commission des animaux aquatiques a expliqué vouloir élaborer un nouveau chapitre sur l'application du zonage ; le Président de la Commission du Code a indiqué que le chapitre du *Code terrestre* sur ce sujet était actuellement en cours de révision qu'il n'était pas prévu d'élaborer un nouveau chapitre sur ce sujet ;
- en réponse à la proposition de la Commission du Code d'élaborer un nouveau chapitre sur la gestion des foyers de maladies listées, le Président de la Commission des animaux aquatiques a expliqué envisager une approche différente, qui impliquera l'élaboration de deux nouveaux chapitres, l'un sur la préparation aux situations d'urgence sanitaire et l'autre sur la gestion des foyers de maladie.

## D. Réunion avec la Présidente de la Commission des normes biologiques de l'OIE

Le Président de la Commission des animaux aquatiques a rencontré, pendant la semaine où les deux Commissions tenaient leur réunion respective, la Présidente de la Commission des normes biologiques. Le Président et la Présidente ont discuté de sujets d'intérêt commun aux *Manuels aquatique* et *terrestre*, notamment la mise en œuvre par les deux Commissions, à partir de janvier 2018, des procédures opérationnelles normalisées nouvellement adoptées pour les Laboratoires de référence. La Présidente de la Commission des normes biologiques a fait le point sur les résultats des discussions engagées sur la révision des procédures de validation et de maintien du statut de Centre collaborateur de l'OIE. Elle a soumis la liste des six axes et domaines principaux identifiés par sa Commission. La Commission des animaux aquatiques examinera et fera prochainement des commentaires sur cette liste qui lui a été soumise pour avis par la Commission des normes biologiques.

## E. Code sanitaire pour les animaux aquatiques de l'OIE

### 1. Examen des commentaires des États membres concernant les textes leur ayant été adressés lors de la réunion de février 2017

#### 1.1. Commentaires d'ordre général

La Commission des animaux aquatiques a noté que certains États membres avaient soumis des commentaires sur la version révisée de textes ayant été adoptés lors de la Session générale de 2017. La Commission des animaux aquatiques n'a pas pris en compte ces commentaires car elle a considéré qu'aucun d'entre eux n'était indispensable à la compréhension des textes adoptés.

À l'instar de ce qui a été fait dans les précédents rapports, la Commission des animaux aquatiques a indiqué qu'elle n'avait pas tenu compte des commentaires qui n'étaient pas étayés.

La Commission des animaux aquatiques a rappelé aux États membres qu'en raison de l'adoption de la version révisée de la définition du terme « animaux aquatiques », le terme « animal aquatique vivant » serait remplacé par « animal aquatique » dans l'ensemble du *Code aquatique*. En effet, la définition du terme « animal aquatique » fait explicitement référence aux animaux aquatiques vivants.

## 1.2. Critères d'inclusion dans la liste des espèces sensibles à une infection par un agent pathogène spécifique (chapitre 1.5.)

Les commentaires adressés à la Commission des animaux aquatiques ont été formulés par l'Australie, le Canada, le Taipei chinois, le Japon, la Nouvelle-Calédonie, la Nouvelle-Zélande, la Suisse, la Thaïlande, les États-Unis d'Amérique, l'UE et les experts de l'OIE.

La Commission des animaux aquatiques a noté que tous les États membres sauf un étaient favorables à l'objectif du nouvel article 1.5.9. Ce nouvel article répertorie les critères permettant d'évaluer la sensibilité à des maladies pour un nombre important d'espèces hôtes, à un échelon taxonomique équivalent ou supérieur à celui du genre, plutôt que pour une espèce en particulier.

Il est attendu que l'article 1.5.9. s'applique uniquement dans le cas de maladies pour lesquelles le nombre d'hôtes est important. Il est en effet précisé dans cet article que la maladie doit affecter au moins une espèce sensible par famille, pour trois familles ou plus. Si ce critère n'est pas satisfait, alors l'article 1.5.9. ne peut être appliqué et l'espèce sensible doit être listée de façon individuelle dans le chapitre traitant de la maladie concernée.

La Commission des animaux aquatiques a souhaité rappeler qu'il serait procédé à des évaluations sur la base des informations disponibles pour chacune des espèces. Toutefois, conformément à l'article 1.5.9., le résultat de l'évaluation de la sensibilité pourra permettre l'inclusion d'échelons taxonomiques équivalents ou supérieurs au genre.

La Commission des animaux aquatiques a souhaité rappeler que les critères énumérés au chapitre 1.5. « Critères d'inclusion dans la liste des espèces sensibles à une infection par un agent pathogène spécifique » étaient utilisés afin de déterminer la liste des espèces destinées à entrer dans le champ d'application (article X.X.2) de chacun des chapitres traitant des maladies spécifiques du *Code aquatique*. Ces critères sont appliqués par les groupes *ad hoc* et les résultats des évaluations sont examinés par la Commission des animaux aquatiques puis soumis aux États membres afin qu'ils formulent leurs commentaires.

La Commission des animaux aquatiques a souhaité rappeler aux États membres que l'objectif du *Code aquatique* était de prévenir la propagation des maladies des animaux aquatiques et de garantir la sécurité sanitaire lors des échanges internationaux d'animaux aquatiques. L'application de la version actuelle des critères du chapitre 1.5. « Critères d'inclusion dans la liste des espèces sensibles à une infection par un agent pathogène spécifique » aux maladies pour lesquelles il a été démontré qu'elles affectaient un nombre important d'hôtes (par exemple, l'infection à *Aphanomyces astaci* et l'infection par le virus du syndrome des points blancs) aurait pour conséquence la réduction drastique du nombre d'espèces sensibles listées pour ces maladies. Par conséquent, les mesures du *Code aquatique* concernant ces maladies ne s'appliqueraient plus aux nombreuses espèces hôtes probablement sensibles. La Commission des animaux aquatiques a indiqué que cette situation serait contraire aux objectifs du *Code aquatique* et pourrait mener à la propagation des maladies listées.

En réponse à des demandes de clarification concernant les critères d'inclusion des espèces sensibles appartenant à un échelon taxonomique équivalent ou supérieur à celui du genre, la Commission des animaux aquatiques a proposé plusieurs amendements au texte de l'article 1.5.9.

La Commission des animaux aquatiques a reconnu qu'il était difficile de démontrer qu'une espèce était résistante à l'infection mais n'a pas accepté pour autant de supprimer le point 1 c) de l'article 1.5.9. Elle a rappelé aux États membres que la justification de ce nouvel article était qu'il était possible de lister des espèces sensibles à un échelon taxonomique supérieur à celui de l'espèce uniquement dans les cas où il existait des éléments de preuve indiquant que toutes les espèces des échelons taxonomiques concernés étaient sensibles. Si les éléments de preuve indiquaient que des espèces supposées sensibles étaient résistantes, il ne pourrait pas être possible de les lister à l'échelon taxonomique supérieur.

Pour des raisons de cohérence et en réponse à certains commentaires, la Commission des animaux aquatiques a procédé à des modifications rédactionnelles dans l'ensemble du chapitre. Les termes « pathogène » et « chapitre sur une maladie » ont été remplacés respectivement par « agent pathogène » et « chapitre traitant d'une maladie spécifique ».

La Commission des animaux aquatiques a refusé d'inclure les mots « expression des signes cliniques ou des modifications pathologiques » dans les critères figurant à l'article 1.5.4., car l'expression clinique de la maladie n'est pas nécessaire pour que la transmission ait lieu.

La Commission des animaux aquatiques a accepté la suggestion d'un État membre d'amender le libellé de l'article 1.5.8.

La version révisée du chapitre 1.5. « Critères d'inclusion dans la liste des espèces sensibles à une infection par un agent pathogène spécifique » est présentée aux États membres en annexe 3 afin qu'ils formulent leurs commentaires.

### 1.3. Critères d'évaluation de la sécurité sanitaire des marchandises issues d'animaux aquatiques

Les commentaires adressés à la Commission des animaux aquatiques ont été formulés par le Taipei chinois, la Nouvelle-Zélande, la Suisse et l'UE.

La Commission des animaux aquatiques n'a pas accepté la demande d'un État membre de faire à nouveau figurer le terme « marchandises » dans le titre du chapitre. En effet, la définition de ce terme désigne « les animaux aquatiques, les produits issus d'animaux aquatiques, les produits biologiques et le matériel pathologique », alors que seuls les produits issus d'animaux aquatiques font l'objet d'une évaluation au regard des critères figurant dans ce chapitre.

La Commission des animaux aquatiques n'a pas été d'accord avec le raisonnement selon lequel les œufs nettoyés et désinfectés pouvaient être considérés comme des marchandises dénuées de risque. En effet, elle a rappelé aux États membres que les œufs ayant été soumis à une désinfection ne satisfaisaient pas aux critères du chapitre 5.4. « Critères d'évaluation de la sécurité sanitaire des marchandises issues d'animaux aquatiques » et faisaient l'objet d'un article dédié dans les chapitres traitant des maladies spécifiques concernées.

La Commission des animaux aquatiques n'a pas accepté la demande d'un État membre d'ajouter au point 1 b) de l'article 5.4.1. des éléments supplémentaires comme, par exemple, l'équipement. Elle a justifié son refus en expliquant que cet article se référait aux critères permettant d'évaluer la sécurité sanitaire des produits issus des animaux aquatiques alors que le point 2 traitait de façon spécifique de la gestion de la contamination croisée du produit et non des risques liés à la gestion de la sécurité biologique.

En réponse à un État membre demandant une clarification sur la signification du groupe de mots « faible quantité de déchets bruts », figurant au critère 2 de l'article 5.4.2., la Commission des animaux aquatiques s'est référée au rapport de février 2009 du Groupe *ad hoc* sur la sécurité sanitaire des marchandises issues d'animaux aquatiques, dans lequel il est indiqué que :

« Plusieurs Membres ont demandé des clarifications sur l'emploi du groupe de mots « faible quantité de déchets bruts ». Selon le Groupe *ad hoc*, cette expression est à adapter en fonction du type de marchandise ; sa signification devra être précisée lors de toute évaluation de produit. Par exemple, un filet sans peau est supposé générer peu de déchets par le consommateur alors qu'une crevette entière en générera beaucoup plus (par exemple, la carapace, les pattes, la tête et la queue), puisqu'il y a moins de tissus comestibles. »

La Commission des animaux aquatiques a rappelé aux États membres que dans toutes les évaluations réalisées par le groupe *ad hoc* était précisé ce qu'était une « faible quantité de déchets bruts », au moyen d'une phrase explicative telle que « les déchets incluent la tête, la colonne vertébrale et la peau ». Les évaluations des animaux aquatiques et des produits qui en sont issus au moyen des critères figurant au chapitre 5.4. « Critères d'évaluation de la sécurité sanitaire des marchandises issues d'animaux aquatiques » sont disponibles sur le [site Internet](#) de l'OIE.

La Commission des animaux aquatiques a rappelé aux États membres que toutes les évaluations reposaient sur des éléments de preuve et que, par conséquent, il n'était pas nécessaire d'inclure le mot « preuve » dans le critère 2 de l'article 5.4.2.

En réponse au commentaire d'un État membre, la Commission des animaux aquatiques a rappelé que la définition donnée au terme « sécurité sanitaire » dans ce chapitre y figurait en préambule et qu'exceptionnellement, il s'appliquait uniquement à la santé des animaux, au regard des maladies listées.

La Commission des animaux aquatiques a refusé la proposition d'un État membre d'ajouter un nouveau point dans l'article 5.4.2. destiné à traiter du risque de transmission des agents pathogènes. Elle a expliqué que les risques de transmission étaient couverts par chacun des chapitres traitant des maladies spécifiques, à l'article X.X.11. (pour les chapitres sur les maladies des crustacés, poissons et mollusques) ou à l'article X.X.12. (pour les chapitres sur les maladies des amphibiens).

La version révisée du chapitre 5.4. « Critères d'évaluation de la sécurité sanitaire des marchandises issues d'animaux aquatiques » est présentée aux États membres en annexe 4 afin qu'ils formulent leurs commentaires.

## 2. Autres points

### 2.1. Guide de l'utilisateur

La Commission des animaux aquatiques a examiné les amendements ayant été adoptés dans le Guide de l'utilisateur de l'édition de 2016 du *Code terrestre* et a procédé, le cas échéant, à des amendements du Guide de l'utilisateur du *Code aquatique* afin d'assurer l'harmonisation des deux Codes.

La Commission des animaux aquatiques a également amendé le point 3 de la section C. relatif à la sensibilité des espèces afin qu'il soit en adéquation avec les récents travaux de révision de la liste des espèces sensibles entrepris dans les chapitres traitant des maladies spécifiques. En outre, la Commission des animaux aquatiques a également amendé le point 5 de la section C. relatif à la sécurité sanitaire des produits issus d'animaux aquatiques destinés aux échanges commerciaux afin d'en améliorer la lisibilité.

La version révisée du Guide de l'utilisateur est présentée aux États membres en annexe 5 afin qu'ils formulent leurs commentaires.

### 2.2. Glossaire

#### Statut zoosanitaire

La Commission des animaux aquatiques a examiné les amendements apportés à la définition de « statut zoosanitaire » figurant dans le *Code terrestre*, adoptés lors de la Session générale de 2017. Elle a décidé de procéder à des amendements similaires de la définition de « statut zoosanitaire » figurant dans le *Code aquatique* afin d'en améliorer la lisibilité.

#### Auto-déclaration d'absence de maladie

La Commission des animaux aquatiques a proposé de supprimer le groupe de mots « d'absence de maladie » de la définition d'« auto-déclaration d'absence de maladie » en expliquant que la référence à une maladie listée par l'OIE était incluse dans la définition. Elle a indiqué que cet amendement aurait pour conséquence une utilisation plus large de ce terme défini dans les chapitres traitant des maladies spécifiques concernés.

#### Plan de sécurité biologique

La Commission des animaux aquatiques a décidé avec le Groupe *ad hoc* sur la sécurité biologique dans les établissements d'aquaculture de réviser et d'amender la définition de l'expression « plan de sécurité biologique » afin que celle-ci intègre les établissements d'aquaculture. La Commission des animaux aquatiques a également accepté de procéder à des amendements supplémentaires afin d'améliorer la clarté et la lisibilité du texte.

#### Sécurité biologique

Suite aux modifications apportées à la définition de l'expression « plan de sécurité biologique », la Commission des animaux aquatiques a proposé plusieurs amendements de la définition du terme « sécurité biologique » afin de garantir la cohérence du texte avec celui de la définition de l'expression « plan de sécurité biologique ».

#### Espèces sensibles

La Commission des animaux aquatiques a amendé la définition du terme « espèces sensibles » afin de garantir l'alignement du texte avec celui du chapitre 1.5. « Critères d'inclusion dans la liste des espèces sensibles à une infection par un agent pathogène spécifique ».

La version révisée des définitions du Glossaire est présentée aux États membres en annexe 6 afin qu'ils formulent leurs commentaires.

### 2.3. Maladies listées par l'OIE (chapitre 1.3.)

#### Amendement des noms des maladies des poissons

La Commission des animaux aquatiques a révisé les noms employés pour désigner les maladies des poissons figurant à l'article 1.3.1. et procédé aux modifications en ligne avec la convention établie : « Infection par l'agent pathogène X ». Elle a ajouté que, lorsque cette convention de dénomination est appliquée à des maladies dont le nom habituellement usité est très différent de celui de l'agent pathogène, il est alors possible de l'ajouter entre parenthèses au titre du chapitre concerné.

La Commission des animaux aquatiques a proposé que les noms amendés figurent dans les chapitres correspondants du *Code aquatique* traitant des maladies spécifiques des poissons (voir le point 2.8.).

La version révisée du chapitre 1.3. « Maladies listées par l'OIE » est présentée aux États membres en annexe 7 afin qu'ils formulent leurs commentaires.

#### Évaluation de l'infection par le virus du tilapia lacustre, un nouveau virus proche des orthomyxovirus, en vue de son inclusion dans la Liste des maladies de l'OIE

La Commission des animaux aquatiques a examiné l'évaluation du virus du tilapia lacustre au regard des nouveaux critères du chapitre 1.2. « Critères d'inclusion des maladies des animaux aquatiques dans la liste de l'OIE », adoptés lors de la Session générale de 2017. La Commission des animaux aquatiques a également tenu compte des publications scientifiques récentes, parues depuis sa précédente réunion en février 2017.

La Commission des animaux aquatiques a évalué une nouvelle fois l'infection au regard du troisième critère d'inclusion dans la liste des maladies de l'OIE « Une définition de cas précise est disponible et il existe une méthode fiable de détection et de diagnostic », en se fondant sur une publication récente décrivant un nouveau test de diagnostic pour le virus du tilapia lacustre (Dong *et al.*, Emergence of tilapia lake virus in Thailand and an alternative semi-nested RT-PCR for detection. *Aquaculture*, doi: 10.1016/j.aquaculture.2017.04.019). La Commission a conclu que le virus du tilapia lacustre ne satisfaisait toujours pas ce critère en raison de l'insuffisance des informations rapportées dans cette publication, notamment concernant la qualité analytique de l'outil diagnostique (sensibilité et spécificité du test). La Commission des animaux aquatiques a tenu à exprimer ses vifs remerciements à la République populaire de Chine, au Vietnam et à la Thaïlande pour lui avoir communiqué des informations sur les performances du test de diagnostic du virus du tilapia lacustre.

La Commission des animaux aquatiques a noté que la présence du virus du tilapia lacustre avait été rapportée par de nouveaux pays et constituait une menace importante pour de nombreux pays en raison de l'importance de l'élevage et du commerce de tilapia à l'échelle internationale. Elle a également constaté que certains des foyers récents de maladie associés à la présence du virus n'avaient pas été déclarés à l'OIE. La connaissance de la distribution géographique du virus du tilapia lacustre est pourtant essentielle au regard des efforts déployés pour endiguer une éventuelle propagation. Les États membres sont donc encouragés à investiguer les épisodes de mortalité et de morbidité chez les tilapinés et à soumettre les séquences des gènes à GenBank, la banque de séquences nucléotidiques créée au Centre national pour l'information biotechnologique (NCBI).

La Commission des animaux aquatiques a une nouvelle fois rappelé aux États membres que l'infection par le virus du tilapia lacustre répondait à la définition du terme « maladie émergente » et que, par conséquent, sa présence devait être notifiée à l'OIE, conformément à l'article 1.1.4. du *Code aquatique*.

En l'absence de Laboratoire de référence pour l'infection par le virus du tilapia lacustre, les États membres investiguant les épisodes de mortalité et morbidité chez les tilapinés et souhaitant bénéficier de conseils et d'une assistance doivent contacter le Centre collaborateur pour les maladies nouvelles et émergentes, hébergé par l'Australian Animal Health Laboratory (CSIRO / information disponible à partir du lien suivant : <http://www.oie.int/fr/notre-expertise-scientifique/centres-collaborateurs/liste-des-centres/>). La Commission des animaux aquatiques a invité les États membres ne disposant pas de tests pour le virus du tilapia lacustre à accepter la proposition d'assistance au diagnostic du Laboratoire de référence pour l'anémie infectieuse du saumon situé au Chili (Dr Sergio Hernán Marshall González : <http://www.oie.int/our-scientific-expertise/reference-laboratories/list-of-laboratories/>).

L'évaluation du virus du tilapia lacustre au regard des nouveaux critères pour inclusion dans la Liste du chapitre 1.2. « Critères d'inclusion des maladies des animaux aquatiques dans la liste de l'OIE » est présentée aux États membres en annexe 28 à titre informatif.

## 2.4. Procédures internes à l'OIE en rapport avec l'Accord sur l'application des mesures phytosanitaires et sanitaires de l'Organisation mondiale du commerce (chapitre 5.3.)

La Commission des animaux aquatiques a noté que la version révisée du chapitre 5.3. du *Code terrestre* avait été adoptée lors de la Session générale de 2017. À des fins d'harmonisation des chapitres des deux Codes, la Commission des animaux aquatiques a décidé d'amender le texte du chapitre 5.3. du *Code aquatique* afin d'en garantir l'alignement, le cas échéant, avec le texte du chapitre correspondant du *Code terrestre*.

La Commission des animaux aquatiques a proposé quelques amendements en plus de ceux figurant dans le chapitre 5.3. du *Code terrestre*, notamment :

- au paragraphe 1 de l'article 5.3.1. de la version de travail en anglais, il est proposé de remplacer le groupe de mots « more stringent » par « that exceed » pour qualifier les mesures de sécurité sanitaire ; la Commission des animaux aquatiques justifie cette modification en expliquant que le terme « stringent » est un qualificatif faisant référence à la précision et l'exactitude alors que l'article ne concerne que la mise en place de mesures visant à conférer un haut niveau de protection ; cette proposition de substitution n'est pas transposable à la version française, dans laquelle le terme « plus contraignantes » demeure la plus adaptée au contexte ;
- au point 4 de l'article 5.3.3. et au point 2 de l'article 5.3.4. afin d'en améliorer la lisibilité ;
- au paragraphe 2 de l'article 5.3.7. afin qu'il soit en ligne avec le texte du *Code aquatique*, en précisant que des différences existent entre les deux Codes sur ce point.

La version révisée du chapitre 5.3. « Procédures internes à l'OIE en rapport avec l'Accord sur l'application des mesures phytosanitaires et sanitaires de l'Organisation mondiale du commerce » est présentée aux États membres en annexe 8 afin qu'ils formulent leurs commentaires.

## 2.5. Maladies des amphibiens

### 2.5.1. Nouveau projet de chapitre sur l'infection à *Batrachochytrium salamandrivorans* (chapitre 8.X.)

En raison de l'inclusion de l'infection à *Batrachochytrium salamandrivorans* dans le chapitre 1.3. « Maladies listées par l'OIE », adoptée lors de la Session générale de 2017, la Commission des animaux aquatiques a élaboré un nouveau projet de chapitre 8.X. « Infection à *Batrachochytrium salamandrivorans* », destiné au *Code aquatique*.

La Commission des animaux aquatiques a rappelé que la proposition de liste d'espèces sensibles figurant à l'article 8.X.2. avait été élaborée au regard d'un rapport récent de l'AESA\* et non des critères figurant au chapitre 1.5. « Critères d'inclusion dans la liste des espèces sensibles à une infection par un agent pathogène spécifique ». De ce fait, elle a indiqué que ces espèces étaient actuellement « à l'étude ». La Commission des animaux aquatiques a demandé qu'un groupe *ad hoc* soit réuni afin de procéder aux évaluations de la sensibilité des espèces destinées à figurer dans la liste du chapitre 8.1. « Infection à *Batrachochytrium dendrobatidis* », estimant que les deux espèces de *Batrachochytrium* étaient proches.

La Commission des animaux aquatiques a noté que les listes de produits issus d'animaux aquatiques figurant aux articles 8.X.3. et 8.X.12. étaient identiques à ceux répertoriés aux articles 8.1.3. et 8.1.12. du chapitre 8.1. « Infection à *Batrachochytrium dendrobatidis* », un agent pathogène appartenant également au genre *Batrachochytrium*. Elle a déclaré qu'il s'agissait d'une approche appropriée en raison de l'insuffisance de données sur la résistance de l'agent pathogène (méthodes d'inactivation efficaces). En outre, la Commission des animaux aquatiques a indiqué que les produits soumis à un traitement thermique seraient examinés dans le cadre de la proposition de nouveaux travaux sur la sécurité sanitaire des produits issus d'animaux aquatiques (voir le point 2.9.).

La Commission des animaux aquatiques a noté que ce modèle de chapitre avait été élaboré en intégrant les modifications ayant un caractère horizontal proposées dans le modèle de chapitre traitant de maladies spécifiques des poissons (voir le point 2.8.1.).

Référence bibliographique :

\*Autorité européenne de sécurité des aliments (ou EFSA), Baláž V, Gortázar Schmidt C, Murray K, Carneseccchi E, Garcia A, Gervelmeyer A, Martino L, Munoz Guajardo I, Verdonck F, Zancanaro G and Fabris C, 2017. Scientific report: scientific and technical assistance concerning the survival, establishment and spread of *Batrachochytrium salamandrivorans* (Bsal) in the EU. EFSA Journal 2017;15(2):4739, 73 pp. doi:10.2903/j.efsa.2017.4739

Le nouveau projet de chapitre 8.X. est présenté aux États membres en annexe 9A afin qu'ils formulent leurs commentaires.

### 2.5.2. Infection à *Batrachochytrium dendrobatidis* (chapitre 8.1.) et infection à ranavirus (chapitre 8.2.)

À des fins d'harmonisation des trois chapitres sur les maladies des amphibiens, la Commission des animaux aquatiques a proposé d'opérer, le cas échéant, aux chapitres 8.1. et 8.2., les mêmes modifications ayant un caractère horizontal que celles figurant dans le nouveau projet de chapitre 8.X. « Infection à *Batrachochytrium salamandrivorans* » (voir le point 2.8.1.).

Les versions révisées des chapitres 8.1. « Infection à *Batrachochytrium dendrobatidis* » et 8.2. « Infection à ranavirus » sont respectivement présentées aux États membres en annexe 9B et annexe 9C afin qu'ils formulent leurs commentaires.

## 2.6. Maladie de nécrose hépatopancréatique aiguë (chapitre 9.1.)

La publication récente d'articles sur des espèces causant la maladie de nécrose hépatopancréatique aiguë mais n'appartenant pas au genre *Vibrio* a incité la Commission des animaux aquatiques à examiner les nouvelles informations disponibles (voir les références ci-après). À l'issue de cet examen, elle a conclu que le champ d'application de l'article 9.1.1. ne devait pas être modifié.

Si les études récemment publiées ont mis en évidence que les plasmides porteurs des gènes codant pour les toxines PirA et PirB étaient effectivement présents, aucune n'a toutefois permis d'isoler à nouveau et d'identifier les bactéries pour démontrer de façon certaine que ces espèces étaient responsables de la maladie de nécrose hépatopancréatique aiguë. La Commission des animaux aquatiques a expliqué qu'en raison de la large distribution des gènes codant pour les toxines PirA et PirB dans l'environnement, il était primordial de démontrer de façon certaine que l'agent pathogène était une espèce bactérienne préalablement à un éventuel élargissement du champ d'application de la maladie. Afin de satisfaire aux postulats de Koch (qui établit le lien de causalité entre un agent pathogène et la maladie), la mise en évidence de la présence des gènes codant pour les toxines doit être suivie de l'isolement puis de l'identification des bactéries et doit être complétée par des éléments de preuve (au moyen d'un essai biologique par exemple) indiquant que ces espèces sont responsables de la maladie de nécrose hépatopancréatique aiguë.

Références bibliographiques :

Kondo *et al.* 2015. Draft Genome Sequence of Non-*Vibrio* parahaemolyticus Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease Strain KC13.17.5, Isolated from Diseased Shrimp in Vietnam. *Genome Ann* 3(5):1

Liu *et al.* (2015). Draft Genome Sequence of *Vibrio owensii* Strain SH-14, Which Causes Shrimp Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease. *Genome Ann* 3(6):1

Han *et al.*, (2017) Four AHPND strains identified on Latin American shrimp farms. *Global Aquaculture Advocate*. Feb 3

Xiao *et al.* (2017). Shrimp AHPND-causing plasmids encoding the PirAB toxins as mediated by pirAB-Tn903 are prevalent in various *Vibrio* species. *Nature Scientific Reports*. 7.41277

Dong *et al.* (2017). Complete genome sequence of *Vibrio campbellii* strain 20130629003S01 isolated from shrimp with acute hepatopancreatic necrosis disease. *Gut Pathogens*. 9:31

Dong *et al.* (2017). An isolate of *Vibrio campbellii* carrying the pirVP gene causes acute hepatopancreatic necrosis disease. *Emerging Microbes and Infections*. 6.e2

Han *et al.* (2017). Characterization and pathogenicity of acute hepatopancreatic necrosis disease natural mutants, pirABvp (-) *V. parahaemolyticus*, and pirABvp (+) *V. campbellii* strains. *Aquaculture* 470:84

Liu *et al.* (2017). Rapid diagnosis of *Vibrio owensii* responsible for shrimp acute hepatopancreatic necrosis disease with isothermal recombinase polymerase amplification assay. *Molecular and Cellular Probes*. 33:4

## 2.7. Infection par le virus de la nécrose hypodermique et hématopoïétique infectieuse (chapitre 9.4.)

La Commission des animaux aquatiques a expliqué que, depuis sa réunion en février 2017, elle avait eu connaissance d'informations scientifiques nouvelles sur la sensibilité de *Macrobrachium rosenbergii* à l'infection par le virus de la nécrose hypodermique et hématopoïétique infectieuse et qu'elle avait donc proposé que, dans l'article 9.4.2., *M. rosenbergii* soit signalée comme étant « à l'étude », le temps que soit entreprise une nouvelle évaluation de la sensibilité de cette espèce. La Commission des animaux aquatiques a, par la suite, demandé que le groupe *ad hoc* sur la sensibilité des espèces de crustacés aux maladies listées par l'OIE évalue à nouveau la sensibilité de *M. rosenbergii* à l'infection par le virus de la nécrose hypodermique et hématopoïétique infectieuse au moyen des critères figurant au chapitre 1.5. « Critères d'inclusion dans la liste des espèces sensibles à une infection par un agent pathogène spécifique » et à la lumière des nouveaux éléments d'information scientifique communiqués par un État membre.

Le groupe *ad hoc* a examiné la publication de Hsieh *et al.* (2006) et a noté que la localisation des lésions (dans l'hépatopancréas) n'était pas caractéristique et que les témoins utilisés pour l'hybridation *in situ* (ISH) généraient des résultats quelque peu incompatibles avec une infection par le virus de la nécrose hypodermique et hématopoïétique infectieuse. Le groupe *ad hoc* a approuvé le commentaire d'un État membre rappelant qu'il a été montré que d'autres virus infectant l'hépatopancréas pouvaient causer des lésions similaires à celles décrites dans l'article de Hsieh *et al.* (2006). Par conséquent, les résultats obtenus ne permettent pas de conclure de façon certaine que les lésions observées ont été causées par le virus de la nécrose hypodermique et hématopoïétique infectieuse.

À la lumière de ces informations, le groupe *ad hoc* a conclu que *M. rosenbergii* ne satisfaisait que partiellement aux critères C (modifications cliniques ou pathologiques) et D (localisation de l'agent pathogène dans les tissus cibles attendus). Le groupe *ad hoc* a donc examiné le critère A, c'est-à-dire la capacité de réplication de l'agent pathogène dans l'hôte, qui peut être déterminée par microscopie à transmission ou d'autres méthodes (par HIS, par exemple). Toutefois, en raison d'erreurs d'annotation des figures de l'article et potentiellement de l'insuffisance des témoins nécessaires (marquage de séries de coupes examinées en histologie, par exemple), le groupe *ad hoc* a conclu que les résultats de l'HIS présentés dans l'article de Hsieh *et al.* (2006) ne devaient pas être considérés comme probants.

En s'appuyant sur cette nouvelle évaluation, le groupe *ad hoc* a conclu que *M. rosenbergii* ne satisfaisait pas aux critères du chapitre 1.5. « Critères d'inclusion dans la liste des espèces sensibles à une infection par un agent pathogène spécifique » nécessaires à son inclusion dans le *Code aquatique*. En revanche, le groupe *ad hoc* a estimé qu'il devait figurer au paragraphe 2.2.2. « Species with incomplete evidence for susceptibility » du chapitre 2.2.4. « Infection par le virus de la nécrose hypodermique et hématopoïétique infectieuse » du *Manuel aquatique* (voir le point 5.3.).

La Commission des animaux aquatiques a suivi la recommandation du groupe *ad hoc* et amendé l'article 9.4.2. en conséquence.

La version révisée de l'article 9.4.2. est présentée aux États membres en annexe 10 afin qu'ils formulent leurs commentaires.

## 2.8. Chapitres dédiés aux maladies des poissons

### 2.8.1. Changements ayant un caractère horizontal

La Commission des animaux aquatiques a rappelé aux États membres qu'elle avait procédé à une révision approfondie des chapitres spécifiques des maladies des crustacés du *Code aquatique*, que la version révisée de ces chapitres leur avait été soumise afin qu'ils formulent leurs commentaires et qu'elle avait été adoptée par la suite lors de la Session générale de 2017. La Commission avait précisé, dans le rapport de la réunion de février 2017, que ces modifications ayant un caractère horizontal seraient également intégrées aux autres chapitres traitant des maladies spécifiques, au gré de l'avancement des travaux sur la sensibilité des espèces hôtes. Ces travaux ayant été initiés pour les chapitres traitant des maladies spécifiques des poissons, la Commission des animaux aquatiques a ainsi proposé d'appliquer des modifications ayant un caractère horizontal à l'ensemble de ces chapitres.

En outre, la Commission des animaux aquatiques a révisé et amendé, le cas échéant, le titre ainsi que l'article 10.X.1. et procédé aux modifications en ligne avec les amendements proposés pour le nom de la maladie, c'est-à-dire « Infection par l'agent pathogène X » (voir le point 2.3.).

La Commission des animaux aquatiques a noté que les amendements proposés pour les articles X.X.8., X.X.9., X.X.10. et X.X.11. (voir le point 2.10.) avaient également été appliqués à la version révisée de l'ensemble des chapitres traitant des maladies spécifiques des poissons.

La version révisée des chapitres 10.2. « Infection à *Aphanomyces invadans* » (syndrome ulcératif épizootique), 10.5. « Infection par l'alphavirus des salmonidés », 10.6. « Nécrose hématopoïétique infectieuse », 10.7. « Herpèsvirose de la carpe koï », 10.8. « Iridovirose de la daurade japonaise », 10.9. « Virémie printanière de la carpe » et 10.10. « Septicémie hémorragique virale » est présentée aux États membres respectivement aux annexes 14, 15, 16, 17, 18, 19 et 20, afin qu'ils formulent leurs commentaires.

### 2.8.2. Liste des espèces sensibles

Outre sa proposition de modifications ayant un caractère horizontal susmentionnée (voir le point 2.8.1.), la Commission des animaux aquatiques a examiné le rapport du groupe *ad hoc* sur la sensibilité des espèces de poissons aux maladies listées par l'OIE, qui a appliqué les critères d'inclusion dans la liste des espèces sensibles à une infection par un agent pathogène spécifique conformément au chapitre 1.5. « Critères d'inclusion dans la liste des espèces sensibles à une infection par un agent pathogène spécifique » (voir le point 3.1.). La Commission des animaux aquatiques a convenu d'amender la liste des espèces sensibles figurant à l'article X.X.2. des chapitres 10.1. « Nécrose hématopoïétique épizootique », 10.3. « Infection à *Gyrodactylus salaris* » et 10.4. « Infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon » conformément aux recommandations formulées par le groupe *ad hoc*.

#### Nécrose hématopoïétique épizootique (chapitre 10.1.)

La Commission des animaux aquatiques a noté que les deux espèces actuellement listées à l'article 10.1.2., la perche européenne (*Perca fluviatilis*) et la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*), satisfaisaient aux critères d'inclusion dans la liste des espèces sensibles (voir le point 3.1.).

La Commission des animaux aquatiques a précisé que le nom vernaculaire usuellement employé pour l'espèce, « perche fluviatile », avait été remplacé par « perche européenne » afin d'être en ligne avec FAOTERM (<http://www.fao.org/faoterm/collection/faoterm/fr/>).

La Commission des animaux aquatiques a noté que l'inclusion de neuf nouvelles espèces sensibles était proposée : le poisson-chat (*Ameiurus melas*), *Melanotaenia fluviatilis*, *Gambusia holbrooki*, *Macquaria australasica*, *Gambusia affinis*, *Galaxias olidus*, le brochet du Nord (*Esox lucius*), le sandre (*Sander lucioperca*) et *Bidyanus bidyanus* (voir le point 3.1.).

La version révisée du chapitre 10.1. « Nécrose hématopoïétique épizootique » est présentée aux États membres en annexe 11 afin qu'ils formulent leurs commentaires.

#### Infection à *Gyrodactylus salaris* (chapitre 10.3.)

S'agissant de la liste des espèces sensibles figurant à l'article 10.3.2., la Commission des animaux aquatiques a noté que six des sept espèces actuellement listées satisfaisaient aux critères d'inclusion : l'omble-chevalier (*Salvelinus alpinus*), le saumon de l'Atlantique (*Salmo salar*), la truite de mer (*Salmo trutta*), l'ombre commun (*Thymallus thymallus*), le saumon de fontaine (*Salvelinus fontinalis*) et la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) (voir le point 3.1.).

La Commission des animaux aquatiques a noté que l'omble du Canada (*Salvelinus namaycush*), actuellement listé à l'article 10.3.2., ne satisfaisait pas aux critères d'inclusion dans la liste d'espèces sensibles à *Gyrodactylus salaris*. Elle a donc proposé de supprimer cette espèce de l'article (voir le point 3.1.).

La Commission des animaux aquatiques a convenu de faire précéder le terme « œufs de poisson » des mots « non viables » au point 1 j) de l'article 10.3.3., estimant que seuls les œufs de poisson non viables seraient éligibles pour figurer dans cet article répertoriant les produits issus d'animaux aquatiques dénués de risque.

La Commission des animaux aquatiques a noté que le point 1 de l'article 10.3.8. figurant dans l'édition 2016 du *Code aquatique* avait été supprimé par inadvertance dans l'édition de 2017, lorsque le modèle d'article X.X.8. avait été appliqué. La Commission des animaux aquatiques a donc proposé que le texte y figure à nouveau au point 1 de l'article 10.3.7.

La version révisée du chapitre 10.3. « Infection à *Gyrodactylus salaris* » est présentée aux États membres en annexe 12 afin qu'ils formulent leurs commentaires.

#### Infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon (chapitre 10.4.)

La Commission des animaux aquatiques a noté que les trois espèces actuellement listées à l'article 10.4.2., le saumon de l'Atlantique (*Salmo salar*), la truite de mer (*Salmo trutta*) et la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*), satisfaisaient aux critères d'inclusion dans la liste des espèces sensibles (voir le point 3.1.)

La version révisée du chapitre 10.4. « Infection par le virus de l'anémie infectieuse » est présentée aux États membres en annexe 13 afin qu'ils formulent leurs commentaires.

## **2.9. Articles X.X.3.**

La Commission des animaux aquatiques a rappelé aux États membres que les produits issus d'animaux aquatiques figurant à l'article X.X.3. de chacun des chapitres traitant des maladies spécifiques satisfaisaient aux critères 5.4.1. et avaient fait l'objet d'une évaluation au moyen de ces critères par un panel d'experts. Les évaluations réalisées sont disponibles sur le [site Internet](#) de l'OIE.

En réponse à un État membre, la Commission des animaux aquatiques a examiné la partie de l'article X.X.3. traitant de l'inactivation des microorganismes par la chaleur, notamment le couple temps/température. La Commission des animaux aquatiques a reconnu que la raison pour laquelle des traitements d'inactivation par la chaleur non équivalents étaient fournis pour différents produits n'était pas claire et a estimé qu'il serait plus logique de faire figurer les valeurs minimales des paramètres du traitement d'inactivation thermique (c'est-à-dire les valeurs du couple temps/température) pour chacune des maladies listées par l'OIE. Ainsi, cela permettrait de mettre en exergue les valeurs minimales requises pour inactiver l'agent pathogène par la chaleur plutôt que les différentes méthodes de transformation utilisées dans le commerce. La Commission des animaux aquatiques a précisé que la charge de la preuve de l'efficacité du couple temps/température utilisé pour un produit en particulier incomberait à l'Autorité compétente du pays exportateur.

La Commission des animaux aquatiques a demandé que le groupe *ad hoc* sur la sécurité sanitaire des produits issus d'animaux aquatiques soit à nouveau réuni afin qu'il passe en revue les traitements thermiques figurant à l'article X.X.3. de chacun des chapitres traitant des maladies spécifiques et qu'il fournisse les valeurs minimales du couple temps/température pour lesquelles il a été démontré qu'elles étaient efficaces à inactiver l'agent pathogène concerné.

En outre, la Commission des animaux aquatiques a estimé que la formulation « ayant été soumis » à un couple temps/température en particulier n'était pas suffisamment précise car le produit devait d'abord atteindre une certaine température à cœur pour que le temps d'inactivation requis puisse être appliqué. Or le traitement thermique auquel un produit aurait besoin d'être soumis pour que la température à cœur soit atteinte dépend de divers paramètres (par exemple, la taille du produit, sa température initiale). Par conséquent, la Commission des animaux aquatiques a demandé que le groupe *ad hoc* donne une définition de la température à cœur.

## **2.10. Modèles d'articles X.X.8., X.X.9., X.X.10. et X.X.11.**

### **2.10.1. Article X.X.8.**

La Commission des animaux aquatiques a amendé le point 2 *b) iv)* de l'article X.X.8. afin d'assurer un renvoi correct aux chapitres correspondants des *Code* et *Manuel aquatiques*.

### 2.10.2. Articles X.X.9. et X.X.10.

En réponse à la demande d'un État membre, la Commission des animaux aquatiques a examiné le point 2 des articles X.X.9. et X.X.10 et est convenue d'ajouter les mots « glace et les déchets » générés par le transport afin qu'il soit tenu compte de l'ensemble des risques.

La Commission des animaux aquatiques a également amendé le premier paragraphe de l'article X.X.10. afin qu'il soit plus en adéquation avec son titre.

D'autres amendements ont été apportés à ces articles afin qu'ils soient en ligne avec les amendements précédemment adoptés dans les chapitres traitant des maladies spécifiques des crustacés.

### 2.10.3. Article X.X.11.

Lors de l'élaboration du nouveau chapitre sur l'infection à *B. salamandrivorans* (voir le point 5.1.), la Commission des animaux aquatiques a noté que l'article X.X.11. intitulé « Importation d'animaux aquatiques destinés à des laboratoires ou à des établissements zoologiques à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par *B. salamandrivorans* » ne figurait que dans les chapitres traitant des maladies spécifiques des amphibiens (chapitres 8.1. et 8.2.).

La Commission des animaux aquatiques a considéré qu'il était pertinent que cet article s'applique à l'ensemble des autres chapitres traitant des maladies spécifiques et a proposé qu'il soit inclus dans les Titres 9, 10 et 11 une fois que la version proposée aura été adoptée.

Les modèles d'articles X.X.8., X.X.9., X.X.10. et X.X.11. sont présentés aux États membres en annexe 21 afin qu'ils formulent leurs commentaires.

La Commission des animaux aquatiques a décidé d'appliquer ces modifications à tous les articles des chapitres traitant des maladies spécifiques des Titres 8, 9 et 10 du *Code aquatique*, une fois que celles-ci auront été adoptées. À des fins d'harmonisations des textes, la Commission des animaux aquatiques a prévu d'amender les chapitres traitant des maladies spécifiques des mollusques du Titre 11 à l'occasion du lancement des travaux sur la sensibilité des espèces hôtes.

### 2.11. Fiche technique sur le virus du tilapia lacustre

À l'issue de l'examen de la fiche technique sur le virus du tilapia lacustre au regard des informations scientifiques récentes, la Commission des animaux aquatiques a conclu qu'aucun amendement n'était nécessaire.

La Commission des animaux aquatiques a rappelé aux États membres que la fiche technique sur le virus du tilapia lacustre était disponible sur le site Internet de l'OIE.

### 2.12. Fiche technique sur *Batrachochytrium salamandrivorans*

Afin de communiquer des informations aux États membres sur les méthodes de détection et les risques de transmission de *Batrachochytrium salamandrivorans*, et dans l'attente que soient élaborés les chapitres traitant spécifiquement de cette maladie, destinés respectivement aux *Codes* et *Manuel aquatiques*, la Commission des animaux aquatiques a rédigé une fiche technique sur *Batrachochytrium salamandrivorans*.

La fiche technique sur *Batrachochytrium salamandrivorans* est désormais disponible sur le site Internet de l'OIE.

La fiche technique sur *Batrachochytrium salamandrivorans* est présentée aux États membres en annexe 29 à titre informatif.

### 3. Groupes *ad hoc*

#### 3.1. Rapport du groupe *ad hoc* sur la sensibilité des espèces de poissons aux maladies listées par l'OIE

La Commission des animaux aquatiques a examiné le rapport de réunion du groupe *ad hoc* sur la sensibilité des espèces de poissons aux maladies listées par l'OIE, qui s'est tenue du 25 au 27 avril 2017. La Commission des animaux aquatiques a remercié le groupe *ad hoc* pour le travail conséquent accompli.

Le groupe *ad hoc* de l'OIE a procédé aux évaluations des espèces hôtes sensibles au moyen des critères du chapitre 1.5. « Critères d'inclusion dans la liste des espèces sensibles à une infection par un agent pathogène spécifique » du *Code aquatique* en vue de les inclure dans les articles correspondants des chapitres traitant des maladies spécifiques figurant respectivement dans les *Code* et *Manuel aquatiques*, notamment de la nécrose hématopoïétique épizootique (respectivement dans les chapitres 10.1. et 2.3.1.), de l'infection à *Gyrodactylus salaris* (respectivement dans les chapitres 10.3. et 2.3.3.) et de l'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon (respectivement dans les chapitres 10.4. et 2.3.5.).

Il convient de se référer aux points 2.8.2. et 5.2. pour tout renseignement complémentaire.

La Commission des animaux aquatiques a également demandé que le groupe *ad hoc* poursuive ses travaux de révision des listes d'espèces sensibles destinées aux chapitres traitant des maladies spécifiques des poissons.

Le rapport de réunion du groupe *ad hoc* sur la sensibilité des espèces de poissons aux maladies listées par l'OIE est présenté aux États membres en [annexe 30](#) à titre informatif.

#### 3.2. Rapport du groupe *ad hoc* sur la démonstration de l'absence de maladie

La Commission des animaux aquatiques a examiné le rapport de réunion du groupe *ad hoc* sur la démonstration de l'absence de maladie, qui s'est tenue du 4 au 6 juillet 2017. La Commission des animaux aquatiques a salué les importants progrès accomplis par le groupe *ad hoc* sur ce sujet complexe.

À la demande de la Commission des animaux aquatiques, le groupe *ad hoc* avait élaboré des principes permettant de démontrer l'absence de maladie, qu'il avait appliqués au modèle de chapitre traitant d'une maladie spécifique. À l'issue de l'examen des travaux réalisés par le groupe *ad hoc*, la Commission des animaux aquatiques a demandé que ce dernier affine les principes appliqués au modèle de chapitre afin qu'ils puissent être appliqués aux autres chapitres traitant des maladies spécifiques. La Commission a demandé que le groupe *ad hoc* œuvre de façon électronique et finalise un rapport à lui soumettre pour examen lors de sa prochaine réunion, en février 2018.

#### 3.3. Rapport du groupe *ad hoc* sur la sécurité biologique appliquée aux animaux aquatiques

La Commission des animaux aquatiques a examiné le rapport de réunion du groupe *ad hoc* sur la sécurité biologique appliquée aux animaux aquatiques dans les établissements d'aquaculture, qui s'est tenue du 20 au 22 juin 2017 et a salué le travail réalisé.

La Commission des animaux aquatiques a examiné le rapport et le projet de chapitre sur la sécurité biologique appliquée aux animaux aquatiques dans les établissements d'aquaculture. Elle a demandé que le groupe *ad hoc* se réunisse à nouveau afin de finaliser le projet de chapitre et de lui soumettre pour examen lors de sa prochaine réunion, en février 2018.

### F. MANUEL DES TESTS DE DIAGNOSTIC POUR LES ANIMAUX AQUATIQUES

#### 4. Examen des commentaires des États membres concernant les textes leur ayant été adressés lors de la réunion de février 2017

Les commentaires adressés à la Commission des animaux aquatiques ont été formulés par l'Australie, le Brésil, le Canada, la République populaire de Chine, le Taipei Chinois, le Japon, la Nouvelle-Zélande, Suisse, la Thaïlande, les États-Unis d'Amérique, l'UA-BIRA et l'UE.

La Commission des animaux aquatiques a rappelé qu'un groupe *ad hoc* élaborait un nouveau modèle de chapitre traitant de maladie spécifique destiné au *Manuel aquatique* (voir le point 5.7.). Elle a précisé que les questions régulièrement soulevées par les États membres sur les définitions de cas suspect et confirmé, les méthodes de validation des tests de diagnostic ainsi que la structure et la présentation de ces chapitres seraient traitées par le groupe *ad hoc* dans le cadre de la mise en place de ce nouveau modèle de chapitre.

#### 4.1. Infection par le virus du syndrome des points blancs (chapitre 2.2.8.)

La Commission des animaux aquatiques a révisé les commentaires des États membres sur le chapitre 2.2.8. « Infection par le virus du syndrome des points blancs » et effectué les amendements en conséquence.

La proposition d'ajout de texte d'un État membre dans le paragraphe 2.2.1. « Susceptible host species » n'a pas été acceptée car ce texte ne traitait pas spécifiquement du sujet des espèces sensibles à l'infection par le virus du syndrome des points blancs. La Commission des animaux aquatiques a rappelé que ce paragraphe avait été intégralement révisé par le groupe *ad hoc* sur la sensibilité des espèces de crustacés aux maladies listées par l'OIE. Des modifications supplémentaires de ce paragraphe seront envisagées une fois les propositions de modifications du chapitre 1.5. « Critères d'inclusion dans la liste des espèces sensibles à une infection par un agent pathogène spécifique » adoptées (voir le point 1.2. ci-dessus).

Afin d'éviter une surcharge de travail pour les laboratoires, un État membre a proposé de réintégrer dans le paragraphe 3.3. « Pooling of samples » le texte sur le mélange d'échantillons d'individus juvéniles et subadultes qui avait été supprimé. Un autre État membre a aussi proposé la réintégration de ce texte, et ce malgré l'absence de publications sur ce sujet, estimant que le mélange d'échantillons permettait de faire baisser les coûts de surveillance, de raccourcir le délai nécessaire à la réalisation du diagnostic et de simplifier la procédure de diagnostic. La Commission des animaux aquatiques a rejeté les arguments étayant la proposition.

Un État membre a demandé que l'examen direct entre lame et lamelle ainsi que la microscopie électronique soient supprimés des méthodes de diagnostic car il est difficile de donner une définition des résultats attendus. En outre, il s'agit de méthodes peu pratiques pour les utilisateurs. La Commission des animaux aquatiques a rappelé aux États membres que les chapitres seraient intégralement révisés dès que le nouveau modèle de chapitre élaboré par le groupe *ad hoc* sur le *Manuel aquatique* (voir le point 5.7.) aura été approuvé et intégré au *Manuel aquatique*. L'aptitude et l'objectif de chacune des méthodes seront examinés de façon minutieuse et tout test jugé non pertinent sera exclu de la version révisée des chapitres.

Un État membre a estimé qu'il n'était pas nécessaire d'inclure dans le chapitre les publications de référence sur les protocoles de PCR et de RT-PCR et qu'il valait mieux y faire figurer la référence des amorces, des séquences et des sondes recommandées ainsi que les températures d'hybridation. La Commission des animaux aquatiques a déclaré que la performance d'un test de diagnostic dépendait de paramètres précis et que, par conséquent, la référence à des publications se révélait nécessaire.

La Commission des animaux aquatiques n'a pas accepté la demande d'un État membre d'ajouter une référence à une autre méthode de RT-PCR que la méthode Taqman RT-PCR décrite dans le paragraphe 4.3.1.2.4.3 car aucune information sur la sensibilité et la spécificité de ce test de diagnostic n'a été fournie. La Commission des animaux aquatiques a rappelé que la mise en place du nouveau modèle de chapitre impliquait la révision et la mise à jour de toutes les méthodes pour les tests de diagnostic. À ce stade, la Commission des animaux aquatiques prend en considération les informations complémentaires disponibles sur la performance des tests en vue de leur possible inclusion.

La Commission des animaux aquatiques a rejeté la proposition d'un État membre d'ajouter, dans le paragraphe 7.2. « Definition of confirmed case », six méthodes de détection du virus du syndrome des points blancs en rappelant que cette demande serait traitée dès lors que le nouveau modèle de chapitre aura été intégré dans le *Manuel aquatique*. La Commission a rejeté la proposition de ne pas actualiser la définition en expliquant que la justification donnée, à savoir que la nouvelle version de la définition impliquerait une charge de travail trop importante pour les laboratoires, n'était pas acceptable.

La version révisée du chapitre 2.2.8. « Infection par le virus du syndrome des points blancs » est présentée aux États membres en annexe 22 afin qu'ils formulent leurs commentaires.

## 5. Autres points

### 5.1. Nouveau projet de chapitre sur l'infection à *Batrachochytrium salamandrivorans* (chapitre 2.1.X.)

En l'absence de Laboratoire de référence pour l'infection à *Batrachochytrium salamandrivorans*, la Commission des animaux aquatiques a proposé qu'un expert soit mandaté pour élaborer un projet de chapitre une fois que le nouveau modèle de chapitre aura été finalisé (voir le point 5.7.).

La Commission des animaux aquatiques encourage le dépôt de candidatures pour le statut de Laboratoire de référence pour *Batrachochytrium salamandrivorans*.

**5.2. Nécrose hypodermique et hématopoïétique infectieuse (chapitre 2.3.1.), Infection à *Gyrodactylus salaris* (chapitre 2.3.3.) et Infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon (chapitre 2.3.5.)**

Après avoir examiné les travaux du groupe *ad hoc* sur la sensibilité des espèces de poissons aux maladies listées par l'OIE, qui a appliqué les critères du chapitre 1.5. « Critères d'inclusion dans la liste des espèces sensibles à une infection par un agent pathogène spécifique », la Commission des animaux aquatiques a décidé d'amender le paragraphe 2.2.2. « Species with incomplete evidence for susceptibility » des chapitres 2.3.1. « Nécrose hypodermique et hématopoïétique infectieuse », 2.3.3. « Infection à *Gyrodactylus salaris* » et 2.3.5. « Infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon » (voir le point 3.1.). La Commission des animaux aquatiques a également examiné les commentaires fournis par les experts des Laboratoires de référence concernés sur le paragraphe 2.2. « Host factors ».

La Commission des animaux aquatiques a également examiné les trois chapitres dans leur intégralité et proposé d'autres amendements, notamment à la partie 2. « Disease information » et à la partie 7. « Corroborative diagnostic criteria ». À des fins d'harmonisation, la Commission des animaux aquatiques a également modifié les titres des chapitres afin qu'ils soient identiques aux noms des maladies figurant dans la Liste de l'OIE (par exemple, en remplaçant l'« anémie infectieuse du saumon » par l'« infection par des variants déléétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon ou par des variants RHP0 de ce virus »). Enfin, elle a vérifié que le nom de la maladie employé au sein de chacun des chapitres était correct.

La version révisée du chapitre 2.3.1. « Nécrose hématopoïétique épizootique » est présentée aux États membres en annexe 23 afin qu'ils formulent leurs commentaires.

La version révisée du chapitre 2.3.3. « Infection à *Gyrodactylus salaris* » est présentée aux États membres en annexe 24 afin qu'ils formulent leurs commentaires.

La version révisée du chapitre 2.3.5. « Infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon » est présentée aux États membres en annexe 25 afin qu'ils formulent leurs commentaires.

**5.3. Infection par le virus de la nécrose hypodermique et hématopoïétique infectieuse (chapitre 2.2.4.)**

Comme indiqué au point 2.7., le groupe *ad hoc* sur la sensibilité des espèces de crustacés aux maladies listées par l'OIE a révisé l'évaluation de la sensibilité de *Macrobrachium rosenbergii* au moyen des critères figurant au chapitre 1.5. « Critères d'inclusion dans la liste des espèces sensibles à une infection par un agent pathogène spécifique » du *Code aquatique*.

La Commission des animaux aquatiques a approuvé l'évaluation réalisée par le groupe *ad hoc* et proposé que *M. rosenbergii* soit inclus dans le paragraphe 2.2.2. « Species with incomplete evidence for susceptibility », où il est indiqué que « des résultats positifs de PCR (polymerase chain reaction) et spécifiques de l'agent pathogène ont été rapportés mais la présence d'une infection active n'a pas été démontrée ».

La version révisée des paragraphes 2.2.1. et 2.2.2. est présentée aux États membres en annexe 26 afin qu'ils formulent leurs commentaires.

**5.4. Évaluation de la sensibilité de la crevette kuruma (*Penaeus japonicus*) à la maladie de nécrose hépatopancréatique aiguë (chapitre 2.2.1.)**

En réponse à la proposition d'un État membre d'inclure la crevette kuruma (*Penaeus japonicus*) au paragraphe 2.2.2. « Species with incomplete evidence for susceptibility » du chapitre 2.2.1. « Maladie de nécrose hépatopancréatique aiguë » du *Manuel aquatique*, la Commission des animaux aquatiques a demandé que le groupe *ad hoc* sur la sensibilité des espèces de crustacés aux maladies listées par l'OIE procède à l'évaluation de la sensibilité de cette crevette au moyen des critères énoncés au chapitre 1.5. « Critères d'inclusion dans la liste des espèces sensibles à une infection par un agent pathogène spécifique » du *Code aquatique*.

Le groupe *ad hoc* a procédé à l'évaluation de la sensibilité de *P. japonicus* aux bactéries responsables de la maladie de nécrose hépatopancréatique aiguë en se fondant sur la publication de Tinwongger *et al.* (2016). Le groupe *ad hoc* a conclu que l'identité de l'agent pathogène avait été confirmée conformément aux dispositions de l'article 1.5.5. mais que *P. japonicus* ne satisfaisait pas aux critères A (capacité de répllication de l'agent pathogène dans l'hôte), B (viabilité/infectiosité de l'agent pathogène), C (modifications cliniques ou pathologiques induites par l'agent pathogène) et D (localisation de l'agent pathogène dans les tissus cibles attendus). S'agissant du critère C, le groupe *ad hoc* a noté que Tinwongger *et al.* (2016) faisait état de mortalités importantes mais n'avait pas mis en évidence de manifestation pathologique spécifique liée à la présence de la maladie de nécrose hépatopancréatique aiguë lors de la comparaison avec le groupe témoin. Le groupe *ad hoc* a considéré que *P. japonicus* était probablement sensible aux effets des toxines homologues aux toxines entomopathogènes de *Photorhabdus* (Pir), PirA et PirB, mais que les preuves disponibles n'étaient pas suffisantes pour en faire une démonstration probante. Par conséquent, le groupe *ad hoc* a conclu que le critère C n'était pas satisfait et a indiqué un « non » dans la colonne correspondante.

Le groupe *ad hoc* a conclu que *Penaeus japonicus* ne satisfaisait pas aux critères figurant au chapitre 1.5. « Critères d'inclusion dans la liste des espèces sensibles à une infection par un agent pathogène spécifique » et que, par conséquent, cette espèce ne devait pas être incluse dans le *Code aquatique*. Le groupe *ad hoc* a toutefois considéré que la crevette kuruma devait figurer au paragraphe 2.2.2 « Species with incomplete evidence for susceptibility » du chapitre 2.2.1. du *Manuel aquatique* assortie de l'information selon laquelle la crevette avait répondu de façon positive au test PCR mais que les preuves de la présence d'une infection active n'avaient pas été obtenues.

Référence bibliographiques :

Tinwongger S., Nochiri Y., Thawonsuwan J., Nozaki R., Kondo H., Awasthi S.P., Hinenoya A., Yamasaki S. & Hirono I. (2016). Virulence of acute hepatopancreatic necrosis disease PirAB-like relies on secreted proteins not on gene copy number. *J. Appl. Microbiol.*, 121, 1755–1765.

L'évaluation de la sensibilité de la crevette kuruma ainsi que la version révisée du paragraphe 2.2.2. « Species with incomplete evidence for susceptibility » du chapitre 2.2.1. « Maladie de nécrose hépatopancréatique aiguë » sont présentées aux États membres respectivement en [annexe 27A](#) et en [annexe 27B](#) afin qu'ils formulent leurs commentaires.

#### 5.5. Infection par le virus de la myonécrose infectieuse (chapitre 2.2.5.)

Lors de la Session générale en mai 2017, un État membre avait proposé des amendements au protocole de RT-PCR (reverse transcriptase polymerase chain reaction) figurant dans le point relatif à la « RT-PCR for detection of IMNV » (Utilisation de la RT-PCR pour la détection du virus de la myonécrose infectieuse) figurant dans le paragraphe 4.3.1.2.3.2. du chapitre 2.2.5. « Infection par le virus de la myonécrose infectieuse ». Afin de ne pas retarder l'adoption des autres modifications importantes apportées au chapitre, ce dernier a été soumis à l'adoption puis adopté sans que le protocole de RT-PCR ait été amendé. En parallèle, les amendements proposés par l'État membre ont été examinés par un expert de l'OIE. L'expert a rapporté que l'État membre n'avait pas apporté de justifications aux amendements proposés, notamment les preuves de l'équivalence de la performance du test dans les nouvelles conditions, comparativement au protocole existant. La Commission des animaux aquatiques a décidé qu'en l'absence de ces informations, elle ne pouvait pas accepter la proposition de l'État membre.

#### 5.6. Infection par le virus du syndrome de Taura (chapitre 2.2.7.)

De façon similaire au point 5.5. ci-dessus, un État membre a proposé des amendements au protocole de RT-PCR figurant dans le paragraphe 4.3.1.2.7.2. du chapitre 2.2.7. « Infection par le virus du syndrome de Taura ». Cette fois encore, l'expert de l'OIE n'a pas accepté les propositions d'amendements en raison de l'absence de données publiées sur l'équivalence de la performance du test dont le protocole a été amendé, comparativement au protocole existant. La Commission des animaux aquatiques a décidé qu'en l'absence de ces informations, elle ne pouvait pas accepter la proposition de l'État membre.

#### 5.7. Examen du modèle de chapitre de maladie destiné au *Manuel aquatique* proposé par le groupe *ad hoc*

La Commission des animaux aquatiques a examiné le modèle de chapitre traitant de maladie spécifique ayant fait l'objet d'amendements supplémentaires par le groupe *ad hoc* en réponse aux commentaires qu'elle avait formulés lors de sa réunion de février 2017.

Le groupe *ad hoc* continuera d'amender le modèle de chapitre en prenant en compte les commentaires de la Commission des animaux aquatiques. Lors de sa réunion prévue en février 2018, la Commission des animaux aquatiques examinera la version finale du modèle ainsi que les trois exemples de chapitres. Elle les annexera à son rapport de réunion afin de les soumettre aux États membres à titre informatif. La Commission des animaux aquatiques a décidé que le modèle serait d'abord appliqué aux chapitres traitant des maladies des mollusques et a fixé comme objectif que la version révisée de ces chapitres lui soit soumise pour examen lors sa réunion de septembre 2018.

### G. CENTRES DE RÉFÉRENCE DE L'OIE

#### 6. Candidatures au statut de Centre de référence de l'OIE ou changements d'expert

La Commission des animaux aquatiques a recommandé l'acceptation des candidatures suivantes au statut de Laboratoire de référence de l'OIE :

*Laboratoire de référence de l'OIE pour la maladie de nécrose hépatopancréatique aiguë*

National Chen-Kung University, Center for Shrimp Disease Control and Genetic Improvement, No.500, Sec. 3, Anming Road, Annan Dist., Tainan City 709, Chinese Taipei. Tel.: (+886-6) 384.24.48; Fax! (+886-6) 208.36.63; Courriel: gracelow@mail.ncku.edu.tw

Expert référent désigné : Dr Grace Chu-Fang Lo.

*Laboratoire de référence de l'OIE pour la nécrose hématopoïétique infectieuse*

Animal and Plant Inspection and Quarantine Technical Centre, Shenzhen Exit & Entry Inspection and Quarantine Bureau, Inspection and Quarantine Building, 1011 Fuqiang Road, Futian Qu, Shenzhen City, Guangdong Province, 518045, CHINA (PEOPLE'S REP. OF). Tel: (+86-755) 25.58.84.10; Fax: (+86-755) 25.59.56.30. Site internet: <http://dzzx.szciq.gov.cn/>; Courriel: [liuhong@szciq.gov.cn](mailto:liuhong@szciq.gov.cn)

Expert référent désigné : Dr Hong Liu.

*Laboratoire de référence de l'OIE pour la septicémie hémorragique virale et la nécrose hématopoïétique infectieuse*

Pacific Biological Station – Aquatic Animal Health Laboratory (PBS-AAHL), Fisheries & Oceans Canada, 3190 Hammond Bay Road, Nanaimo, BC V9T 6N7, Canada. Tel.: (+1-250) 756.73.40; Fax: (+1-250) 756.70.53; Courriel: [Kyle.Garver@dfo-mpo.gc.ca](mailto:Kyle.Garver@dfo-mpo.gc.ca)

Expert référent désigné : Dr Kyle Garver.

En février 2017, la Commission des animaux aquatiques avait approuvé une candidature au statut de Laboratoire de référence pour la maladie de nécrose hépatopancréatique aiguë. Toutefois, en raison du départ du laboratoire de l'expert nommé en mars 2017, cette candidature n'a pas pu être proposée à l'adoption en mai 2017. La Commission a demandé que l'État membre candidat soumette un nouveau dossier de demande pour devenir le Laboratoire de référence de l'OIE pour la maladie de nécrose hépatopancréatique aiguë. L'État membre concerné ayant également soumis une demande de changements d'experts pour sept Laboratoires de référence pour des maladies des crustacés, la Commission a requis que lui soient soumises à nouveau les informations relatives à l'expertise des personnes nommées pour chacune des maladies.

#### **7. Retour de la Commission des normes biologiques concernant les réflexions sur les Centres collaborateurs**

Lors de sa réunion en février 2017, la Commission des normes biologiques avait initié des réflexions sur le réseau des Centres collaborateurs de l'OIE, notamment sur la meilleure façon de l'impliquer dans la réalisation des objectifs de l'OIE. Comme première étape, la Commission des normes biologiques a convenu d'identifier les secteurs d'activité à privilégier pour les futurs candidats au statut de Centre collaborateur. L'objectif est d'améliorer la qualité du travail réalisé avec le réseau de Centre collaborateurs, de rendre le fonctionnement du réseau plus clair et de multiplier les opportunités de fonctionner en réseau, conformément au 6<sup>e</sup> plan stratégique de l'OIE.

Lors de sa réunion de septembre 2017, la Commission des normes biologiques a finalisé la liste qu'elle a ensuite soumise à la Commission des animaux aquatiques afin que celle-ci formule des commentaires et l'amende. La Commission des normes biologiques a identifié six secteurs à privilégier, avec pour chacun d'entre eux, des spécificités. La Commission des animaux aquatiques a formulé des commentaires sur les propositions que la Commission des normes biologiques examinera lors de sa prochaine réunion, en février 2018.

#### **8. Projets de jumelage**

En septembre 2017, deux projets de jumelage étaient achevés (le jumelage du Canada et du Chili pour l'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon et le jumelage des États-Unis et de la Chine pour l'infection par le virus de la nécrose hématopoïétique infectieuse) et cinq projets étaient en cours de réalisation (jumelage de la Norvège et du Brésil pour l'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon ; jumelage du Japon et de l'Indonésie pour l'infection par l'herpèsvirus de la carpe Koï ; jumelage des États-Unis d'Amérique, de l'Indonésie et de l'Arabie saoudite pour des maladies affectant les crevettes ; jumelage du Danemark et de la République de Corée pour l'infection par le virus de la septicémie hémorragique virale).

### **H. AUTRES POINTS**

#### **9. Nouvelle procédure d'auto-déclaration concernant le statut indemne au regard d'une maladie**

La Commission des animaux aquatiques a été informée que l'OIE avait élaboré une procédure pour que lui soit soumis une auto-déclaration concernant le statut indemne au regard d'une maladie. Plus précisément, il s'agit d'une procédure d'auto-déclaration concernant le statut indemne d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment au regard des maladies affectant les animaux aquatiques et terrestres listées par l'OIE. Cette procédure décrit le processus de préparation, de tri et de publication des auto-déclarations concernant le statut indemne au regard de maladies autres que celles pour lesquelles l'OIE a mis en place une procédure spécifique pour la reconnaissance officielle du statut.

La Commission des animaux aquatiques a salué le travail accompli par l'OIE et rappelé que l'auto-déclaration concernant le statut indemne au regard d'une maladie était un sujet important pour les États membres car il n'existait aucun processus de reconnaissance du statut officiel pour les maladies des animaux aquatiques incluses dans la Liste de l'OIE. La Commission des animaux aquatiques a indiqué qu'elle formulerait des commentaires sur le projet de procédure en précisant que certaines questions techniques et spécifiques des maladies des animaux aquatiques devraient nécessairement être incluses dans ce projet. La Commission des animaux aquatiques continuera de suivre l'avancement de ce dossier important et a demandé à être tenue informée de ses évolutions.

### **I. PLAN DE TRAVAIL DE LA COMMISSION DES NORMES SANITAIRES POUR LES ANIMAUX AQUATIQUES POUR 2017 / 2018**

La Commission des animaux aquatiques a examiné et mis à jour son plan de travail au regard des commentaires des États membres, du Siège et du travail déjà accompli.

La version révisée du plan de travail de la Commission des animaux aquatiques est présentée aux États membres en annexe 31 à titre informatif.

### **J. ACTIVITÉS DES MEMBRES DE LA COMMISSION DES NORMES SANITAIRES POUR LES ANIMAUX AQUATIQUES 2017 / 2018**

La Commission des animaux aquatiques a souhaité informer les États membres des activités auxquelles avaient participé ses membres sous le titre de membre de la Commission des animaux aquatiques, depuis sa réunion de février 2017.

Les membres de la Commission des animaux aquatiques ont pris part aux activités suivantes :

Le docteur Ingo Ernst a organisé une téléconférence le 16 mai 2017 à laquelle ont participé les Délégués de l'OIE et les points focaux nationaux pour les animaux aquatiques de la région Asie - Pacifique. L'objectif de cette téléconférence était d'informer les États membres du contenu du rapport de réunion de la Commission des animaux aquatiques de février 2017, en particulier des annexes présentées aux États membres pour adoption lors de la Session générale en mai 2017.

Le docteur Ingo Ernst a représenté l'OIE lors de la 16<sup>e</sup> réunion du Comité consultatif de la Région Asie sur la santé des animaux aquatiques du Réseau des centres d'aquaculture en Asie - Pacifique (NACA), qui s'est tenue à Bali, en Indonésie, les 26 et 27 août 2017. Il a également participé à une réunion à laquelle assistaient des représentants d'organisations intergouvernementales, de gouvernements et d'organismes de recherche à Bali, le 29 août 2017. Il y a présenté les actions menées par l'OIE dans le cadre de la gestion de l'infection par le virus du tilapia lacustre.

Le docteur Peeler a participé au groupe de travail d'experts organisé par la Commission européenne, réuni afin de coordonner la réponse de l'UE au rapport de la réunion de la Commission des animaux aquatiques de février 2017. Le docteur Peeler a répondu aux questions posées, apporté des éclaircissements et discuté du futur plan de travail de la Commission des animaux aquatiques.

La docteure Joanne Constantine a représenté la Commission des animaux aquatiques lors de la réunion du groupe *ad hoc* sur la démonstration de l'absence de maladie, qui s'est tenue à Paris, en France, du 4 au 6 juillet 2017.

La docteure Alicia Gallardo Lagno a représenté la Commission des animaux aquatiques lors de la réunion du groupe *ad hoc* sur la sécurité biologique des établissements d'aquaculture, qui s'est tenue à Paris, en France, du 20 au 22 juin 2017.

Le professeur Maxwell Barson a représenté l'OIE lors de l'édition 2017 de la Conférence mondiale sur l'aquaculture, qui s'est tenue à Cape Town, en Afrique du Sud, du 26 au 30 juin 2017. Il a notamment présenté plusieurs publications lors de l'atelier dédié à la sécurité biologique, organisé en parallèle les 29 et 30 juin ainsi que lors de l'atelier sur la sécurité biologique en aquaculture qui a suivi la Conférence, les 1<sup>er</sup> et 2 juillet 2017.

### **K. PROCHAINE RÉUNION**

La prochaine réunion de la Commission des animaux aquatiques se tiendra du 14 au 21 février 2018.

---

/Annexes

**RAPPORT DE LA RÉUNION  
DE LA COMMISSION DES NORMES SANITAIRES  
POUR LES ANIMAUX AQUATIQUES  
DE L'OIE**

**Paris, 13 - 20 septembre 2017**

**Liste des participants**

**MEMBRES DE LA COMMISSION**

**Dr Ingo Ernst**

(Président)  
Director Aquatic Pest and Health Policy  
Animal Division  
Department of Agriculture and Water  
Resources  
GPO Box 858 Canberra ACT 2601  
AUSTRALIE  
Tél. : +61 2 6272 5615  
ingo.ernst@agriculture.gov.au

**Dr Maxwell Barson**

Senior lecturer  
(Parasitology & histopathology)  
University of Zimbabwe  
Department of Biological Sciences  
Box MP 167 Mt. Pleasant  
ZIMBABWE  
Tél. : +263 4 303 211  
barson001@yahoo.co.uk  
barson@science.uz.ac.zw

**Dr Joanne Constantine**

National Manager  
Animal Health Import/Export, Aquatics  
Section  
Canadian Food Inspection Avenue  
Floor 3 E, Room 116  
59 Camelot Drive  
Ottawa ON K1A 0Y9  
CANADA  
Tél. : + 1-613-773-7426  
joanne.constantine@inspection.gc.ca

**Dr Alicia Gallardo Lagno**

(Vice-President)  
Subdirectora nacional de acuicultura  
Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura  
Calle Victoria 2832  
CHILI  
Tél. : +56 32 281 9282  
agallardol@sernapesca.cl

**Dr Edmund Peeler**

(Vice-President)  
Group Manager Aquatic Pest &  
Pathogens  
CEFAS  
Barrack Road, Weymouth  
Dorset, DT4 8UB UK  
ROYAUME-UNI  
Tél. : +44 (0)1305 206746  
ed.peeler@cefaz.co.uk

**Prof. Mohamed Shariff Bin**

**Mohamed Din**  
Faculty of Veterinary Medicine  
Universiti Putra Malaysia  
43400 Serdang, Selangor  
MALAISIE  
Tél. : +6012 2839 845  
shariff@upm.edu.my  
pshariff@gmail.com

**AUTRES PARTICIPANTS**

**Dr Nick Moody**

CSIRO  
Australian Animal Health Laboratory  
Private Bag 24 (Ryrie Street)  
Geelong  
Victoria 3220  
AUSTRALIE  
nick.moody@csiro.au

**SIÈGE DE L'OIE**

**Dre Gillian Mylrea**

Adjointe  
Service des normes  
g.mylrea@oie.int

**Mme Sara Linnane**

Secrétaire de rédaction scientifique  
Service des sciences et des nouvelles  
technologies  
s.linnane@oie.int

**Dr Stian Johnsen**

Chargé de mission  
Service des normes  
s.johnsen@oie.int



**RAPPORT DE LA RÉUNION  
DE LA COMMISSION DES NORMES SANITAIRES  
POUR LES ANIMAUX AQUATIQUES  
DE L'OIE**

**Paris, 13 - 20 septembre 2017**

---

**Ordre du jour adopté**

- A. Réunion avec le Directeur général**
- B. Adoption de l'ordre du jour**
- C. Réunion avec le Président de la Commission des normes sanitaires pour les animaux terrestres de l'OIE**
- D. Réunion avec la Présidente de la Commission des normes biologiques de l'OIE**
- E. Code sanitaire pour les animaux aquatiques de l'OIE**
  - 1. Examen des commentaires des États membres concernant les textes leur ayant été adressés lors de la réunion de février 2017
    - 1.1. Commentaires d'ordre général
    - 1.2. Critères d'inclusion dans la liste des espèces sensibles à une infection par un agent pathogène spécifique (chapitre 1.5.)
    - 1.3. Critères d'évaluation de la sécurité sanitaire des marchandises issues d'animaux aquatiques
  - 2. Autres points
    - 2.1. Guide de l'utilisateur
    - 2.2. Glossaire
    - 2.3. Maladies listées par l'OIE (chapitre 1.3.)
    - 2.4. Procédures internes à l'OIE en rapport avec l'Accord sur l'Application des mesures phytosanitaires et sanitaires de l'Organisation mondiale du commerce (chapitre 5.3.)
    - 2.5. Maladies des amphibiens
      - 2.5.1. Nouveau projet de chapitre sur l'infection à *Batrachochytrium salamandrivorans* (chapitre 8.X.)
      - 2.5.2. Infection à *Batrachochytrium dendrobatidis* (chapitre 8.1.) et infection à ranavirus (chapitre 8.2.)
    - 2.6. Maladie de nécrose hépatopancréatique aiguë (chapitre 9.1.)
    - 2.7. Infection par le virus de la nécrose hypodermique et hématopoïétique infectieuse (chapitre 9.4.)
    - 2.8. Chapitres dédiés aux maladies des poissons
      - 2.8.1. Changements ayant un caractère horizontal
      - 2.8.2. Liste des espèces sensibles
    - 2.9. Article X.X.3.
    - 2.10. Modèles d'articles X.X.8., X.X.9., X.X.10. et X.X.11.
      - 2.10.1. Article X.X.8.
      - 2.10.2. Articles X.X.9. et X.X.10.
      - 2.10.3. Article X.X.11.

Annexe 2 (suite)

- 2.11. Fiche technique sur le virus du tilapia lacustre
- 2.12. Fiche technique sur *Batrachochytrium salamandrivorans*

3. Groupes *ad hoc*

- 3.1. Rapport du Groupe *ad hoc* sur la sensibilité des espèces de poissons aux maladies listées par l'OIE
- 3.2. Rapport du Groupe *ad hoc* sur la démonstration de l'absence de maladie
- 3.3. Rapport du Groupe *ad hoc* sur la sécurité biologique appliquée aux animaux aquatiques

**F. MANUEL DES TESTS DE DIAGNOSTIC POUR LES ANIMAUX AQUATIQUES**

- 4. Examen des commentaires des États membres concernant les textes leur ayant été adressés lors de la réunion de février 2017
  - 4.1. Infection par le virus du syndrome des points blancs (chapitre 2.2.8.)
- 5. Autres points
  - 5.1. Nouveau projet de chapitre sur l'infection à *Batrachochytrium salamandrivorans* (chapitre 2.1.X.)
  - 5.2. Chapitre 2.3.1. « Nécrose hypodermique et hématopoïétique infectieuse », chapitre 2.3.3. « Infection à *Gyrodactylus salaris* » et chapitre 2.3.5. « Infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon »
  - 5.3. Infection par le virus de la nécrose hypodermique et hématopoïétique infectieuse (chapitre 2.2.4.)
  - 5.4. Évaluation de la sensibilité de la crevette kuruma (*Penaeus japonicus*) à la maladie de nécrose hépatopancréatique aiguë (chapitre 2.2.1.)
  - 5.5. Infection par le virus de la myonécrose infectieuse (chapitre 2.2.5.)
  - 5.6. Infection par le virus du syndrome de Taura (chapitre 2.2.7.)
  - 5.7. Examen du modèle de chapitre de maladie destiné au *Manuel aquatique* proposé par le groupe *ad hoc*

**G. CENTRES DE RÉFÉRENCE DE L'OIE**

- 6. Candidatures au statut de Centre de référence de l'OIE ou changements d'expert
- 7. Retour de la Commission des normes biologiques concernant les réflexions sur les Centres collaborateurs
- 8. Projets de jumelage

**H. AUTRES POINTS**

- 9. Nouvelle procédure d'auto-déclaration concernant le statut indemne au regard d'une maladie

**I. PLAN DE TRAVAIL DE LA COMMISSION DES NORMES SANITAIRES POUR LES ANIMAUX AQUATIQUES POUR 2017/2018****J. ACTIVITÉS DES MEMBRES DE LA COMMISSION DES NORMES SANITAIRES POUR LES ANIMAUX AQUATIQUES 2017/2018****K. PROCHAINE RÉUNION**

## CHAPITRE 1.5.

## CRITÈRES D'INCLUSION DANS LA LISTE DES ESPÈCES SENSIBLES À UNE INFECTION PAR UN AGENT PATHOGÈNE SPÉCIFIQUE

## Article 1.5.1.

L'objectif du présent chapitre est de proposer des critères permettant de déterminer les espèces à même de figurer sur la liste des *espèces sensibles* de l'article 4.5.2. X.X.2. de chaque chapitre du *Code aquatique* traitant spécifiquement d'une *maladie*.

## Article 1.5.2.

**Champ d'application**

La sensibilité à une *infection* ne se traduit pas nécessairement par des manifestations cliniques. Toutefois, les espèces pouvant être porteuses de l'*agent pathogène* sans que ce dernier ne se multiplie ne doivent pas être considérées comme appartenant aux *espèces sensibles*.

La décision d'inclure une espèce en particulier dans la liste des *espèces sensibles* figurant dans les chapitres traitant des maladies spécifiques doit reposer sur l'établissement de preuves solides, conformément à l'article 1.5.3. Toutes les espèces d'un groupe taxonomique peuvent être incluses dans la liste des espèces sensibles sous réserve que certains critères soient satisfaits, conformément à l'article 1.5.9.

Cependant, le Le fait qu'une espèce soit potentiellement sensible constitue également une information importante, et, à ce titre, doivent doit figurer à la section 2.2.4. 2.2.2. « Species with incomplete evidence for susceptibility » du chapitre traitant de la *maladie spécifique concernée* du *Manuel aquatique*, conformément à l'article 1.5.8.

## Article 1.5.3.

**Approche**

Dans le présent chapitre est décrite une approche en trois étapes permettant d'évaluer la sensibilité d'une espèce à une *infection* par un *agent pathogène* donné. Elle repose sur l'utilisation de :

- 1) critères permettant de déterminer si la voie de transmission correspond aux voies de transmission naturelle de l'*infection* (tels que décrits à l'article 1.5.4.) ;
- 2) critères permettant de déterminer si l'*agent pathogène* a été identifié de façon adéquate (tels que décrits à l'article 1.5.5.) ;
- 3) critères permettant de déterminer si les preuves de la présence de l'*agent pathogène* suffisent pour conclure à l'*infection* (tels que décrits à l'article 1.5.6.).

## Article 1.5.4.

**Étape 1 : critères permettant de déterminer si la voie de transmission correspond aux voies de transmission naturelle de l'infection**

Les preuves de la transmission doivent être classées comme relevant :

- 1) de l'apparition naturelle, qui regroupe des situations où l'*infection* est apparue sans intervention expérimentale (par exemple, au sein de populations sauvages ou d'élevage), ou
- 2) de procédures expérimentales non invasives, qui consistent en une induction de l'*infection* par cohabitation avec des hôtes infectés, par immersion ou par ingestion, ou
- 3) de procédures expérimentales invasives, qui consistent en une induction de l'*infection* par injection, par exposition à des concentrations anormalement élevées d'*agents pathogènes* ou à des facteurs de stress (par exemple, température) auxquels l'hôte n'est pas soumis dans son environnement naturel ou dans son milieu d'élevage.

### Annexe 3 (suite)

Il est important de savoir si les conditions expérimentales (par exemple, voie d'administration et titre infectieux) reproduisent les conditions naturelles de transmission de la *maladie*. Il est également important de prendre en compte les facteurs environnementaux, car ces derniers peuvent modifier la résistance de l'hôte ou la voie de transmission de l'*agent pathogène*.

Article 1.5.5.

#### **Étape 2 : critères permettant de déterminer si l'agent pathogène a été identifié de façon adéquate**

L'*agent pathogène* doit être identifié et son identification confirmée, conformément aux méthodes décrites à la section 7 (~~critères de diagnostic corroboratifs~~) 4. (sur les méthodes de diagnostic) du chapitre traitant de la *maladie spécifique* concernée du *Manuel aquatique* ou à d'autres méthodes dont l'équivalence a été démontrée.

Article 1.5.6.

#### **Étape 3 : critères permettant de déterminer si les preuves de la présence de l'agent pathogène suffisent pour conclure à l'infection**

Une combinaison des critères suivants doit être utilisée pour pouvoir conclure à la présence de l'*infection* (voir article 1.5.7.) :

- A. l'*agent pathogène* se multiplie dans l'hôte, ou les stades de développement de l'*agent pathogène* sont présents dans ou sur l'hôte ;
- B. une forme viable de l'*agent pathogène* a été isolée chez les *espèces sensibles* proposées, ou son infectiosité a été démontrée lors de la transmission à des individus naïfs ;
- C. il y a des modifications cliniques ou pathologiques associées à l'*infection* ;
- D. la localisation spécifique de l'*agent pathogène* est constatée dans les tissus cibles attendus.

Le type de preuves permettant de démontrer la présence de l'*infection* dépendra de l'*agent pathogène* et des espèces hôtes potentielles considérés.

Article 1.5.7.

#### **Résultats de l'évaluation**

La décision d'inclure une espèce dans la liste des *espèces sensibles* doit être motivée par l'établissement de l'existence de preuves solides. Les preuves doivent concerner les aspects suivants :

- 1) la transmission s'est effectuée de façon naturelle ou a été réalisée dans des conditions expérimentales reproduisant les conditions naturelles de l'*infection*, conformément à l'article 1.5.4. ;

ET

- 2) l'identité de l'*agent pathogène* a été confirmée conformément à l'article 1.5.5. ;

ET

- 3) il existe des preuves de l'*infection* par l'*agent pathogène* chez les espèces hôtes suspectées d'être sensibles, conformément aux critères A à D figurant à l'article 1.5.6. Les preuves permettant de satisfaire au seul critère A sont suffisantes pour conclure à l'*infection*. En l'absence de preuves permettant de satisfaire au critère A, il est requis de satisfaire au moins à deux des trois critères B, C et D pour conclure à l'*infection*.

Article 1.5.8.

#### **Espèces pour lesquelles la sensibilité n'a pu être explicitement démontrée**

La décision d'inclure une espèce dans la liste des *espèces sensibles* figurant à l'article 1.5.2. de chaque chapitre traitant spécifiquement d'une *maladie* doit être motivée par l'établissement de l'existence de preuves solides.

Cependant, lorsque les preuves permettant de démontrer la sensibilité d'une espèce, selon l'approche décrite à l'article 1.5.3., sont insuffisantes incomplètes, parce que la transmission n'a pas été réalisée dans des conditions expérimentales reproduisant les conditions naturelles de l'infection, ou l'identité de l'agent pathogène n'a pas été confirmée, ou la présence de l'infection n'a été que partiellement prouvée, cette information doit mais que des informations sont disponibles de façon partielle, l'espèce figurera dans le paragraphe 2.2.2. « *Species with incomplete evidence for susceptibility* » le du chapitre traitant de la maladie spécifique concernée du *Manuel aquatique*.

Si les preuves permettant de démontrer la sensibilité d'une espèce sont insuffisantes incomplètes, l'Autorité compétente doit évaluer, préalablement à la mise en place de mesures sanitaires à l'import pour cette espèce, le risque de propagation de l'agent pathogène concerné, conformément aux recommandations figurant au chapitre 2.1.

#### Article 1.5.9.

#### Agents pathogènes affectant un nombre important d'hôtes Inclusion d'un échelon taxonomique équivalent ou supérieur à celui de l'espèce du genre dans la liste des espèces sensibles

Dans le cas des agents pathogènes affectant un nombre important d'hôtes, il peut être préférable, aux fins de l'évaluation à conduire, d'opter le résultat de l'évaluation de la sensibilité peut consister en pour un classement dans la liste d'un échelon taxonomique supérieur à celui de l'espèce (le genre ou la famille par exemple). Pour qu'un agent pathogène soit considéré comme ayant un nombre important d'hôtes et que l'inclusion d'un échelon taxonomique équivalent ou supérieur à celui du genre dans la liste des espèces sensibles soit possible, au moins une espèce par famille, pour trois familles ou plus, doit y être sensible. Un agent pathogène sera considéré comme affectant un nombre important d'hôtes dès lors qu'il aura été démontré quedes représentants de trois familles au moins y sont sensibles.

Dans le cas des agents pathogènes affectant un nombre important d'hôtes, 4) une décision de conclure à la sensibilité d'espèces d'opter pour un échelon taxonomique équivalent ou supérieur à celui de l'espèce du genre doit être prise seulement lorsque :

A. il a été démontré qu'au moins une espèce par famille, pour trois familles ou plus était sensible;

ET

ABA, il a été démontré que plus d'une espèce au sein du groupe de l'échelon taxonomique était sensible, au moyen des critères énoncés ci-dessus ; , conformément à l'approche décrite dans l'article 1.5.3.;

ET

B/CB, il a été démontré qu'aucune espèce appartenant au groupe à l'échelon taxonomique n'était résistante à l'infection ;

ET

C. Il est nécessaire d'opter pour le plus petit échelon taxonomique le plus petit possible qu'il est possible de déterminer au moyen de cet élément de preuve, aux fins de l'évaluation des éléments de preuve décrits aux points A et B.;

2) Il est démontré qu'une espèce est résistante à l'infection lorsque Les preuves qu'une espèce est résistante à l'infection peuvent inclure :

A. l'absence de l'infection chez les espèces exposées l'infection est absente chez une espèce exposée à l'agent pathogène dans les conditions naturelles reconnues pour favoriser sa présence ainsi que l'apparition de la maladie chez les espèces sensibles ;

B. l'absence d'infection l'infection est absente chez les espèces exposées à l'agent pathogène lors d'une études de transmission en milieu contrôlé, au moyen de procédures expérimentales.



## CHAPITRE 5.4.

## CRITÈRES D'ÉVALUATION DE LA SÉCURITÉ SANITAIRE DES MARCHANDISES PRODUITS ISSUES D'ANIMAUX AQUATIQUES

Exceptionnellement, dans le cadre du présent chapitre, les termes « sécurité sanitaire » sont également appliqués à la santé des animaux, au regard des *maladies listées*.

Article 5.4.1.

**Critères d'évaluation de la sécurité sanitaire des animaux aquatiques et des produits issus d'animaux aquatiques importés (ou en transit) indépendamment de l'usage auquel ils sont destinés à partir d'un du statut sanitaire du pays, d'une de la zone ou d'un du compartiment d'exportation au regard de la maladie X non déclaré indemne de maladie X**

~~Dans tous les chapitres dédiés aux maladies, L'alinéa 1 de l'article X.X.3. figurant dans tous les chapitres dédiés aux maladies (titres 8 à 11) précise les animaux aquatiques et les produits issus d'animaux aquatiques qui peuvent faire l'objet d'échanges commerciaux être importés (ou en transit) indépendamment de l'usage auquel ils sont destinés et du statut sanitaire à partir d'un du pays, d'une de la zone ou d'un du compartiment non déclaré indemne d'exportation au regard de la maladie X. Les critères d'inclusion des animaux aquatiques et des produits issus d'animaux aquatiques énumérés à l'alinéa 1 de l'article X.X.3. reposent sur l'absence de l'agent de la maladie chez les animaux aquatiques et dans les produits issus d'animaux aquatiques commercialisés ou l'inactivation de l'agent pathogène par un traitement ou une transformation.~~

L'évaluation de la sécurité sanitaire ~~des animaux aquatiques et des~~ du produits issus d'un animaux aquatiques, selon des critères relatifs au traitement ou à la transformation, peut seulement être réalisée quand les types de traitement ou de transformation sont clairement définis. Il n'est pas forcément nécessaire de fournir des détails concernant l'ensemble du traitement ou de la transformation. Néanmoins, les étapes considérées comme critiques dans la procédure d'inactivation de l'agent pathogène concerné doivent être détaillées.

Tout traitement ou toute transformation est supposé (i) s'effectuer selon des protocoles normalisés incluant des étapes considérées comme critiques dans l'inactivation de l'agent pathogène concerné et (ii) être réalisé selon les bonnes pratiques de fabrication ; (iii) enfin toute autre étape de ce traitement ou de cette transformation, ainsi que la manipulation ultérieure du produits issus d'un animaux aquatiques commercialisés, ne doit pas en compromettre la sécurité sanitaire.

### Critères

Pour qu'il puisse faire l'objet d'échanges internationaux en toute sécurité selon les dispositions prévues à l'article X.X.3., ~~un animal aquatique ou~~ un produit issu d'un animal aquatique doit se conformer aux conditions énoncées ci-après :

- 1) Absence d'agent pathogène dans ~~l'animal aquatique ou~~ le produit issu d'un animal aquatique commercialisé :
- a) il est fortement probable que l'agent de la maladie ne soit pas présent ~~dans les tissus de l'animal aquatique ou~~ dans les matières premières constituant le produit issu d'un animal aquatique ;

ET

- b) l'eau (y compris sous forme de glace) utilisée pour transformer ou transporter ~~l'animal aquatique ou~~ le produit issu d'un animal aquatique n'est pas contaminée par l'agent pathogène et le processus de transformation ultérieure prévient également la contamination croisée ~~de l'animal aquatique ou~~ du produit issu d'un animal aquatique à commercialiser.

OU

- 2) Dans l'éventualité où l'agent pathogène est présent ou contamine ~~les tissus de l'animal aquatique ou~~ les matières premières du produit issu d'un animal aquatique, le traitement ou ~~le procédé~~ **les procédés** de transformation ~~de l'animal aquatique ou~~ aboutissant au produit issu d'un animal aquatique final commercialisable doit permettre d'inactiver cet agent pathogène. **Il peut s'agir d'un :**

- a) procédé physique (tel que la variation de température, le séchage et le fumage) ;

ET / OU

- b) procédé chimique (tel que l'iode, le pH, le sel et la fumée) ;

ET / OU

- c) procédé biologique (tel que la fermentation).

## Annexe 4 (suite)

## Article 5.4.2.

**Critères d'évaluation de la sécurité sanitaire ~~des animaux aquatiques ou~~ des produits issus d'animaux aquatiques importés (ou en transit), destinés à la vente au détail pour la consommation humaine, ~~à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne de maladie X indépendamment du statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de la maladie X~~**

Dans tous les chapitres dédiés aux ~~maladies~~, L'alinéa 1 de l'article X.X.12. (pour les chapitres dédiés traitant des maladies spécifiques aux maladies des amphibiens et des poissons) ou de l'article X.X.11. (pour les chapitres dédiés traitant des maladies spécifiques aux maladies des crustacés, des poissons et des mollusques) précise ~~les animaux aquatiques et leurs~~ les produits issus d'animaux aquatiques destinés à la vente au détail pour la consommation humaine. Les critères d'inclusion ~~des animaux aquatiques et des produits issus d'animaux aquatiques~~ énumérés à l'alinéa 1 de l'article X.X.12. (pour les chapitres dédiés traitant des maladies spécifiques aux maladies des amphibiens et des poissons) ou de l'article X.X.11. (pour les chapitres dédiés traitant des maladies spécifiques aux maladies des crustacés, des poissons et des mollusques) sont les formes et présentation du produit, le volume de déchets générés attendus par le consommateur et la présence probable d'*agents pathogènes* viables présents dans ces déchets.

Aux fins de l'application des présents critères, la vente au détail signifie que le consommateur achète ou s'approvisionne directement en ~~animaux aquatiques ou~~ en *produits issus d'animaux aquatiques* destinés à la consommation humaine. La filière de la vente au détail peut également inclure la distribution en gros des produits à condition qu'ils ne subissent pas de transformations supplémentaires par le grossiste ou le détaillant, c'est-à-dire qu'ils ne soient pas éviscérés, nettoyés, filetés, congelés, décongelés, cuits, déconditionnés, conditionnés et reconditionnés.

L'hypothèse de départ est (i) que ~~les animaux aquatiques et~~ les *produits issus d'animaux aquatiques* sont destinés à la consommation humaine uniquement, (ii) qu'il n'est pas toujours possible de s'assurer que les déchets générés sont manipulés de manière à limiter le risque d'introduction de l'*agent* de la *maladie*, l'importance du risque sanitaire encouru dépendant de la gestion des déchets pratiquée dans les pays ou territoires de chacun des États membres, (iii) que tout traitement ou toute transformation préalablement à l'importation est supposé être réalisé selon les bonnes pratiques de fabrication, et (iv) que toute autre étape de ce traitement ou de cette transformation, ainsi que la manipulation ultérieure ~~des animaux aquatiques ou des~~ du produits issus d'un animal ~~ax~~ aquatiques préalablement à leur importation, ne doit pas compromettre la sécurité sanitaire.

**Critères**

Afin de garantir la sécurité sanitaire des produits issus d'animaux aquatiques destinés aux échanges internationaux des Pour qu'ils puissent faire l'objet d'échanges internationaux selon les dispositions prévues à l'alinéa 1 de l'article X.X.12. (pour les chapitres dédiés traitant des maladies spécifiques aux maladies des amphibiens et des poissons) ou de l'article X.X.11. (pour les chapitres dédiés traitant des maladies spécifiques aux maladies des crustacés, des poissons et des mollusques), ~~les animaux aquatiques ou~~ les produits issus d'animaux aquatiques, ceux-ci doivent se conformer aux conditions énoncées ci-après :

- 1) ~~les animaux aquatiques ou~~ les *produits issus d'animaux aquatiques*, destinés à la consommation humaine, sont préparés et emballés pour la vente au détail, ET

SOIT

- 2) seule une faible quantité de déchets bruts est générée par le consommateur ;

SOIT

- 3) l'*agent pathogène* n'est pas présent à l'état naturel dans les déchets générés par le consommateur.

# GUIDE DE L'UTILISATEUR

## A. Introduction

- 1) Le *Code sanitaire pour les animaux aquatiques* de l'OIE (désigné ci-après le *Code aquatique*) établit des normes visant à améliorer la santé des animaux aquatiques de par le monde. Il renferme également des textes de caractère normatif portant sur le bien-être des poissons d'élevage et sur l'utilisation des agents antimicrobiens chez les animaux aquatiques. Le présent guide a pour objet d'aider les Autorités compétentes des États membres de l'OIE à utiliser le *Code aquatique*.
  - 2) Les Autorités compétentes doivent utiliser les normes figurant dans le *Code aquatique* pour élaborer des mesures permettant la détection précoce, la déclaration dans le pays, la notification et le contrôle des agents pathogènes affectant les animaux aquatiques (amphibiens, crustacés, mollusques et poissons) et empêchant leur dissémination à la faveur des échanges internationaux d'animaux aquatiques et de produits issus d'animaux aquatiques, tout en évitant l'instauration d'entraves sanitaires au commerce non justifiées.
  - 3) Les normes de l'OIE s'appuient sur les connaissances scientifiques et techniques les plus récentes. Ces normes, lorsqu'elles sont correctement appliquées, permettent de préserver la santé des animaux aquatiques au cours de la phase de production et pendant les échanges d'animaux aquatiques et de produits issus d'animaux aquatiques et d'assurer le bien-être des poissons d'élevage.
  - 4) L'absence de chapitres, d'articles ou de recommandations afférents à certains agents pathogènes ou à certaines marchandises ne signifie pas pour autant que les Autorités compétentes ne peuvent pas appliquer des mesures sanitaires appropriées à condition qu'elles soient fondées sur des analyses de risques menées conformément au *Code aquatique*.
- 4bis) L'année où le texte a été adopté pour la première fois et celle de sa dernière révision sont mentionnées à la fin de chaque chapitre.
- 5) Le texte du *Code aquatique* est disponible dans son intégralité sur le site Internet de l'OIE, et les chapitres peuvent être téléchargés de façon individuelle à partir de l'adresse suivante : <http://www.oie.int>.

## B.. Contenu du *Code aquatique*

- 1) Pour éviter toute confusion, les mots-clés et expressions-clés utilisés dans plus d'un chapitre du *Code aquatique* sont définis dans le glossaire, notamment lorsque les définitions proposées dans les dictionnaires usuels ne seraient pas jugées adéquates. Le lecteur devra veiller à utiliser ces mots et ces expressions dans une acception conforme à la définition qu'en donne le glossaire lors de la lecture et de l'utilisation du *Code aquatique*. Les termes définis apparaissent en italique. Dans la version en ligne du *Code aquatique*, un lien hypertexte renvoie à la définition correspondante.
- 2) La mention « (à l'étude ) » peut apparaître dans quelques rares cas et concerner un article ou une portion d'article. Cela signifie que le texte n'a pas été adopté par l'Assemblée mondiale des Délégués auprès de l'OIE et qu'il ne fait donc pas partie intégrante du *Code aquatique*.
- 3) Les normes figurant dans les chapitres du titre 1 visent à la mise en œuvre de mesures ayant trait à la surveillance et à la notification des agents pathogènes. Ce titre comprend, entre autres, les critères d'inclusion sur la Liste des maladies des animaux aquatiques, les maladies listées par l'OIE, les procédures de notification à l'OIE et les critères d'inclusion dans la liste des espèces sensibles à une infection par un agent pathogène spécifique.
- 4) Les normes figurant dans les chapitres du titre 2 sont conçues afin de guider le pays importateur lors de la conduite d'une analyse des risques à l'importation en l'absence de normes de l'OIE. Le pays importateur peut également utiliser ces normes pour justifier la mise en place de toute mesures à l'importation plus contraignantes que les normes existantes de l'OIE.
- 5) Les normes figurant dans les chapitres du titre 3 ont pour objet la mise en place, le maintien et l'évaluation des Services chargés de la santé des animaux aquatiques, y compris les questions afférentes à la communication. Ces normes visent à aider les Autorités compétentes des États membres à atteindre leurs objectifs d'amélioration de la santé des animaux aquatiques et du bien-être des poissons d'élevage, ainsi qu'à instaurer et préserver la confiance dans leurs certificats sanitaires internationaux relatifs aux animaux aquatiques.
- 6) Les normes figurant dans les chapitres du titre 4 sont conçues en vue de la mise en place de mesures de prévention et de contrôle des agents pathogènes couvrant le zonage, la compartimentation, la désinfection, l'élaboration des plans d'urgence, l'élimination des déchets d'animaux aquatiques et la maîtrise des dangers dans les aliments destinés aux animaux aquatiques.

## Annexe 5 (suite)

- 7) Les normes figurant dans les chapitres du titre 5 sont conçues en vue de la mise en place de mesures sanitaires générales s'appliquant au commerce. Elles couvrent plus particulièrement la certification et les mesures applicables par les pays exportateurs, les pays de transit et les pays importateurs. Différents modèles de certificats sanitaires internationaux applicables aux animaux aquatiques sont fournis afin de faciliter la mise en place d'une documentation harmonisée dans le cadre des échanges internationaux.
- 8) Les normes figurant dans les chapitres du titre 6 sont conçues en vue de garantir l'usage responsable et prudent des agents antimicrobiens chez les animaux aquatiques.
- 9) Les normes figurant dans les chapitres du titre 7 sont conçues en vue de la mise en œuvre de mesures relatives au bien-être des poissons d'élevage et couvrent les principes généraux du bien-être des poissons d'élevage, incluant le transport, l'étourdissement et l'abattage à des fins de consommation humaine, ainsi que la mise à mort à des fins de contrôle sanitaire.
- 10) Les normes figurant dans chacun des chapitres des titres 8 à 11 sont conçues pour éviter l'introduction, dans le pays importateur, des agents pathogènes inclus dans la liste des maladies de l'OIE. Chaque chapitre traitant d'une maladie comporte une liste des espèces reconnues à l'heure actuelle sensibles. Les normes prennent en compte la nature des marchandises commercialisées, le statut sanitaire au regard des animaux aquatiques du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation ainsi que les mesures de réduction des risques applicables à chaque marchandise.

Ces normes partent du postulat que l'agent n'est pas présent dans le pays importateur ou qu'il y est soumis à un programme de contrôle ou d'éradication. Les titres 8 à 11 portent chacun sur les espèces hôtes, respectivement les amphibiens, crustacés, mollusques et poissons.

### **C. Thèmes spécifiques**

#### 1) Notification

Le chapitre 1.1. décrit les obligations incombant aux États membres en application des Statuts organiques de l'OIE. Les maladies listées sont soumises à une déclaration obligatoire, comme prescrit au chapitre 1.1. Les États membres sont également encouragés à tenir l'OIE informé de tout autre événement relatif à la santé des animaux aquatiques et significatif d'un point de vue épidémiologique, y compris l'apparition de maladies émergentes.

Le chapitre 1.2. présente les critères d'inclusion dans la liste de l'OIE d'une maladie.

Le chapitre 1.3. énumère les maladies qui sont listées par l'OIE. Les maladies sont divisées en quatre catégories, chacune correspondant aux espèces hôtes que sont respectivement les amphibiens, les crustacés, les mollusques et les poissons.

#### 2bis) Epreuves de diagnostic

Les méthodes de diagnostic des maladies listées sont décrites dans le *Manuel des tests de diagnostic pour les animaux aquatiques* de l'OIE (ci-après désigné par « le *Manuel aquatique* »). Les experts responsables des unités de diagnostic de maladies doivent avoir une bonne connaissance des méthodes figurant dans le *Manuel aquatique*.

#### 2ter) Absence d'une maladie

L'article 1.4.6. contient les principes généraux régissant la déclaration d'un pays ou d'une zone indemne d'une infection par un agent pathogène. Cet article s'applique lorsqu'il n'y a pas de chapitre spécifique de la maladie concernée.

#### 2) Différenciation des agents pathogènes

Pour certains agents pathogènes un ou plusieurs variants sont identifiés. L'existence de variants hautement pathogènes et la nécessité de les différencier des variants plus faiblement pathogènes sont reconnues dans le *Code aquatique*. Lorsque les souches d'agents pathogènes sont stables, possèdent des caractéristiques qui peuvent être utilisées à des fins de diagnostic et présentent différents niveaux de pathogénicité, différentes normes conférant une protection doivent être établies et appliquées en fonction du risque constitué par les différentes souches. L'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon est la première maladie listée pour laquelle des options de gestion de risque ont été proposées en fonction de la différenciation des souches.

#### 3) Détermination de la sensibilité des espèces aux maladies listées

Le *Code aquatique* propose l'utilisation de critères permettant d'évaluer la sensibilité des espèces hôtes aux agents pathogènes des maladies répertoriées dans le *Code aquatique*.

Le chapitre 1.5. répertorie les critères permettant de déterminer si des espèces doivent ou non être incluses dans la liste des hôtes sensibles figurant dans le paragraphe X.X.2. de chacun des chapitres spécifiques des maladies du Code aquatique. Cette démarche est particulièrement importante dans le contexte de l'aquaculture, où le nombre d'espèces d'élevage est important et ne cesse de croître.

Les travaux relatifs à l'évaluation de la sensibilité des espèces sont actuellement en cours ; dans certains chapitres, la constitution de la liste d'espèces sensibles au moyen des critères figurant au chapitre 1.5. reste encore à réaliser.

4) Exigences requises en matière d'échanges commerciaux

Les mesures zoosanitaires à exiger dans le cadre des échanges internationaux d'animaux aquatiques doivent reposer sur les normes de l'OIE. Il est loisible à un État membre d'autoriser l'importation sur son territoire d'animaux aquatiques ou de produits issus d'animaux aquatiques dans des conditions différentes de celles recommandées par le Code aquatique. Afin de justifier, sur le plan scientifique, la mise en place de mesures plus contraignantes **que les normes existantes de l'OIE**, le pays importateur doit procéder à une analyse des risques conformément aux normes de l'OIE telles que définies au chapitre 2.1. Les Membres de l'Organisation mondiale du commerce doivent se référer aux dispositions de l'Accord sur l'application des mesures sanitaires et phytosanitaires.

Les chapitres 5.1. à 5.3. traitent des obligations et des responsabilités éthiques des pays importateurs et exportateurs dans les échanges internationaux. Les Autorités compétentes ainsi que tous les vétérinaires et agents certificateurs directement concernés par ces échanges doivent prendre connaissance de ces chapitres. Le chapitre 5.3. décrit également la procédure de médiation informelle de l'OIE pour le règlement des différends.

Les chapitres du Code aquatique traitent spécifiquement de maladies comportent un article énumérant les marchandises qui sont considérées comme dénuées de risques pour le commerce sans imposer de mesures sanitaires y afférentes, indépendamment du statut zoosanitaire du pays ou de la zone d'exportation au regard de l'agent pathogène considéré. En cas de présence de cet article, les pays importateurs ne doivent imposer aucune condition aux marchandises listées au motif de la présence de l'agent pathogène considéré.

5) Commerce des marchandises issues d'animaux aquatiques - Sécurité sanitaire des produits issus d'animaux aquatiques destinés aux échanges commerciaux

Le chapitre 5.4. répertorie les critères (articles 5.4.1. et 5.4.2.) permettant d'évaluer la sécurité sanitaire des marchandises issues produits issus d'animaux aquatiques considérés comme dénués de risque pour les échanges commerciaux, indépendamment du statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard d'une maladie donnée, et sans qu'aucune mesure de réduction du risque spécifiquement dirigée contre la maladie ne soit nécessaire.

Les produits issus d'animaux aquatiques ayant été l'objet d'une évaluation et dont il a été constaté qu'ils satisfaisaient aux critères sont énumérés dans chaque chapitre traitant d'une maladie spécifique.

L'article X.X.3. énumère les produits issus d'animaux aquatiques pouvant faire l'objet d'échanges commerciaux pour quelque usage que ce soit et indépendamment du statut sanitaire du pays, de la zone et du compartiment d'exportation au regard de la maladie considérée. L'inclusion d'un produit issu d'animaux aquatiques dans l'article X.X.3. repose sur l'établissement de l'existence de preuves permettant de démontrer l'absence de l'agent pathogène considéré dans ce produit ou son inactivation par des moyens physiques, chimiques ou biologiques.

Au point 1 de l'article X.X.3. figurant dans l'ensemble des chapitres sur les maladies sont énumérées les marchandises issues d'animaux aquatiques pouvant faire l'objet d'échanges commerciaux pour quelque usage que ce soit à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne de la maladie X, sur la base d'évaluations réalisées à l'aide des critères énoncés à l'article 5.4.1. Les critères d'inclusion des marchandises issues d'animaux aquatiques visées dans le point 1 de l'article X.X.3. prévoient l'absence d'agent pathogène ou l'inactivation de l'agent pathogène par un traitement ou une transformation.

L'article X.X.11. (des chapitres sur les maladies des poissons, mollusques et crustacés), l'article X.X.12. (des chapitres sur les maladies des amphibiens) et l'article 10.4.5. (du chapitre sur l'anémie infectieuse du saumon) listent les produits issus d'animaux aquatiques destinés à la vente au détail pour la consommation humaine et qui peuvent être importés indépendamment du statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de la maladie en question. L'évaluation des produits issus d'animaux aquatiques en vue de leur inclusion dans les articles susmentionnés tient compte de la forme et la présentation du produit, du volume attendu de déchets tissulaires générés par le consommateur et de la présence probable d'agents pathogènes viables dans ces déchets.

Au point 1 de l'article X.X.12. (pour le chapitre 10.4., l'article concerné est le 10.4.15.) figurant dans l'ensemble des chapitres sur les maladies sont énumérées les marchandises issues d'animaux aquatiques qui sont destinées à la vente au détail pour la consommation humaine à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne de la maladie considérée, sur la base des évaluations réalisées à l'aide des critères énoncés à l'article 5.4.2. Les critères d'inclusion des marchandises issues d'animaux aquatiques visées au point 1 de l'article X.X.12. tiennent compte de la forme et de la présentation du produit, du volume attendu de déchets de tissus générés par le consommateur ainsi que de la présence probable d'agent pathogène viable dans ces déchets.

Annexe 5 (suite)6) Certificats sanitaires internationaux pour les animaux aquatiques

Un certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques est un document officiel que l'Autorité compétente du pays exportateur délivre conformément aux chapitres 5.1. et 5.2. Il énonce les exigences auxquelles répondent les marchandises exportées en matière de santé des animaux aquatiques. C'est de la qualité des Services chargés de la santé des animaux aquatiques du pays exportateur, notamment des principes éthiques régissant l'établissement des certificats sanitaires et de la capacité des Services chargés de la santé des animaux aquatiques à satisfaire aux obligations en matière de notification, que dépend l'assurance qu'auront les partenaires commerciaux de la sécurité sanitaire des marchandises issues d'animaux aquatiques.

Les certificats sanitaires internationaux servent à conforter le commerce international et offrent des garanties au pays importateur sur le statut sanitaire des marchandises issues d'animaux aquatiques dont l'importation est envisagée. ~~Les mesures prescrites doivent être fixées en tenant compte du statut zoosanitaire des pays exportateurs et importateurs et en se fondant sur les normes énoncées dans le Code aquatique.~~

Lors de la rédaction d'un certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques, les étapes à compléter sont les suivantes :

- a) le pays importateur doit identifier les maladies dont il est justifié qu'il se protège en prenant en compte son propre statut ; il ne doit imposer aucune mesure liée à des maladies qui sont présentes sur son territoire et qui ne font pas l'objet de programmes officiels de contrôle ;
- b) en ce qui concerne les marchandises susceptibles de transmettre ces maladies à la faveur des échanges internationaux, le pays importateur doit appliquer les articles pertinents énoncés dans les chapitres traitant spécifiquement de maladies et ce, en fonction du statut zoosanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'~~exportation~~ origine; ce statut doit être établi conformément à l'article 1.4.6., à moins que les articles figurant dans le chapitre dédié à la maladie considérée en disposent autrement ;
- c) dans les modèles de certificats sanitaires internationaux applicables aux animaux aquatiques qu'il met au point, le pays importateur doit veiller à utiliser les mots et les expressions dans une acception conforme à la définition qu'en donne le glossaire, ~~comme il est indiqué à l'article 5.2.3., il~~ est essentiel que les certificats sanitaires internationaux applicables aux animaux aquatiques soient présentés de la façon la plus simple possible et que leur rédaction exprime très clairement les exigences du pays importateur pour éviter tout malentendu ;
- d) le chapitre 5.10. propose aux États membres, comme orientation supplémentaire, des modèles de certificat qui doivent leur servir de canevas lors de l'élaboration de leurs propres certificats.

## 7) Notice explicative pour les importateurs et les exportateurs

Pour éviter toute incompréhension de la part des importateurs et des exportateurs sur les exigences requises, il est recommandé aux Autorités compétentes de préparer une notice explicative leur indiquant toutes les conditions à respecter lors d'une importation, y compris les dispositions applicables avant et après l'exportation, ainsi que lors du transport et du débarquement, les obligations légales et les démarches à effectuer. La notice doit aussi donner le détail des garanties sanitaires à faire figurer dans les certificats qui accompagnent les marchandises jusqu'au lieu de destination. L'attention des exportateurs doit également être appelée sur les règles de l'Association internationale du transport aérien applicables au transport aérien d'animaux aquatiques et de produits issus d'animaux aquatiques.

## GLOSSAIRE

### STATUT ZOOSANITAIRE

désigne la situation d'un pays, d'une *zone* ou d'un *compartiment* à l'égard d'une *maladie* affectant les *animaux aquatiques*, selon les critères énoncés au chapitre dans le chapitre spécifique de la maladie considérée ou au chapitre 1.4. du *Code aquatique* correspondant à cette *maladie*.

### SECURITE BIOLOGIQUE

désigne un ensemble de mesures de gestion et d'agencements physiques ~~élaborées afin de réduire~~ destinés à réduire le risque d'introduction, de propagation et de dissémination d'agents pathogènes au sein et par une population d'animaux aquatiques les *risques* associés à l'introduction, l'établissement et la propagation d'*agents pathogènes* en direction, en provenance ou au sein ~~au sein et par d'une population d'animaux aquatiques.~~

### PLAN DE SECURITE BIOLOGIQUE

désigne un plan document dans lequel sont identifiées les voies ~~les plus probables~~ potentielles d'introduction de *maladies*, de propagation et de dissémination des agents pathogènes dans une *zone*, ~~ou un compartiment ou un établissement d'aquaculture~~; et de leur propagation et où y sont consignées, par écrit, les mesures ~~qui sont appliquées, ou le seront, pour atténuer~~ réduire les *risques identifiés* de leur introduction et de leur propagation en ~~prenant en considération conformément aux recommandations~~ les recommandations figurant dans le *Code aquatique*. Dans ce plan doit également être précisée la manière dont seront jaugées lesdites mesures tant en termes d'application qu'en termes de finalité en vue de s'assurer que les *risques* font l'objet d'une réévaluation périodique et que les mesures sont ajustées en conséquence.

### AUTO-DECLARATION D'ABSENCE **DE MALADIE**

désigne la déclaration déposée par l'*Autorité compétente* d'un Etat membre, attestant l'absence d'une *maladie listée par l'OIE* sur l'ensemble de son *territoire* ou bien dans une *zone* ou un *compartiment* situé à l'intérieur de ce pays, conformément aux dispositions du *Code aquatique* et du *Manuel aquatique*. [Remarque : l'Etat membre est encouragé à informer l'OIE du statut qu'il revendique et l'OIE peut publier cette revendication mais cela ne signifie pas pour autant que l'OIE reconnaisse le statut revendiqué.]

### ESPECES SENSIBLES

désigne les *espèces d'animaux aquatiques* dont la sensibilité à une infection par un *agent pathogène* spécifique a été démontrée, conformément aux dispositions du chapitre 1.5 une *espèce d'animal aquatique* chez laquelle la présence d'une *infection* a été démontrée par la survenue de cas spontanés ou par une exposition expérimentale à un *agent pathogène* simulant la voie naturelle de transmission.



## CHAPITRE 1.3.

## MALADIES LISTÉES PAR L'OIE

**Préambule:** les Les maladies figurant énumérées ci-après dans le présent chapitre ont fait l'objet d'une évaluation conforme aux dispositions du chapitre 1.2. et constituent la liste des maladies des animaux aquatiques de l'OIE sont listées par l'OIE en appliquant les critères d'inclusion d'une maladie affectant les animaux aquatiques qui sont énoncés à l'article 1.2.2.

En cas d'adoption, par l'Assemblée mondiale des Délégués, d'un amendement ayant pour objet d'actualiser la présente liste de maladies affectant les *animaux aquatiques*, la nouvelle liste entrera en vigueur le 1<sup>er</sup> janvier de l'année suivante.

## Article 1.3.1.

Sont listées par l'OIE, dans la catégorie des maladies des poissons, les maladies suivantes :

- Infection par l'herpèsvirus ~~Herpèsvirose~~ de la carpe koï
- Infection à *Aphanomyces invadans* (syndrome ulcératif épizootique)
- Infection à *Gyrodactylus salaris*
- Infection par des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon ou par des variants RHP0 de ce virus
- Infection par l'alphavirus des salmonidés
- Infection par l'iridovirus ~~Iridovirose~~ de la daurade japonaise
- Infection par le virus de la nécrose ~~Nécrose~~ hématopoïétique épizootique
- Infection par le virus de la nécrose ~~Nécrose~~ hématopoïétique infectieuse
- Infection par le virus de la septicémie ~~Septicémie~~ hémorragique virale
- Infection par le virus de la virémie ~~Virémie~~ printanière de la carpe.

## Article 1.3.2.

Sont listées par l'OIE, dans la catégorie des maladies des mollusques, les maladies suivantes :

- Infection à *Bonamia ostreae*
- Infection à *Bonamia exitiosa*
- Infection à *Marteilia refringens*
- Infection à *Perkinsus marinus*
- Infection à *Perkinsus olseni*
- Infection à *Xenohalictis californiensis*
- Infection par l'herpèsvirus de l'ormeau.

Annexe 7 (suite)

## Article 1.3.3.

Sont listées par l'OIE, dans la catégorie des maladies des crustacés, les maladies suivantes :

- Infection à *Aphanomyces astaci* (peste de l'écrevisse)
- Infection à *Hepatobacter penaei* (hépatopancréatite nécrosante)
- Infection par le génotype 1 du virus de la tête jaune
- Infection par le nodavirus de *Macrobrachium rosenbergii* (maladie des queues blanches)
- Infection par le virus de la myonécrose infectieuse
- Infection par le virus de la nécrose hypodermique et hématopoïétique infectieuse
- Infection par le virus du syndrome de Taura
- Infection par le virus du syndrome des points blancs
- Maladie de nécrose hépatopancréatique aiguë.

## Article 1.3.4.

Sont listées par l'OIE, dans la catégorie des maladies des amphibiens, les maladies suivantes :

- Infection à *Batrachochytrium dendrobatidis*
  - Infection à *Batrachochytrium salamandrivorans*
  - Infection par les espèces du genre *Ranavirus*.
-

## CHAPITRE 5.3.

## PROCÉDURES INTERNES À L'OIE EN RAPPORT AVEC L'ACCORD SUR L'APPLICATION DES MESURES PHYTOSANITAIRES ET SANITAIRES DE L'ORGANISATION MONDIALE DU COMMERCE

## Article 5.3.1.

**Accord sur l'application des mesures sanitaires et phytosanitaires : rôle et responsabilité de l'OIE**

L'Accord sur l'application des mesures sanitaires et phytosanitaires (ci-après désigné par « l'Accord SPS ») encourage spécifiquement les Membres de l'Organisation mondiale du commerce (OMC) à fonder leurs *mesures sanitaires* sur des normes, lignes directrices et recommandations internationales, chaque fois qu'elles existent. Les Membres peuvent décider de mettre en œuvre des mesures sanitaires plus contraignantes que celles figurant dans les normes internationales si celles-ci sont jugées nécessaires à la protection de la santé des animaux aquatiques ou de la santé publique. La justification scientifique de ces mesures doit reposer sur une analyse des risques. ~~décider d'adopter un niveau de protection supérieur à celui obtenu par l'application des textes internationaux, si cela est scientifiquement justifié ou si le niveau de protection procuré par l'application des textes internationaux est considéré comme inadéquat.~~ Dans de telles circonstances, les Membres doivent adopter une approche de gestion du risque cohérente, ~~sont tenus de procéder à une appréciation du risque,~~ et à ne prendre que les mesures de *gestion du risque* proportionnées à cette appréciation.

L'Accord SPS invite les Gouvernements à avoir plus systématiquement recours à l'*analyse des risques* : les Membres de l'OMC doivent se livrer à une *appréciation du risque* en rapport avec les caractéristiques du *risque* réel encouru.

En vue de promouvoir la transparence, l'Accord SPS prévoit, à l'article 7, une obligation pour les membres de l'OMC de notifier ~~Aux termes de l'article 7 de l'Accord SPS les pays membres de l'OMC doivent notifier à cette dernière tout~~ changement intervenant dans les *mesures sanitaires* qu'ils appliquent, susceptibles d'affecter directement ou indirectement les *échanges internationaux*, et ~~lui~~ de fournir des renseignements sur ces mesures.

~~Dans le domaine de la santé animale,~~ L'Accord SPS reconnaît l'OIE comme l'organisation internationale compétente dans le domaine de la santé animale pour l'élaboration et la promotion de normes, directives et recommandations internationales susceptible d'influer sur le commerce ~~des animaux vivants et des produits d'origine animale, y compris des animaux aquatiques~~ et des produits qui en sont issus.

## Article 5.3.2.

**Introduction à ~~sur l'appréciation~~ la détermination de l'équivalence de mesures sanitaires**

L'importation d'animaux aquatiques ou et de produits issus d'animaux aquatiques comporte un degré de *risque* pour ~~le statut sanitaire la santé des animaux aquatiques et la santé publique du pays importateur.~~ L'estimation de ce *risque* et le choix ~~de~~(des) l'option(s) de *gestion du risque* appropriée(s) sont rendus ~~plus~~ difficiles par les différences existant au sein des systèmes de gestion de la santé des animaux aquatiques et des systèmes et de production et de transformation des animaux aquatiques des États membres. ~~Il est maintenant reconnu que~~ Toutefois, des systèmes et mesures de santé et de production d'animaux aquatiques notoirement différents peuvent offrir conférer un niveau de ~~une~~ protection de la santé des *animaux aquatiques* et de la santé publique équivalent pour les besoins du commerce international des échanges internationaux, ~~présentant des avantages certains tant pour le pays importateur que pour le pays exportateur.~~

Les ~~présentes~~ recommandations du présent chapitre ont pour objet de ~~sont destinées à~~ fournir une assistance aux États membres afin de leur permettre de déterminer si des *mesures sanitaires* propres à des systèmes ~~de santé et de production d'animaux aquatiques~~ différents peuvent conférer conférer le même niveau de protection de la santé des animaux aquatiques et de la santé publique. Elles ~~traitent décrivent~~ des principes qui ~~sont susceptibles d'~~ peuvent être retenus pour l'appréciation la détermination de l'équivalence, et présentent ci-après les étapes d'une procédure destinée à être appliquée par les partenaires commerciaux ~~en vue de faciliter l'appréciation de l'équivalence.~~ Ces recommandations peuvent être appliquées, que l'équivalence porte sur une mesure spécifique ou qu'elle soit à l'échelle des systèmes, et que l'équivalence porte sur des domaines d'échanges spécifiques, sur des *marchandises* particulières ou sur des domaines ~~plus~~ généraux.

## Annexe 8 (suite)

## Article 5.3.3.

**Considérations générales sur l'appréciation la détermination de l'équivalence de mesures sanitaires**

Avant de procéder à des échanges commerciaux d'*animaux aquatiques* ou de *produits issus d'animaux aquatiques*, un *pays importateur* doit s'assurer que son statut zoosanitaire sera protégé la santé animale et la santé publique seront protégées de façon adéquate sur son territoire. Dans la majorité des cas, les mesures de *gestion du risque adoptées* vont, en partie, reposer sur des appréciations portées sur le(s) système(s) de gestion de la santé des animaux aquatiques et de production d'*animaux aquatiques* du *pays exportateur* et sur l'efficacité des ~~procédures~~ mesures sanitaires qui y sont appliquées. Les systèmes en place dans le *pays exportateur* peuvent différer de ceux existant dans le *pays importateur* et dans d'autres pays avec lesquels le *pays importateur* entretient des échanges commerciaux. Des différences peuvent exister en ce qui concerne les infrastructures, les politiques zoosanitaires et ou la façon de les mettre en œuvre, les systèmes liés aux examens de laboratoire, les stratégies ~~relatives aux parasites et aux maladies~~ qui sont présents de contrôle des maladies, les contrôles aux frontières et la surveillance des transports au niveau national.

~~La reconnaissance internationale du fait que des approches différentes peuvent être adoptées pour atteindre le niveau approprié de protection sanitaire du pays importateur a conduit à faire figurer le principe d'équivalence dans des accords d'échanges, dont l'Accord SPS de l'OMC.~~

Si les partenaires commerciaux conviennent que les mesures en vigueur atteignent un niveau identique de protection de la santé, ces mesures seront considérées comme équivalentes. Les avantages résultant de l'application de l'équivalence sont :

- 1) une réduction des coûts associés aux échanges internationaux en permettant que les mesures sanitaires soient adaptées aux conditions locales ~~en adaptant aux conditions locales les mesures sanitaires appliquées aux animaux aquatiques~~ ;
- 2) une valorisation des résultats obtenus en santé animale pour un niveau déterminé d'investissements ;
- 3) une plus grande fluidité des échanges commerciaux en parvenant, par le biais de *mesures sanitaires* moins restrictives pour le commerce, au niveau de protection sanitaire requis, et
- 4) un recours moindre à des procédures relativement coûteuses d'examen et d'isolement des marchandises ~~dans les accords bilatéraux ou multilatéraux.~~

Le *Code aquatique* reconnaît le principe de l'équivalence en recommandant des *mesures sanitaires* diversifiées pour de nombreuses ~~maladies et de nombreux agents pathogènes~~. L'équivalence peut être obtenue atteinte, à titre d'exemple, en renforçant les systèmes de *surveillance* et de suivi, et en faisant appel à diverses procédures de contrôle, d'isolement ou de traitement ou bien ~~à différentes combinaisons des~~ en combinant les mesures susmentionnées. Afin de faciliter la détermination l'appréciation de l'équivalence, les États membres doivent fonder leurs *mesures sanitaires* sur les normes, et lignes directrices et recommandations de l'OIErganisation.

~~Il est essentiel de conduire, dans toute la mesure du possible, une analyse des risques à caractère scientifique encourus pour établir les fondements d'une appréciation de l'équivalence. Les États membres doivent réaliser une analyse des risques afin d'établir les fondements d'une détermination de l'équivalence.~~

## Article 5.3.4.

**Considérations préalables à l'appréciation la détermination de l'équivalence**1. Application de l'appréciation du risque

L'application de la discipline de l'appréciation du risque fournit une base structurée pour apprécier l'équivalence de différentes *mesures sanitaires*, car elle permet ~~un examen minutieux de~~ de comparer l'effet d'une mesure sur une étape particulière d'une importation type de la procédure d'importation à l'effet d'une mesure de substitution proposée, ainsi que ~~des effets relatifs de mesures de substitution proposées sur la même étape ou des étapes qui lui sont liées.~~

L'appréciation de l'équivalence nécessite d'évaluer une mesure sanitaire en fonction de son efficacité vis-à-vis d'un *risque* particulier ou groupe de *risques* qu'elle est destinée à prévenir. La détermination de l'équivalence doit permettre de comparer l'efficacité des mesures sanitaires au regard d'un risque particulier ou d'un ensemble de risques qu'elles sont destinées à prévenir. Cette appréciation peut comprendre les éléments suivants : objectif de la mesure, niveau de protection conféré par la mesure et contribution que la mesure peut apporter pour atteindre le niveau approprié de protection sanitaire du *pays importateur*.

## 2. Classification des mesures sanitaires

~~Des~~ Les propositions d'équivalence peuvent être exprimées par le biais d'une mesure comprenant une seule composante concerner une seule composante (par exemple, une procédure d'isolement ou d'échantillonnage, l'exigence d'un contrôle ou d'un traitement, une procédure de certification) ou plusieurs composantes (par exemple, un système de production pour une marchandise) d'une mesure sanitaire, ou bien en termes de une combinaison de mesures sanitaires. Les composantes multiples ou les combinaisons de mesures sanitaires peuvent être appliquées consécutivement ou simultanément.

~~On entend par mesures sanitaires~~ les mesures décrites dans chaque chapitre du *Code aquatique*, qui sont mises en œuvre en vue de réduire le niveau de risque et qui sont adaptées à la maladie prise en compte. Les mesures sanitaires sont décrites dans chacun des chapitres du Code aquatique traitant des maladies spécifiques afin de gérer les risques associés à la présence de cette maladie. Les mesures sanitaires peuvent être appliquées seules ou en combinaison et comprendre l'exigence d'un contrôle, une procédure de traitement, d'inspection ou de certification, une mise en quarantaine, ou des procédures d'échantillonnage.

Aux fins de ~~l'appréciation~~ la détermination de l'équivalence, les mesures sanitaires peuvent être sommairement classées comme suit :

- a) infrastructure : comprend le support réglementaire (par exemple, les lois relatives à la santé des animaux aquatiques) et les systèmes administratifs (par exemple, organisation des services Services vétérinaires ou des Services nationaux et régionaux chargés de la santé des animaux aquatiques organisation des interventions d'urgence) ;
- b) conception ~~ou~~ et exécution du programme : comprend la documentation relative aux systèmes, aux critères de performance et de décision, aux capacités des laboratoires, et aux dispositions en matière de certification, d'audit et de mise en application ;
- c) exigences techniques spécifiées : comprend les conditions applicables à l'usage d'équipements fiables, les traitements (comme l'appertisation des boîtes de conserve), les épreuves spécifiques (comme la PCR) et les procédures (par exemple, inspection avant exportation).

~~La(les) mesure(s) sanitaire(s) proposée(s)~~ Les mesures sanitaires proposées pour apprécier déterminer l'équivalence peut(vent) appartenir à une ou plusieurs de ces catégories, qui ne s'excluent pas mutuellement.

Dans certains cas, comme celui, par exemple, d'une méthode d'inactivation d'un agent pathogène une comparaison des exigences techniques spécifiées peut s'avérer suffisante. ~~Toutefois, dans~~ Dans nombre de cas, on ne peut juger cependant on ne pourra déterminer si le même niveau de protection a toute chance d'être atteint a été obtenu qu'en procédant à l'évaluation de toutes les composantes appropriées des systèmes de gestion de la santé des animaux aquatiques et de production d'animaux aquatiques du système de santé des animaux aquatiques et de production d'animaux aquatiques d'un pays exportateur. Par exemple, l'appréciation de l'équivalence d'une mesure sanitaire particulière au niveau de la conception ou l'exécution d'un programme peut exiger un examen préalable des infrastructures, alors que l'appréciation de l'équivalence d'une mesure particulière au niveau des exigences techniques spécifiées peut imposer que la mesure particulière soit appréciée dans son contexte par un examen des infrastructures et des programmes.

Article 5.3.5.

### Principes de ~~l'appréciation~~ la détermination de l'équivalence

~~Parallèlement aux considérations exposées ci-dessus, la~~ La détermination ~~l'appréciation~~ de l'équivalence de mesures sanitaires doit être fondée sur l'application des principes suivants :

- 1) un pays importateur a le droit de définir le niveau de protection qu'il juge approprié en relation avec la vie et la santé humaines ou animales sur son territoire (son niveau approprié de protection sanitaire) ; ce niveau peut être exprimé en termes qualitatifs ou quantitatifs ;
- 2) le pays importateur doit être en mesure de motiver toute mesure sanitaire, c'est-à-dire le niveau de protection recherché par l'application de la(~~des~~) mesure(~~s~~) retenue(~~s~~) pour parer à un danger risque;
- 3) un pays importateur doit reconnaître que des mesures sanitaires différentes de celles qu'il propose peuvent permettre d'atteindre conférer le même niveau de protection ; il doit notamment prendre en considération l'existence de zones indemnes ou de compartiments indemnes et de produits issus d'animaux aquatiques dénués de risques ;
- 4) le pays importateur se prêtera, sur demande, à des consultations avec le pays exportateur en vue de faciliter la procédure d'~~appréciation~~ de détermination de l'équivalence ;
- 5) toute mesure sanitaire, ou combinaison de mesures sanitaires, peut être proposée pour apprécier déterminer l'équivalence ;

## Annexe 8 (suite)

- 6) un processus interactif doit être appliqué ; il suivra une séquence définie d'étapes, et fera appel à une procédure convenue en ce qui concerne les échanges d'informations, de façon à limiter la collecte de données au strict minimum, minimiser la charge de travail administrative et faciliter la résolution des différends ;
  - 7) le *pays exportateur* doit être à même de démontrer avec objectivité comment la(les) *mesure(s) sanitaire(s)* de substitution qu'il propose confèrera(confèreront) le même niveau de protection ;
  - 8) le *pays exportateur* doit présenter toute demande d'équivalence sous une forme qui aide le *pays importateur* à procéder à ~~son appréciation~~ sa détermination ;
  - 9) le *pays importateur* doit procéder à l'évaluation d'une demande d'équivalence dans un délai raisonnable, d'une manière cohérente, transparente et objective et conformément aux principes appropriés de *l'appréciation du risque* ;
  - 10) le *pays importateur* doit tenir compte des connaissances et de l'expérience déjà acquises par l'*Autorité vétérinaire* ou une autre *Autorité compétente* du *pays exportateur* ;
- 10bis) le pays importateur doit tenir compte de tous les arrangements qu'il a passés avec d'autres pays exportateurs sur des questions similaires ;
- 10ter) le pays importateur peut également tenir compte de toutes les informations dont il dispose concernant les arrangements existant entre le pays exportateur et d'autres pays importateurs ;
- 11) le *pays exportateur* doit ménager au *pays importateur* qui lui en fait la demande un accès raisonnable pour qu'il puisse procéder à l'examen et à l'évaluation des procédures ou des systèmes faisant l'objet de ~~l'appréciation~~ la détermination de l'équivalence ;
  - 12) le *pays importateur* doit être le seul décideur juge en matière d'appréciation de l'équivalence, mais il doit fournir au *pays exportateur* une explication détaillée des résultats de son appréciation ;
  - 13) les États membres doivent fonder leurs *mesures sanitaires* sur les normes ~~de l'Organisation et les lignes directrices de l'OIE, lorsqu'elles existent~~, en vue de faciliter la procédure d'appréciation de détermination de l'équivalence. Ils peuvent toutefois choisir de mettre en œuvre des mesures sanitaires plus contraignantes sous réserve qu'elles soient justifiées scientifiquement par une analyse des risques ;
  - 14) le *pays importateur* et le *pays exportateur* doivent se tenir mutuellement informés des modifications significatives apportées à leurs infrastructures, statut zoosanitaire ou programmes de santé animale pouvant influencer sur ~~l'appréciation~~ la détermination de l'équivalence, afin de permettre de procéder à une nouvelle ~~appréciation~~ détermination de l'équivalence en cas de besoin, et
  - 15) ~~le pays importateur doit examiner d'une manière positive toute demande émanant d'un pays exportateur en développement concernant l'obtention d'une assistance technique appropriée qui faciliterait le bon déroulement de l'appréciation de l'équivalence. une assistance technique adéquate apportée par un pays importateur en réponse à une demande émanant d'un pays exportateur peut faciliter le bon déroulement de la détermination de l'équivalence.~~

## Article 5.3.6.

**Série d'étapes devant être prises en compte dans ~~l'appréciation~~ la détermination de l'équivalence**

Il n'existe pas de série d'étapes unique devant être suivie lors de toute ~~appréciation~~ détermination de l'équivalence. Les étapes que les partenaires commerciaux choisissent dépendent, en règle générale, des circonstances et de leur expérience commerciale. ~~Néanmoins, la~~ La série interactive d'étapes décrite ci-dessous peut s'avérer utile pour évaluer toute une mesure sanitaire, qu'elle se classe, parmi les rubriques composantes d'un système de gestion de la santé des animaux aquatiques et ou d'un système de production d'animaux aquatiques, c'est-à-dire dans infrastructure, conception et ou exécution du programme, ou exigences techniques spécifiées.

Cette série part du postulat que le *pays importateur* répond à ses obligations découlant de l'Accord SPS de l'OMC et applique, d'une manière transparente, une mesure reposant soit sur une norme internationale soit sur une *analyse des risques*.

Les étapes recommandées sont les suivantes :

- 1) le *pays exportateur* identifie la(les) mesure(s) pour la(les)quelle(s) il souhaite proposer une(des) mesure(s) de substitution une mesure de substitution et demande au *pays importateur* de justifier sa *mesure sanitaire* du point de vue du niveau de protection qui doit être atteint vis-à-vis d'un(de) ~~danger(s)~~ risque ;

## Annexe 8 (suite)

- 2) le *pays importateur* explique les motifs de cette(ées) mesure(s), dans des termes facilitant sa comparaison avec la(les) mesure(s) sanitaire(s) de substitution en conformité avec les principes exposés dans les présentes recommandations dispositions ;
- 3) le *pays exportateur* apporte ses arguments en faveur de l'équivalence d'une(de) mesure(s) sanitaire(s) de substitution sous une forme aidant le *pays importateur* à procéder à son évaluation analyse ;
- 4) le *pays exportateur* répond à toute préoccupation d'ordre technique manifestée par le *pays importateur* en lui fournissant des informations complémentaires ;
- 5) l'~~appréciation~~ la détermination de l'équivalence par le *pays importateur* ~~prend~~ doit prendre en compte de façon appropriée :
  - a) l'impact, dans le domaine biologique, de la variabilité et de l'incertitude ;
  - b) l'effet attendu de la(des) mesure(s) sanitaire(s) de substitution ~~sur tous les dangers avérés~~ ;
  - c) les normes et les lignes directrices de l'OIE ;
  - d) ~~l'application de démarches seulement qualitatives lorsqu'il n'est pas possible ou raisonnable de conduire une appréciation de risque en termes quantitatifs ; les résultats d'une appréciation du risque ;~~
- 6) le *pays importateur* notifie au *pays exportateur* sa décision et ce qui l'a motivée dans un délai raisonnable ; la décision :
  - a) ~~reconnaissance de~~ reconnaît l'équivalence d'une(de) mesure(s) sanitaire(s) de la mesure sanitaire de substitution appliquée(s) par le pays exportateur, ou ;
  - b) comporte une demande d'informations complémentaires, ou
  - c) ~~rejet de~~ rejette la demande présentée pour faire reconnaître comme équivalente une(des) mesure(s) ~~sanitaire(s)~~ la mesure sanitaire de substitution ;
- 7) il faut tenter de résoudre toute divergence d'opinion relative à l'appréciation d'une demande, ~~qu'elle soit provisoire ou définitive~~, en utilisant un mécanisme convenu tel que ~~comme afin de parvenir à un consensus (par exemple, le mécanisme la procédure informelle de médiation de l'OIE prévu en cas de différends), ou en faisant appel à un expert agréé (article 5.3.8.)~~ ;
- 8) en fonction des catégories de mesures concernées, le *pays importateur* et le *pays exportateur* peuvent ~~conclure un accord officiel d'équivalence permettant à l'appréciation de prendre effet, ou bien une simple reconnaissance officielle de l'équivalence de mesures techniques spécifiées peut suffire~~ reconnaître de façon informelle l'équivalence ou conclure un accord officiel d'équivalence permettant à la décision de prendre effet.

Un *pays importateur* reconnaissant l'équivalence d'une(de) mesure(s) sanitaire(s) de substitution appliquée(s) par un *pays exportateur* ~~se doit de~~ vérifier qu'il agit d'une manière cohérente eu égard aux requêtes présentées par des pays tiers en vue de faire reconnaître comme équivalente une(des) mesure(s) identique(s) ou très voisine(s). Agir d'une manière cohérente ne signifie toutefois pas qu'une mesure spécifique qu'ont proposée plusieurs *pays exportateurs* doit toujours être jugée comme équivalente, ~~étant donné qu'il ne faut pas la considérer parce qu'une mesure ne doit pas être~~ considérée de façon isolée mais comme partie intégrante d'un système se composant d'infrastructures, de politiques et de procédures qu'il faut replacer dans le contexte de la situation sanitaire des animaux aquatiques du pays exportateur.

## Article 5.3.7.

**Séquence d'étapes à suivre pour définir une zone ou un compartiment et obtenir leur reconnaissance à des fins d'échanges internationaux**

Les termes « zone » et « zonage » employés dans le Code aquatique ont la même signification que celle qui est donnée aux termes « région », « zone » et « régionalisation » dans l'Accord SPS de l'OMC.

## Annexe 8 (suite)

~~Il n'existe pas de séquence universelle d'étapes à suivre pour établir une zone ou un compartiment, car la démarche choisie et mise en œuvre par les Services vétérinaires ou les Services chargés de la santé des animaux aquatiques des pays importateurs et des pays exportateurs dépendra généralement des circonstances qui prévalent à l'intérieur des pays ou à leurs frontières, ainsi que des antécédents commerciaux. Les exigences associées à l'établissement d'une zone ou d'un compartiment déclaré indemne de maladie sont décrites dans chacun des chapitres traitant des maladies spécifiques, et doivent être prises en considération par les partenaires commerciaux lorsqu'ils mettent en place les mesures sanitaires à des fins d'échanges commerciaux. Les étapes recommandées sont les suivantes. Ces exigences comprennent :~~

## 1. Pour le zonage

- a) ~~Sur la base des résultats issus du système de surveillance, le~~ Le pays exportateur identifie un secteur géographique sur son territoire dont il estime, sur la base d'une surveillance, qu'il comprend une sous-population d'animaux aquatiques caractérisée par dotée d'un statut sanitaire qui lui est propre distinct au regard d'une ~~ou de plusieurs~~ maladies particulières.
- b) Le pays exportateur décrit dans le plan de sécurité biologique fourni pour la zone les mesures qui ~~sont~~ appliquées, ~~ou pourront l'être~~, pour distinguer épidémiologiquement le secteur identifié des autres parties de son territoire, conformément aux recommandations figurant dans le Code aquatique.
- c) Le pays exportateur :
  - i) fournit les informations qui précèdent au pays importateur en expliquant les raisons pour lesquelles le secteur peut être traité comme une zone particulière sur le plan épidémiologique aux fins des échanges internationaux ;
  - ii) ménage au pays importateur qui lui en fait la demande un accès raisonnable pour qu'il puisse procéder à l'examen et à l'évaluation des procédures ou des systèmes d'établissement de la zone.
- d) Le pays importateur décide s'il reconnaît le secteur considéré comme une zone dans le cadre de l'importation d'animaux aquatiques ~~ou~~ et de produits issus d'animaux aquatiques, en prenant en compte les éléments suivants :
  - i) évaluation des Services vétérinaires ou des Services chargés de la santé des animaux aquatiques du pays exportateur ;
  - ii) résultats d'une appréciation du risque reposant sur les informations fournies par le pays exportateur et sur ses propres recherches ;
  - iii) le statut sanitaire des animaux aquatiques dans son pays au regard de la ~~(des)~~ maladie ~~(s)~~ considérée ~~(s)~~, et
  - iv) les autres normes et lignes directrices de l'OIE qui s'appliquent.
- e) Le pays importateur notifie au pays exportateur, dans un délai raisonnable, sa décision et ce qui l'a motivée, à savoir :
  - i) reconnaissance du secteur comme une zone, ou
  - ii) demande d'informations complémentaires, ou
  - iii) non-reconnaissance du secteur comme une zone aux fins des échanges internationaux.
- f) Les pays doivent tenter de résoudre toute divergence à propos de la reconnaissance d'une zone, ~~soit pendant la prise de décision soit à son terme~~, en appliquant un mécanisme reconnu tel que la pour parvenir à un consensus (mécanisme procédure informelle de médiation de l'OIE prévu en cas de différends [voir article 5.3.8.] par exemple (article 5.3.8.).
- g) Les Autorités vétérinaires ou ~~une~~ d'autres Autorités compétentes des pays importateurs et des pays exportateurs doivent passer un accord ~~officiel~~ sur la reconnaissance de la zone.

## 2. Pour la compartimentation

- a) Sur la base de discussions avec le secteur industriel concerné, le *pays exportateur* identifie sur son territoire un *compartiment* constitué d'une *sous-population* d'*animaux aquatiques* abritée détenue dans une ou plusieurs *exploitations* ou et autre type d'installations qui relèvent de pratiques communes de gestion et d'un dispositif commun plan de sécurité biologique et qui abritent. Le *compartiment* détient une *sous-population* d'*animaux aquatiques* identifiable, dotée d'caractérisée par un statut sanitaire qui lui est propre distinct au regard d'une ~~(de plusieurs)~~ *maladie(s)* particulière(s) ; le *pays exportateur* décrit la manière dont ce statut est maintenu par un partenariat entre le secteur industriel concerné et l'Autorité vétérinaire ou une autre Autorité compétente du *pays exportateur*.
- b) Le *pays exportateur* examine le *plan de sécurité biologique* fourni pour ce *compartiment* et confirme par un audit :
- i) que ce *compartiment* est épidémiologiquement cloisonné lors du déroulement de ses procédures opératoires standards, grâce à une application efficace du *plan de sécurité biologique*, et
  - ii) que le programme de *surveillance* et de suivi mis en place permet de vérifier le statut de ladite *sous-population* pour la ~~(les)~~ *maladie(s)* en question considérée(s).
- c) Le *pays exportateur* décrit le *compartiment* conformément ~~aux recommandations figurant dans le Code aquatique~~ aux chapitres 4.1. et 4.2.
- d) Le *pays exportateur* :
- i) fournit les informations qui précèdent au *pays importateur* en expliquant les raisons pour lesquelles la *sous-population* peut être traitée comme un *compartiment* épidémiologiquement distinct aux fins des *échanges internationaux*, et
  - ii) ménage au *pays importateur* qui lui en fait la demande un accès raisonnable pour qu'il puisse procéder à l'examen et à l'évaluation des procédures ou des systèmes d'établissement du *compartiment*.
- e) Le *pays importateur* décide s'il reconnaît la *sous-population* considérée comme un *compartiment* dans le cadre de l'importation d'*animaux aquatiques* ~~et~~ ou de *produits issus d'animaux aquatiques* en prenant en compte les éléments suivants :
- i) l'évaluation des *Services vétérinaires* ou des *Services chargés de la santé des animaux aquatiques* du *pays exportateur* ;
  - ii) les résultats d'une *appréciation du risque* reposant sur les informations fournies par le *pays exportateur* et sur ses propres recherches ;
  - iii) la situation sanitaire des *animaux aquatiques* dans son pays au regard de la ~~(des)~~ *maladie(s)* concernée(s), et
  - iv) les autres normes ou lignes directrices de l'OIE qui s'appliquent.
- f) Le *pays importateur* notifie au *pays exportateur*, dans un délai raisonnable, sa décision et ce qui l'a motivée, à savoir :
- i) reconnaissance du *compartiment*, ou
  - ii) demande d'informations complémentaires, ou
  - iii) non-reconnaissance de la *sous-population* comme un *compartiment* aux fins des *échanges internationaux*.
- g) Les pays doivent tenter de résoudre toute divergence à propos de la reconnaissance d'un *compartiment*, ~~soit pendant la prise de décision soit à son terme~~, en appliquant un mécanisme reconnu ~~pour parvenir à un consensus~~ (tel que la procédure informelle de médiation de l'OIE ~~[voir article 5.3.8.]~~ par exemple (article 5.3.8.).
- h) Les *Autorités vétérinaires* ou ~~une~~ d'autres *Autorités compétentes* des *pays importateurs* et des *pays exportateurs* doivent passer un accord officiel sur la reconnaissance du *compartiment*.

Annexe 8 (suite)

- i) ~~L'Autorité vétérinaire ou une autre Autorité compétente du pays exportateur doit notifier aux pays importateurs, avec célérité, toute apparition d'une maladie pour laquelle le compartiment a été défini.~~

Article 5.3.8.

**Mécanisme Procédure informelle de médiation de l'OIE prévu en cas de différends**

L'OIE ~~maintiendra~~ met ses procédures un mécanisme internes à la disposition de ses États membres pour assister ceux qui le souhaiteraient en cas de différends. ~~Ces~~ Les procédures internes qui s'appliquent sont les suivantes ~~seront les suivantes~~:-

- 1) Les deux parties doivent donner pour mandat à l'OIE de les aider à résoudre leur différend.
  - 2) S'il y a lieu, le Directeur général de l'OIE proposera un ou plusieurs experts et, en tant que de besoin, un président, acceptés par les deux parties.
  - 3) Les deux parties doivent s'accorder sur les termes de référence et sur le programme de travail à retenir, et sur la prise en charge des frais de procédure encourus par l'OIE.
  - 4) Le ou les experts sont habilités à rechercher des éclaircissements sur toute information ou donnée fournie par l'un ou l'autre pays lors des procédures d'évaluation ou de consultation, et à demander des informations ou données supplémentaires à l'un ou l'autre pays.
  - 5) Le ou les experts soumettront un rapport confidentiel au Directeur général de l'OIE qui le transmettra alors aux deux parties intéressées.
-

## CHAPITRE 8.X.

### INFECTION À *BATRACHOCHYTRIUM SALAMANDRIVORANS*

#### Article 8.X.1.

Aux fins de l'application du *Code aquatique*, l'expression « infection à *Batrachochytrium salamandrivorans* » désigne une infection causée par *Batrachochytrium salamandrivorans*. Il s'agit d'un agent pathogène appartenant à la classe des *Chytridiomycota* et à l'ordre des *Rhizophydiales*.

Le *Manuel aquatique* contient des informations sur les méthodes de *diagnostic*.

#### Article 8.X.2.

##### Champ d'application

Les recommandations de ce chapitre s'appliquent aux espèces ci-après, satisfaisant aux critères permettant de les lister comme étant sensibles conformément au chapitre 1.5. : [le triton alpestre (*Ichthyosaura alpestris*), le triton de feu à queue bleue, (*Cynops cyanurus*), la salamandre tachetée (*Salamandra salamandra*), *Nothophthalmus viridescens*, le spéléropès de Strinati (*Hydromantes strinati*), *Lissotriton italicus*, *Neurergus crocatus*, le triton à ventre de feu (*Cynops pyrrhogaster*), la salamandrine à lunettes (*Salamandrina perspicillata*), *Paramesotriton deloustali*, le triton rugueux du nord (*Taricha granulosa*), *Euproctus platycephalus* et le pleurodèle de Waltl (*Pleurodeles waltl*)] (à l'étude).

#### Article 8.X.3.

**Importation, ou transit par le territoire, de produits issus d'animaux aquatiques indépendamment de l'usage auquel ils sont destinés et du statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection à *B. salamandrivorans***

- 1) Quel que soit le statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection à *B. salamandrivorans*, les *Autorités compétentes* ne doivent imposer aucune condition liée à *B. salamandrivorans* quand elles autorisent, pour quelque usage que ce soit, l'importation, ou le transit par leur territoire, des produits issus d'animaux aquatiques énumérés ci-dessous lorsqu'il s'agit d'une espèce visée à l'article 8.X.2. et que ces produits satisfont aux conditions requises à l'article 5.4.1. :
  - a) produits à base d'amphibiens stérilisés par la chaleur (c'est-à-dire exposés à une température de 121 °C pendant au moins 3,6 minutes ou à toute combinaison de température et de temps dont l'équivalence a été démontrée en termes d'inactivation de *B. salamandrivorans*) et présentés en conditionnement hermétique ;
  - b) produits cuits à base d'amphibiens ayant subi un traitement thermique à 100 °C pendant au moins une minute ou à toute combinaison de température et de temps dont l'équivalence a été démontrée en termes d'inactivation de *B. salamandrivorans* ;
  - c) produits pasteurisés à base d'amphibiens ayant subi un traitement thermique à 90 °C pendant au moins dix minutes ou à toute combinaison de température et de temps dont l'équivalence a été démontrée en termes d'inactivation de *B. salamandrivorans* ;
  - d) produits séchés par un procédé mécanique à base d'amphibiens ayant subi un traitement thermique à 100 °C pendant au moins 30 minutes ou à toute combinaison de température et de temps dont l'équivalence a été démontrée en termes d'inactivation de *B. salamandrivorans* ;
  - e) cuir élaboré à partir de peau d'amphibien.
- 2) Lorsque les *Autorités compétentes* autorisent l'importation, ou le transit par leur territoire, de produits issus d'animaux aquatiques appartenant à une des espèces visées à l'article 8.X.2. autres que ceux énumérés à l'alinéa 1 de l'article 8.X.3., elles doivent imposer le respect des conditions requises aux articles 8.X.7. à 8.X.12. en fonction du statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection à *B. salamandrivorans*.
- 3) L'*Autorité compétente* doit procéder à une analyse des risques conformément aux recommandations figurant au chapitre 2.1. lorsqu'elle envisage l'importation, ou le transit par son territoire, de produits issus d'animaux aquatiques appartenant à une espèce non visée à l'article 8.X.2., mais dont on peut raisonnablement s'attendre à ce qu'ils posent un risque en termes de transmission de *B. salamandrivorans*. L'*Autorité compétente* du pays exportateur doit être tenue informée du résultat de cette analyse.

Annexe 9A (suite)

## Article 8.X.4.

**Pays indemne d'infection à *B. salamandrivorans***

En cas de partage d'une zone avec un ou plusieurs autres pays, un pays ne peut déposer une *auto-déclaration d'absence* d'infection à *B. salamandrivorans* que si tous les secteurs couverts par des étendues d'eaux partagées sont déclarés pays ou zone indemne de cette *infection* (voir article 8.X.5.).

Comme indiqué à l'article 1.4.6., un pays peut déposer une *auto-déclaration d'absence* d'infection à *B. salamandrivorans* si :

- 1) aucune des *espèces sensibles* visées à l'article 8.X.2. n'est présente et les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins deux ans ;

OU

- 2) l'une quelconque des *espèces sensibles* visées à l'article 8.X.2. est présente, mais les conditions suivantes sont remplies :

- a) aucune infection à *B. salamandrivorans* n'est apparue depuis au moins dix ans malgré l'existence de conditions propices à son expression clinique (comme indiqué au chapitre correspondant du *Manuel aquatique*), et
- b) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins dix ans ;

OU

- 3) le statut sanitaire au regard de l'infection à *B. salamandrivorans* était inconnu avant la mise en œuvre de la *surveillance ciblée*, mais les conditions suivantes sont remplies :

- a) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins deux ans, et
- b) la *surveillance ciblée*, telle qu'elle est décrite au chapitre 1.4., est mise en œuvre depuis au moins deux ans sans que *B. salamandrivorans* ait été détecté ;

OU

- 4) ce pays, après avoir déposé une *auto-déclaration d'absence* d'infection à *B. salamandrivorans*, a perdu son statut indemne par suite de la détection d'un tel agent, mais les conditions suivantes sont remplies :

- a) dès la détection de *B. salamandrivorans*, le secteur touché a été déclaré *zone infectée* et une *zone de protection* a été établie, et
- b) les populations de la *zone infectée* touchées par l'*infection* ont été abattues et éliminées par un moyen réduisant autant que possible la probabilité de nouvelle transmission de *B. salamandrivorans*, et des opérations de *désinfection* appropriées (comme indiqué au chapitre 4.3.) ont été réalisées, et
- c) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* existant antérieurement ont été réexaminées, et sont en place sans discontinuer, avec les modifications éventuellement nécessaires, depuis l'éradication de l'infection à *B. salamandrivorans*, et
- d) la *surveillance ciblée*, telle qu'elle est décrite au chapitre 1.4., est mise en œuvre depuis au moins deux ans sans que *B. salamandrivorans* ait été détecté.

Entre-temps, tout ou partie du secteur non touché peut être déclaré *zone indemne*, pour autant que les conditions requises à l'alinéa 3 de l'article 8.X.5. soient satisfaites.

## Article 8.X.5.

**Compartiment ou zone indemne d'infection à *B. salamandrivorans***

En cas d'extension au-delà des frontières d'un pays, un *compartiment* ou une *zone* ne peut être déclaré indemne d'infection à *B. salamandrivorans* que si l'ensemble des *Autorités compétentes* concernées confirment que toutes les conditions voulues sont remplies.

Comme indiqué à l'article 1.4.6., un *compartiment* ou une *zone* situé sur le *territoire* d'un pays ou de plusieurs pays non déclarés indemnes d'infection à *B. salamandrivorans* peut être déclaré indemne de cette *infection* par l'*Autorité compétente* du pays ou de l'ensemble des pays concernés si :

- 1) aucune des *espèces sensibles* visées à l'article 8.X.2. n'est présente dans le *compartiment* ou la *zone* et les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins deux ans ;

OU

- 2) l'une quelconque des *espèces sensibles* visées à l'article 8.X.2. est présente dans le *compartiment* ou la *zone*, mais les conditions suivantes sont remplies :
  - a) aucune infection à *B. salamandrivorans* n'est apparue depuis au moins dix ans malgré l'existence de conditions propices à son expression clinique (comme indiqué au chapitre correspondant du *Manuel aquatique*), et
  - b) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins dix ans ;

OU

- 3) le statut sanitaire au regard de l'infection à *B. salamandrivorans* était inconnu avant la mise en œuvre de la *surveillance ciblée*, mais les conditions suivantes sont remplies :
  - a) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins deux ans, et
  - b) la *surveillance ciblée*, telle qu'elle est décrite au chapitre 1.4., est mise en œuvre dans le *compartiment* ou la *zone* depuis au moins deux ans sans que *B. salamandrivorans* ait été détecté ;

OU

- 4) le pays, après avoir déposé une *auto-déclaration d'absence* d'infection à *B. salamandrivorans* pour une *zone*, a perdu son statut indemne par suite de la détection d'un tel agent dans cette *zone*, mais les conditions suivantes sont remplies :
  - a) dès la détection de *B. salamandrivorans*, le secteur touché a été déclaré *zone infectée* et une *zone de protection* a été établie, et
  - b) les populations de la *zone infectée* touchées par l'*infection* ont été abattues et éliminées par un moyen réduisant autant que possible la probabilité de nouvelle transmission de *B. salamandrivorans*, et des opérations de *désinfection* appropriées (comme indiqué au chapitre 4.3.) ont été réalisées, et
  - c) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* existant antérieurement ont été réexaminées, et sont en place sans discontinuer, avec les modifications éventuellement nécessaires, depuis l'éradication de l'infection à *B. salamandrivorans*, et
  - d) la *surveillance ciblée*, telle qu'elle est décrite au chapitre 1.4., est mise en œuvre depuis au moins deux ans sans que *B. salamandrivorans* ait été détecté.

Annexe 9A (suite)

## Article 8.X.6.

**Maintien du statut indemne d'infection à *B. salamandrivorans***

Un pays, une *zone* ou un *compartiment* déclaré indemne d'infection à *B. salamandrivorans* conformément aux dispositions énoncées aux alinéas 1 ou 2, suivant le cas, des articles 8.X.4. ou 8.X.5. peut conserver son statut indemne au regard de cette *infection*, sous réserve que les *conditions élémentaires de sécurité biologique* soient constamment maintenues.

Un pays, une *zone* ou un *compartiment* déclaré indemne d'infection à *B. salamandrivorans* conformément aux dispositions énoncées à l'alinéa 3, suivant le cas, des articles 8.X.4. ou 8.X.5. peut interrompre la *surveillance ciblée* tout en conservant son statut indemne au regard de cette *infection*, sous réserve que soient constamment réunies les conditions propices à l'expression clinique de l'infection à *B. salamandrivorans*, comme indiqué au chapitre correspondant du *Manuel aquatique*, ainsi que les *conditions élémentaires de sécurité biologique*.

Toutefois, dans les *zones* ou *compartiments* déclarés indemnes se trouvant dans des pays qui sont infectés, ainsi que dans tous les cas où les conditions ne sont pas propices à l'expression clinique de l'infection à *B. salamandrivorans*, la *surveillance ciblée* doit être poursuivie à un niveau défini par le *Service chargé de la santé des animaux aquatiques* en rapport avec la probabilité d'introduction de l'*infection*.

## Article 8.X.7.

**Importation d'animaux aquatiques ou de produits issus d'animaux aquatiques à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment déclaré indemne d'infection à *B. salamandrivorans***

Lors d'une importation d'*animaux aquatiques* appartenant à une des espèces visées à l'article 8.X.2., ou de *produits issus d'animaux aquatiques* dérivés de ces espèces, à partir d'un pays, d'une *zone* ou d'un *compartiment* déclaré indemne d'infection à *B. salamandrivorans*, l'*Autorité compétente* du *pays importateur* doit exiger que l'envoi soit accompagné d'un *certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques* délivré par l'*Autorité compétente* du *pays exportateur*. Le *certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques* doit attester que le lieu de production des *animaux aquatiques* ou des *produits issus d'animaux aquatiques* est un pays, une *zone* ou un *compartiment* déclaré indemne d'infection à *B. salamandrivorans* sur la base des procédures définies par les articles 8.X.4. ou 8.X.5., selon le cas, et par l'article 8.X.6.

Le *certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques* doit être conforme au modèle reproduit au chapitre 5.11.

Cet article ne s'applique pas aux *produits issus d'animaux aquatiques* énumérés à l'alinéa 1 de l'article 8.X.3.

## Article 8.X.8.

**Importation d'animaux aquatiques à des fins d'aquaculture, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection à *B. salamandrivorans***

Lors de l'importation, à des fins d'*aquaculture*, d'*animaux aquatiques* appartenant à une des espèces visées à l'article 8.X.2. à partir d'un pays, d'une *zone* ou d'un *compartiment* non déclaré indemne d'infection à *B. salamandrivorans*, l'*Autorité compétente* du *pays importateur* doit apprécier le *risque* associé à cette importation conformément au chapitre 2.1. et prendre en considération les mesures de réduction du *risque* figurant aux alinéas 1 et 2 ci-dessous.

- 1) Si l'objectif est le grossissement et la récolte des *animaux aquatiques* importés, il convient d'appliquer les principes suivants :
  - a) la livraison directe et le maintien à vie des *animaux aquatiques* importés dans une installation de *quarantaine*, et
  - b) le traitement de toute l'eau utilisée pour le transport ainsi que de tous les équipements, effluents et déchets afin d'inactiver *B. salamandrivorans* conformément aux chapitres 4.3., 4.7. et 5.5.

OU

- 2) Si l'objectif est l'établissement d'une nouvelle population à des fins d'*aquaculture*, il convient d'appliquer les principes suivants :
  - a) dans le *pays exportateur* :
    - i) identifier les populations sources potentielles et évaluer les données sanitaires des *animaux aquatiques* qui les composent ;
    - ii) tester les populations sources conformément au chapitre 1.4. et sélectionner une population de géniteurs (F-0) d'*animaux aquatiques* présentant un statut sanitaire élevé au regard de l'infection à *B. salamandrivorans* ;

b) dans le pays importateur :

- i) placer la population de géniteurs (F-0) importée dans une installation de *quarantaine* ;
- ii) tester la population F-0 aux fins de la recherche de *B. salamandrivorans* conformément au chapitre 1.4. afin de déterminer si elle constitue une population de géniteurs adéquate ;
- iii) produire une première génération (F-1) en *quarantaine* ;
- iv) élever la population F-1 dans une installation de *quarantaine* où les conditions sont propices à l'expression clinique de *B. salamandrivorans*, et prélever des échantillons et tester la présence de *B. salamandrivorans* chez cette population conformément au chapitre 1.4. du *Code aquatique* et au chapitre 2.1.X. du *Manuel aquatique* ;
- v) si *B. salamandrivorans* n'est pas détecté dans la population F-1, cette dernière pourra être reconnue indemne d'infection à *B. salamandrivorans* et libérée de sa *quarantaine* ;
- vi) si *B. salamandrivorans* est détecté dans la population F-1, cette dernière ne sera pas libérée de sa *quarantaine* et sera tuée puis éliminée dans des conditions de sécurité biologique adéquates.

Article 8.X.9.

**Importation d'animaux aquatiques ou de produits issus d'animaux aquatiques à des fins de transformation ultérieure en vue de la consommation humaine, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection à *B. salamandrivorans***

Lors de l'importation, à des fins de transformation ultérieure en vue de la consommation humaine, d'*animaux aquatiques* appartenant à une des espèces visées à l'article 8.X.2., ou de *produits issus d'animaux aquatiques* dérivés de ces espèces, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection à *B. salamandrivorans*, l'*Autorité compétente* du pays importateur doit apprécier le *risque* associé à cette importation et, si la situation le justifie, exiger :

- 1) la livraison directe du chargement, ainsi que son maintien, dans des installations de *quarantaine* ou d'entreposage jusqu'à ce qu'il soit transformé en l'un des produits énumérés à l'alinéa 1 de l'article 8.X.3. ou à l'alinéa 1 de l'article 8.X.12. ou en l'un des autres produits autorisés par l'*Autorité compétente*, et
- 2) le traitement de l'eau (y compris sous forme de glace) ainsi que de l'ensemble des équipements, *conteneurs* et matériaux d'emballage utilisés lors du transport dans des conditions permettant d'inactiver *B. salamandrivorans* ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3., 4.7. et 5.5., et
- 3) le traitement de tous les effluents et de tous les déchets dans des conditions permettant d'inactiver *B. salamandrivorans* ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3. et 4.7.

Lorsqu'ils l'estiment nécessaire, les États membres peuvent prendre des mesures au niveau national, visant à limiter les *risques* associés à l'utilisation des *animaux aquatiques* ou des *produits issus d'animaux aquatiques* susvisés à des fins autres que la consommation humaine.

Article 8.X.10.

**Importation d'animaux aquatiques ou de produits issus d'animaux aquatiques destinés à des fins autres que la consommation humaine, parmi lesquelles figurent l'alimentation animale, les usages agricoles, industriels ou pharmaceutiques et la recherche, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection à *B. salamandrivorans***

Lors de l'importation d'*animaux aquatiques* appartenant à une des espèces visées à l'article 8.X.2., ou de *produits issus d'animaux aquatiques* dérivés de ces espèces, destinés à des fins autres que la consommation humaine, parmi lesquelles figurent l'alimentation animale, les usages agricoles, industriels ou pharmaceutiques et la recherche, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection à *B. salamandrivorans*, l'*Autorité compétente* du pays importateur doit exiger :

- 1) la livraison directe du chargement, ainsi que son maintien, dans des installations de *quarantaine* ou d'entreposage jusqu'à ce qu'il soit transformé en l'un des produits énumérés à l'alinéa 1 de l'article 8.X.3. ou en l'un des produits autorisés par l'*Autorité compétente*, et
- 2) le traitement de l'eau (y compris sous forme de glace) ainsi que de l'ensemble des équipements, *conteneurs* et matériaux d'emballage utilisés lors du transport dans des conditions permettant d'inactiver *B. salamandrivorans* ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3., 4.7. et 5.5., et

Annexe 9A (suite)

- 3) le traitement de tous les effluents et de tous les déchets dans des conditions permettant d'inactiver *B. salamandrivorans* ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3. et 4.7.

Article 8.X.11.

**Importation d'animaux aquatiques destinés à des laboratoires ou à des établissements zoologiques à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection à *B. salamandrivorans***

Lors d'une importation d'*animaux aquatiques* appartenant à une des espèces visées à l'article 8.X.2. qui sont destinés à des laboratoires ou à des établissements zoologiques à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection à *B. salamandrivorans*, l'*Autorité compétente* du pays importateur doit veiller :

- 1) à leur livraison directe, ainsi qu'à leur maintien à vie, dans des installations de *quarantaine* agréées par l'*Autorité compétente*, et
- 2) au traitement de l'eau (y compris sous forme de glace) ainsi que de l'ensemble des équipements, *conteneurs* et matériaux d'emballage utilisés lors du transport dans des conditions permettant d'inactiver *B. salamandrivorans* ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3., 4.7. et 5.5., et
- 3) au traitement de tous les effluents et déchets issus des installations de *quarantaine* des laboratoires ou des établissements zoologiques dans des conditions permettant d'inactiver *B. salamandrivorans* ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3. et 4.7., et
- 4) à l'élimination des cadavres conformément au chapitre 4.7.

Article 8.X.12.

**Importation (ou transit par le territoire) de produits issus d'animaux aquatiques pour la vente au détail de marchandises destinées à la consommation humaine, indépendamment du statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection à *B. salamandrivorans***

- 1) Quel que soit le statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection à *B. salamandrivorans*, les *Autorités compétentes* ne doivent imposer aucune condition liée à *B. salamandrivorans* quand elles autorisent l'importation (ou le transit par leur territoire) de chair d'amphibien (sans la peau, fraîche ou à l'état congelé) qui a été préparée et emballée pour la vente au détail lorsqu'elle satisfait aux conditions requises à l'article 5.4.2.

Certaines hypothèses ont été posées concernant l'appréciation de la sécurité sanitaire des *produits issus d'animaux aquatiques* susvisés. Les États membres doivent donc se référer à ces hypothèses, figurant à l'article 5.4.2., et estimer si ces dernières s'appliquent à leur situation.

Lorsqu'ils l'estiment nécessaire, les États membres peuvent prendre des mesures au niveau national, visant à limiter les *risques* associés à l'utilisation des *produits issus d'animaux aquatiques* susvisés à des fins autres que la consommation humaine.

- 2) Lors d'une importation de *produits issus d'animaux aquatiques* appartenant à une des espèces visées à l'article 8.X.2., à l'exclusion de ceux énumérés à l'alinéa 1 qui précède, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection à *B. salamandrivorans*, l'*Autorité compétente* du pays importateur doit apprécier le *risque* associé à cette importation et appliquer des mesures appropriées visant à réduire ce *risque*.

## CHAPITRE 8.1.

INFECTION À *BATRACHOCHYTRIUM DENDROBATIDIS*

## Article 8.1.1.

Aux fins de l'application du *Code aquatique*, l'expression « infection à *Batrachochytrium dendrobatidis* » désigne une infection causée par un champignon d'eau douce dénommé *Batrachochytrium dendrobatidis*. Il s'agit d'un agent pathogène appartenant ~~à la classe des Chytridiomycota et à l'ordre des Rhizophydiales.~~ Ce champignon est classé parmi les espèces au règne Fungi, à la classe des Chytridiomycota et à l'ordre des Rhizophydiales.

Le *Manuel aquatique* contient des informations sur les méthodes de *diagnostic*.

## Article 8.1.2.

## Champ d'application

Les recommandations de ce chapitre s'appliquent à toutes les espèces d'*Anura* (grenouilles et crapauds), de *Caudata* (salamandres, tritons et sirènes) et de *Gymnophiona* (caeciliens). Ces recommandations concernent également toutes les autres espèces sensibles visées dans le *Manuel aquatique* lorsqu'elles font l'objet d'échanges internationaux.

## Article 8.1.3.

**Importation, ou transit par le territoire, d'animaux aquatiques et de produits issus d'animaux aquatiques indépendamment de l'usage auquel ils sont destinés et du statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection à *B. dendrobatidis***

- 1) Quel que soit le statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection à *B. dendrobatidis*, les Autorités compétentes ne doivent imposer aucune condition liée à ~~cette infection *B. dendrobatidis*~~ quand elles autorisent, pour quelque usage que ce soit, l'importation, ou le transit par leur territoire, des produits issus d'animaux aquatiques énumérés ci-dessous lorsqu'il s'agit d'une espèce visée à l'article 8.1.2. et que ces produits satisfont aux conditions requises à l'article 5.4.1. :
  - a) produits à base d'amphibiens stérilisés par la chaleur (c'est-à-dire exposés à une température de 121 °C pendant au moins 3,6 minutes ou à toute combinaison de température et de temps équivalente dont l'équivalence a été démontrée en termes d'inactivation de *B. dendrobatidis*) et présentés en conditionnement hermétique ;
  - b) produits cuits à base d'amphibiens ayant subi un traitement thermique à 100 °C pendant au moins une minute ou à toute combinaison de température et de temps dont l'équivalence a été démontrée en termes d'inactivation de *B. dendrobatidis* ;
  - c) produits pasteurisés à base d'amphibiens ayant subi un traitement thermique à 90 °C pendant au moins dix minutes ou à toute combinaison de température et de temps dont l'équivalence a été démontrée en termes d'inactivation de *B. dendrobatidis* ;
  - d) produits séchés par un procédé mécanique à base d'amphibiens ayant subi un traitement thermique à 100 °C pendant au moins 30 minutes ou à toute combinaison de température et de temps dont l'équivalence a été démontrée en termes d'inactivation de *B. dendrobatidis* ;
  - e) cuir élaboré à partir de peau d'amphibien.
- 2) Lorsque les Autorités compétentes autorisent l'importation, ou le transit par leur territoire, ~~d'animaux aquatiques ou de produits issus d'animaux aquatiques~~ appartenant à une des espèces visées à l'article 8.1.2. autres que ceux énumérés à l'alinéa 1 de l'article 8.1.3., elles doivent imposer le respect des conditions requises aux articles 8.1.7. à 8.1.12. en fonction du statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection à *B. dendrobatidis*.

## Annexe 9B (suite)

- 3) L'Autorité compétente doit procéder à une *analyse des risques* conformément aux recommandations figurant au chapitre 2.1. lorsqu'elle envisage l'importation ou le transit par son ~~territoire d'animaux aquatiques~~ ou de *produits issus d'animaux aquatiques* appartenant à une espèce non visée à l'article 8.1.2., mais dont on peut raisonnablement s'attendre à ce qu'ils posent un *risque* en termes de ~~propagation~~ transmission de l'~~infection~~ à *B. dendrobatidis*. L'Autorité compétente du pays exportateur doit être tenue informée du résultat de cette analyse.

## Article 8.1.4.

**Pays indemne d'infection à *B. dendrobatidis***

En cas de partage d'une zone avec un ou plusieurs autres pays, un pays ne peut déposer une *auto-déclaration d'absence* d'infection à *B. dendrobatidis* que si tous les secteurs couverts par ~~la zone des étendues d'eaux partagées~~ sont déclarés pays ou zone indemnes de cette *infection* (voir article 8.1.5.).

Comme indiqué à l'article 1.4.6., un pays peut déposer une *auto-déclaration d'absence* d'infection à *B. dendrobatidis* si :

- 1) aucune des *espèces sensibles* visées à l'article 8.1.2. n'est présente et les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins deux ans ;

OU

- 2) l'une quelconque des *espèces sensibles* visées à l'article 8.1.2. est présente, mais les conditions suivantes sont remplies :

- a) ~~aucune présence de la maladie n'a été observée~~ aucune infection à *B. dendrobatidis* n'est apparue depuis au moins dix ans malgré l'existence de conditions propices à son expression clinique (comme indiqué au chapitre correspondant du *Manuel aquatique*), et
- b) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins dix ans ;

OU

- 3) le statut sanitaire au regard de ~~la maladie~~ l'infection à *B. dendrobatidis* n'était pas inconnu avant la mise en œuvre de la *surveillance ciblée*, mais les conditions suivantes sont remplies :

- a) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins deux ans, et
- b) ~~une~~ la surveillance ciblée, telle qu'elle est décrite ~~comme indiqué~~ au chapitre 1.4., est mise en œuvre depuis au moins deux ans sans que ~~aucune infection à *B. dendrobatidis* ait été détecté~~ ;

OU

- 4) ce pays, après avoir déposé une *auto-déclaration d'absence* d'infection à *B. dendrobatidis*, a perdu son statut indemne ~~de maladie~~ par suite de la détection d'une telle *infection agent*, mais les conditions suivantes sont remplies :

- a) dès la détection de *B. dendrobatidis* ~~la maladie~~, le secteur touché a été déclaré *zone infectée* et une *zone de protection* a été établie, et
- b) les populations de la zone infectée touchées par l'infection infectées ont été ~~détruites ou abattues et~~ éliminées ~~de la zone infectée~~ par un moyen réduisant autant que possible ~~le risque la probabilité~~ de nouvelle ~~propagation de la maladie~~ transmission de *B. dendrobatidis*, et des opérations de *désinfection* appropriées (comme indiqué au chapitre 4.3.) ont été réalisées, et

- c) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* existant antérieurement ont été réexaminées, et sont en place sans discontinuer, avec les modifications éventuellement nécessaires, depuis l'éradication de ~~la maladie~~ l'infection à *B. dendrobatidis*, et
- d) ~~une~~ la surveillance ciblée, telle qu'elle est décrite ~~comme indiqué~~ au chapitre 1.4., est mise en œuvre depuis au moins deux ans sans ~~qu'aucune infection à~~ que *B. dendrobatidis* ait été détecté.

Entre-temps, tout ou partie du secteur non touché peut être déclaré zone indemne, pour autant que les conditions requises à l'alinéa 3 de l'article 8.1.5. soient satisfaites.

#### Article 8.1.5.

#### Compartiment ou zone indemne d'infection à *B. dendrobatidis*

En cas d'extension au-delà des frontières d'un pays, un *compartiment* ou une *zone* ne peut être déclaré indemne d'infection à *B. dendrobatidis* que si l'ensemble des *Autorités compétentes* concernées confirment que toutes les conditions voulues sont remplies.

Comme indiqué à l'article 1.4.6., un *compartiment* ou une *zone* situé sur le *territoire* d'un pays ou de plusieurs pays non déclarés indemnes d'infection à *B. dendrobatidis* peut être déclaré indemne de cette *infection* par l'*Autorité compétente* ~~de ce~~ du pays ou de l'ensemble des pays concernés si ~~ou par l'ensemble des~~ *Autorités compétentes* concernées :

- 1) aucune des *espèces sensibles* visées à l'article 8.1.2. n'est présente dans le *compartiment* ou la *zone* et les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins deux ans ;

OU

- 2) l'une quelconque des *espèces sensibles* visées à l'article 8.1.2. est présente dans le *compartiment* ou la *zone*, mais les conditions suivantes sont remplies :

- a) ~~aucune présence de la maladie n'a été observée~~ aucune infection à *B. dendrobatidis* n'est apparue depuis au moins dix ans malgré l'existence de conditions propices à son expression clinique (comme indiqué au chapitre correspondant du *Manuel aquatique*), et
- b) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins dix ans ;

OU

- 3) le statut sanitaire au regard ~~de la maladie~~ de l'infection à *B. dendrobatidis* n'était pas inconnu avant la mise en œuvre de la *surveillance ciblée*, mais les conditions suivantes sont remplies :

- a) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins deux ans, et
- b) ~~une~~ la surveillance ciblée, telle qu'elle est décrite ~~comme indiqué~~ au chapitre 1.4., est mise en œuvre dans le *compartiment* ou la *zone* depuis au moins deux ans sans ~~qu'aucune infection à~~ que *B. dendrobatidis* ait été détecté ;

OU

- 4) le pays, après avoir déposé une *auto-déclaration d'absence* d'infection à *B. dendrobatidis* pour une *zone*, a perdu son statut indemne ~~de maladie~~ par suite de la détection d'une telle *infection agent* dans cette *zone*, mais les conditions suivantes sont remplies :

- a) dès la détection ~~de *B. dendrobatidis* de la maladie~~, le secteur touché a été déclaré *zone infectée* et une *zone de protection* a été établie, et

## Annexe 9B (suite)

- b) les populations ~~de la zone infectée touchées par l'infection infectées~~ ont été détruites ou abattues et éliminées ~~de la zone infectée~~ par un moyen réduisant autant que possible le ~~risque la probabilité~~ de nouvelle propagation de la ~~maladie~~ transmission de *B. dendrobatidis*, et des opérations de désinfection appropriées (comme indiqué au chapitre 4.3.) ont été réalisées, et
- c) les conditions élémentaires de sécurité biologique existant antérieurement ont été réexaminées, et sont en place sans discontinuer, avec les modifications éventuellement nécessaires, depuis l'éradication de ~~la maladie~~ l'infection à *B. dendrobatidis*, et
- d) ~~une~~ la surveillance ciblée, telle qu'elle est décrite ~~comme indiqué~~ au chapitre 1.4., est mise en œuvre depuis au moins deux ans sans que ~~aucune infection à *B. dendrobatidis* ait été détecté.~~

Article 8.1.6.

#### Maintien du statut indemne d'infection à *B. dendrobatidis*

Un pays, une *zone* ou un *compartiment* déclaré indemne d'infection à *B. dendrobatidis* conformément aux dispositions énoncées aux alinéas 1 ou 2, suivant le cas, des articles 8.1.4. ou 8.1.5. peut conserver son statut indemne au regard de cette *infection*, sous réserve que les conditions élémentaires de sécurité biologique soient constamment maintenues.

Un pays, une *zone* ou un *compartiment* déclaré indemne d'infection à *B. dendrobatidis* conformément aux dispositions énoncées à l'alinéa 3, suivant le cas, des articles 8.1.4. ou 8.1.5. peut interrompre la surveillance ciblée tout en conservant son statut indemne au regard de cette *infection*, sous réserve que soient constamment réunies les conditions propices à l'expression clinique de l'infection à *B. dendrobatidis*, comme indiqué au chapitre correspondant du *Manuel aquatique*, ~~soient réunies~~ ainsi que les conditions élémentaires de sécurité biologique.

Toutefois, dans les *zones* ou *compartiments* déclarés indemnes ~~d'infection à *B. dendrobatidis*~~ se trouvant dans des pays qui ~~en~~ sont infectés, ainsi que dans tous les cas où les conditions ne sont pas propices à l'expression clinique de l'infection à *B. dendrobatidis*, la surveillance ciblée doit être poursuivie à un niveau défini par le *Service chargé de la santé des animaux aquatiques* en rapport avec la probabilité d'introduction de l'*infection*.

Article 8.1.7.

#### Importation d'animaux aquatiques ~~et~~ ou de produits issus d'animaux aquatiques à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment déclaré indemne d'infection à *B. dendrobatidis*

Lors d'une importation d'*animaux aquatiques* appartenant à une des espèces visées à l'article 8.1.2., ou et de produits issus d'animaux aquatiques dérivés de ces espèces, à partir d'un pays, d'une *zone* ou d'un *compartiment* déclaré indemne d'infection à *B. dendrobatidis*, l'*Autorité compétente* du *pays importateur* doit exiger que l'envoi soit accompagné d'un certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques délivré par l'*Autorité compétente* du *pays exportateur*, ~~ou par un agent certificateur agréé par le pays importateur, et attestant~~. Le certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques doit attester que le lieu de production des *animaux aquatiques* ~~ou~~ et des *produits issus d'animaux aquatiques* est un pays, une *zone* ou un *compartiment* déclaré indemne d'infection à *B. dendrobatidis* ~~selon les~~ sur la base des procédures définies par les articles 8.1.4. ou 8.1.5., selon le cas, et par l'article 8.1.6.

Ce Le certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques doit être conforme au modèle reproduit au chapitre 5.11.

Cet article ne s'applique pas aux ~~marchandises~~ produits issus d'animaux aquatiques énumérées à l'alinéa 1 de l'article 8.1.3.

Article 8.1.8.

#### Importation d'animaux aquatiques à des fins d'aquaculture, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection à *B. dendrobatidis*

Lors de l'importation, à des fins d'*aquaculture*, d'*animaux aquatiques* appartenant à une des espèces visées à l'article 8.1.2. à partir d'un pays, d'une *zone* ou d'un *compartiment* non déclaré indemne d'infection à *B. dendrobatidis*, l'*Autorité compétente* du *pays importateur* doit apprécier le risque associé au ~~type de marchandise~~ susvisé à cette importation conformément au chapitre 2.1. et prendre en considération les mesures de réduction du risque figurant aux alinéas 1 et 2 ci-dessous.

- 1) Si l'objectif est le grossissement et la récolte des *animaux aquatiques* importés, il convient d'appliquer les principes suivants :
  - a) la livraison directe et le maintien à vie des *animaux aquatiques* importés dans une installation de *quarantaine*, et
  - b) le traitement de toute l'eau utilisée pour le transport ainsi que de tous les équipements, effluents et déchets afin d'inactiver toute l'eau de transport, de tout l'équipement, de tous les effluents et de tous les déchets *B. dendrobatidis* conformément aux chapitres 4.3., 4.7. et 5.5.

OU

- 2) Si l'objectif est l'établissement d'une nouvelle population à des fins d'*aquaculture*, il convient d'appliquer les principes suivants :
  - a) dans le *pays exportateur* :
    - i) identifier les populations sources potentielles et évaluer les données sanitaires des *animaux aquatiques* qui les composent ;
    - ii) tester les populations sources conformément au chapitre 1.4. et sélectionner une population de géniteurs (F-0) d'*animaux aquatiques* présentant un statut sanitaire élevé au regard de l'infection à *B. dendrobatidis* ;
  - b) dans le *pays importateur* :
    - i) placer la population de géniteurs (F-0) importée dans une installation de *quarantaine* ;
    - ii) tester la population F-0 aux fins de la recherche de *B. dendrobatidis* conformément au chapitre 1.4. afin de déterminer si elle constitue une population de géniteurs adéquate ;
    - iii) produire une première génération (F-1) en *quarantaine* ;
    - iv) élever la population F-1 dans une installation de *quarantaine* où les conditions sont propices à l'expression clinique de ~~l'infection à *B. dendrobatidis* (tels qu'ils sont décrits au chapitre 2.1.1. du Manuel aquatique)~~, et prélever des échantillons et tester la présence de *B. dendrobatidis* chez cette population conformément au chapitre 1.4. du Code aquatique et au chapitre 2.1.1. du Manuel aquatique ;
    - v) si *B. dendrobatidis* n'est pas détecté dans la population F-1, cette dernière pourra être reconnue indemne d'infection à *B. dendrobatidis* et libérée de sa *quarantaine* ;
    - vi) si *B. dendrobatidis* est détecté dans la population F-1, cette dernière ne sera pas libérée de sa *quarantaine* et sera tuée puis éliminée dans des conditions de sécurité biologique adéquates.

Article 8.1.9.

**Importation d'animaux aquatiques et ou de produits issus d'animaux aquatiques à des fins de transformation ultérieure en vue de la consommation humaine, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection à *B. dendrobatidis***

Lors de l'importation, à des fins de transformation ultérieure en vue de la consommation humaine, d'*animaux aquatiques* appartenant à une des espèces visées à l'article 8.1.2., ou et de produits issus d'animaux aquatiques dérivés de ces espèces, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection à *B. dendrobatidis*, l'*Autorité compétente* du *pays importateur* doit apprécier le risque associé à ce type de marchandise à cette importation et, si la situation le justifie, exiger :

- 1) la livraison directe du chargement, ainsi que et son maintien entreposage, dans des installations de *quarantaine* ou d'entreposage biosécurisées jusqu'au moment de sa transformation soit à ce qu'il soit transformé en l'un des produits énumérés à l'alinéa 1 de l'article 8.1.3. ou soit en l'un des produits mentionnés à l'alinéa 1 de l'article 8.1.12., soit ou en l'un des autres produits autorisés par l'*Autorité compétente*, et
- 2) le traitement de l'eau de transport et celui de tous les effluents et déchets résultant des opérations de transformation de l'eau (y compris sous forme de glace) ainsi que de l'ensemble des équipements, conteneurs et matériaux d'emballage utilisés lors du transport dans des conditions permettant d'inactiver *B. dendrobatidis* ou de les éliminer de manière à empêcher leur contact avec des espèces sensibles. biosécurisée conformément aux chapitres 4.3., 4.7. et 5.5., et

## Annexe 9B (suite)

- 3) le traitement de tous les effluents et de tous les déchets dans des conditions permettant d'inactiver *B. dendrobatidis* ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3. et 4.7.

Lorsqu'ils l'estiment nécessaire, les États membres peuvent prendre des mesures au niveau national, visant à limiter les risques associés à l'utilisation ~~du type de marchandise~~ des animaux aquatiques ou des produits issus d'animaux aquatiques susvisés à des fins autres que la consommation humaine.

Article 8.1.10.

**Importation d'animaux aquatiques ou de produits issus d'animaux aquatiques appelés à entrer dans la composition d'aliments pour animaux ou destinés à des fins autres que la consommation humaine, parmi lesquelles figurent l'alimentation animale, les usages agricoles, industriels ou pharmaceutiques et la recherche, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection à *B. dendrobatidis***

Lors de l'importation d'*animaux aquatiques* appartenant à une des espèces visées à l'article 8.1.2., ou de produits issus d'animaux aquatiques dérivés de ces espèces, destinés à des fins autres que la consommation humaine, parmi lesquelles figurent l'alimentation animale, les usages agricoles, industriels ou pharmaceutiques et la recherche, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection à *B. dendrobatidis*, l'Autorité compétente du pays importateur doit exiger :

- 1) la livraison directe du chargement, ainsi que son maintien, et son entreposage dans des installations de quarantaine ou d'entreposage jusqu'à ce qu'il soit transformé en l'un des produits énumérés à l'alinéa 1 de l'article 8.1.3. ou en l'un des produits autorisés par la vue de leur abattage et de leur transformation en produits autorisés par l'Autorité compétente, et
- 2) le traitement de l'eau et de l'équipement utilisés pour le transport et celui de tous les effluents et déchets produits dans les installations dédiées à la transformation, dans des conditions permettant d'inactiver *B. dendrobatidis* de l'eau (y compris sous forme de glace) ainsi que de l'ensemble des équipements, conteneurs et matériaux d'emballage utilisés lors du transport dans des conditions permettant d'inactiver *B. dendrobatidis* ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3., 4.7. et 5.5., et
- 3) le traitement de tous les effluents et de tous les déchets dans des conditions permettant d'inactiver *B. dendrobatidis* ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3. et 4.7.

Cet article ne s'applique pas aux marchandises énumérées à l'alinéa 1 de l'article 8.1.3.

Article 8.1.11.

**Importation d'animaux aquatiques destinés à des laboratoires ou à des établissements zoologiques à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection à *B. dendrobatidis***

Lors d'une importation d'*animaux aquatiques* appartenant à une des espèces visées à l'article 8.1.2. qui sont destinés à des laboratoires ou à des établissements zoologiques à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection à *B. dendrobatidis*, l'Autorité compétente du pays importateur doit veiller :

- 1) à leur livraison directe, ainsi qu' ~~et~~ à leur maintien à vie, dans des installations de *quarantaine* agréées par l'Autorité compétente, et
- 2) au traitement de l'eau et de l'équipement utilisés pour le transport ainsi qu'à celui de tous les effluents et de tous les déchets, (y compris sous forme de glace) ainsi que de l'ensemble des équipements, conteneurs et matériaux d'emballage utilisés lors du transport dans des conditions permettant d'inactiver *B. dendrobatidis* ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3., 4.7. et 5.5., et
- 3) au traitement de tous les effluents et déchets issus des installations de *quarantaine* des laboratoires ou des établissements zoologiques dans des conditions permettant d'inactiver *B. dendrobatidis* ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3. et 4.7., et
- 4) à l'élimination des cadavres conformément au chapitre 4.7.

## Article 8.1.12.

**Importation (ou transit par le territoire) d'animaux aquatiques et de produits issus d'animaux aquatiques pour la vente au détail de marchandises destinées à la consommation humaine, indépendamment du statut sanitaire du à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'exportation au regard de l'infection à *B. dendrobatidis***

- 1) Quel que soit le statut sanitaire du pays, de la zone ou du *compartiment* d'exportation au regard de l'infection à *B. dendrobatidis*, les *Autorités compétentes* ne doivent imposer aucune condition liée à ~~cette infection~~ *B. dendrobatidis* quand elles autorisent l'importation (ou le transit par leur *territoire*) de chair d'amphibien (sans la peau, fraîche ou à l'état congelé) qui a été préparée et emballée pour la vente au détail lorsqu'elle satisfait aux conditions requises à l'article 5.4.2.

Certaines hypothèses ont été posées concernant l'appréciation de la sécurité sanitaire des *produits issus d'animaux aquatiques* susvisés. Les États membres doivent donc se référer à ces hypothèses, figurant à l'article 5.4.2., et estimer si ces dernières s'appliquent à leur situation.

Lorsqu'ils l'estiment nécessaire, les États membres peuvent prendre des mesures au niveau national, visant à limiter les *risques* associés à l'utilisation des *produits issus d'animaux aquatiques* susvisés à des fins autres que la consommation humaine.

- 2) Lors d'une importation ~~d'animaux aquatiques et de produits issus d'animaux aquatiques~~ appartenant à une des espèces visées à l'article 8.1.2., à l'exclusion de ceux énumérés à l'alinéa 1 qui précède, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un *compartiment* non déclaré indemne d'infection à *B. dendrobatidis*, l'*Autorité compétente* du *pays importateur* doit apprécier le *risque* associé ~~au type de marchandise susvisé~~ à cette importation et appliquer des mesures appropriées visant à réduire ce *risque*.



## CHAPITRE 8.2.

# INFECTION À RANAVIRUS

### Article 8.2.1.

Aux fins de l'application du *Code aquatique*, l'expression « infection à ranavirus » désigne une *infection* causée par les espèces de virus du genre *Ranavirus* appartenant à la famille des Iridoviridae, exception faite pour le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique et le virus du poisson-chat européen.

Le *Manuel aquatique* contient des informations sur les méthodes de *diagnostic*.

### Article 8.2.2.

#### Champ d'application

Les recommandations de ce chapitre s'appliquent à toutes les espèces d'*Anura* (grenouilles et crapauds) et de *Caudata* (salamandres et tritons). Ces recommandations concernent également toutes les autres *espèces sensibles* visées dans le *Manuel aquatique* lorsqu'elles font l'objet d'*échanges internationaux*.

### Article 8.2.3.

**Importation, ou transit ~~par le territoire, d'animaux aquatiques~~ et de produits issus d'animaux aquatiques indépendamment de l'usage auquel ils sont destinés et du statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection à ranavirus**

- 1) Quel que soit le statut sanitaire du pays, de la *zone* ou du *compartiment* d'exportation au regard de l'infection à ranavirus, les *Autorités compétentes* ne doivent imposer aucune condition liée à ~~cette infection aux ranavirus~~ quand elles autorisent, pour quelque usage que ce soit, l'importation, ou le transit par leur *territoire*, des *produits issus d'animaux aquatiques* énumérés ci-dessous lorsqu'il s'agit d'une espèce visée à l'article 8.2.2. et que ces produits satisfont aux conditions requises à l'article 5.4.1. :
  - a) produits à base d'amphibiens stérilisés par la chaleur (c'est-à-dire exposés à une température de 121 °C pendant au moins 3,6 minutes ou à toute combinaison de température et de temps équivalente dont l'équivalence a été démontrée en termes d'inactivation de *B. dendrobatidis*) et présentés en conditionnement hermétique ;
  - b) produits cuits à base d'amphibiens ayant subi un traitement thermique à 100 °C pendant au moins une minute ou à toute combinaison de température et de temps dont l'équivalence a été démontrée en termes d'inactivation des ranavirus ;
  - c) produits pasteurisés à base d'amphibiens ayant subi un traitement thermique à 90 °C pendant au moins dix minutes ou à toute combinaison de température et de temps dont l'équivalence a été démontrée en termes d'inactivation des ranavirus ;
  - d) produits séchés par un procédé mécanique à base d'amphibiens ayant subi un traitement thermique à 100 °C pendant au moins 30 minutes ou à toute combinaison de température et de temps dont l'équivalence a été démontrée en termes d'inactivation des ranavirus ;
  - e) cuir élaboré à partir de peau d'amphibien.
- 2) Lorsque les *Autorités compétentes* autorisent l'importation, ou le transit par leur *territoire*, ~~d'animaux aquatiques~~ ou de *produits issus d'animaux aquatiques* appartenant à une des espèces visées à l'article 8.2.2. autres que ceux énumérés à l'alinéa 1 de l'article 8.2.3., elles doivent imposer le respect des conditions requises aux articles 8.2.7. à 8.2.12. en fonction du statut sanitaire du pays, de la *zone* ou du *compartiment* d'exportation au regard de l'infection à ranavirus.

Annexe 9C (suite)

- 3) L'*Autorité compétente* doit procéder à une *analyse des risques* conformément aux recommandations figurant au chapitre 2.1. lorsqu'elle envisage l'importation ou le transit par son ~~territoire d'animaux aquatiques~~ ou de *produits issus d'animaux aquatiques* appartenant à une espèce non visée à l'article 8.2.2., mais dont on peut raisonnablement s'attendre à ce qu'ils posent un *risque* en termes de ~~propagation~~ transmission des ~~l'infection~~ à ranavirus. L'*Autorité compétente* du *pays exportateur* doit être tenue informée du résultat de cette analyse.

## Article 8.2.4.

**Pays indemne d'infection à ranavirus**

En cas de partage d'une *zone* avec un ou plusieurs autres pays, un pays ne peut déposer une *auto-déclaration d'absence* d'infection à ranavirus que si tous les secteurs couverts par ~~la zone des étendues d'eaux partagées~~ sont déclarés pays ou zone indemnes de cette *infection* (voir article 8.2.5.).

Comme indiqué à l'article 1.4.6., un pays peut déposer une *auto-déclaration d'absence* d'infection à ranavirus si :

- 1) aucune des *espèces sensibles* visées à l'article 8.2.2. n'est présente et les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins deux ans ;

OU

- 2) l'une quelconque des *espèces sensibles* visées à l'article 8.2.2. est présente, mais les conditions suivantes sont remplies :

- a) ~~aucune présence de la maladie n'a été observée~~ aucune infection à ranavirus n'est apparue depuis au moins dix ans malgré l'existence de conditions propices à son expression clinique (comme indiqué au chapitre correspondant du *Manuel aquatique*), et
- b) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins dix ans ;

OU

- 3) le statut sanitaire au regard de ~~la maladie~~ l'infection à ranavirus n'était pas inconnu avant la mise en œuvre de la *surveillance ciblée*, mais les conditions suivantes sont remplies :

- a) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins deux ans, et
- b) ~~une~~ la surveillance ciblée, telle qu'elle est décrite comme indiqué au chapitre 1.4., est mise en œuvre depuis au moins deux ans sans que la présence ~~aucune infection~~ à de ranavirus ait été décelée ;

OU

- 4) ce pays, après avoir déposé une *auto-déclaration d'absence* d'infection à ranavirus, a perdu son statut indemne ~~de maladie~~ par suite de la détection d'une telle ~~infection~~ agent, mais les conditions suivantes sont remplies :

- a) dès la détection d'un ranavirus ~~la maladie~~, le secteur touché a été déclaré *zone infectée* et une *zone de protection* a été établie, et
- b) les populations de la zone infectée touchées par l'infection ~~infectées~~ ont été ~~détruites ou abattues et~~ éliminées ~~de la zone infectée~~ par un moyen réduisant autant que possible ~~le risque~~ la probabilité de nouvelle ~~propagation de la maladie~~ transmission des ranavirus, et des opérations de *désinfection* appropriées (comme indiqué au chapitre 4.3.) ont été réalisées, et

- c) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* existant antérieurement ont été réexaminées, et sont en place sans discontinuer, avec les modifications éventuellement nécessaires, depuis l'éradication de ~~la maladie~~ l'infection à ranavirus, et
- d) ~~une la surveillance ciblée, telle qu'elle est décrite~~ comme indiqué au chapitre 1.4., est mise en œuvre depuis au moins deux ans sans ~~qu'aucune infection à que des~~ ranavirus aient été détectés.

Entre-temps, tout ou partie du secteur non touché peut être déclaré *zone indemne*, pour autant que les conditions requises à l'alinéa 3 de l'article 8.1.5. soient satisfaites.

#### Article 8.2.5.

#### Compartiment ou zone indemne d'infection à ranavirus

En cas d'extension au-delà des frontières d'un pays, un *compartiment* ou une *zone* ne peut être déclaré indemne d'infection à ranavirus que si l'ensemble des *Autorités compétentes* concernées confirment que toutes les conditions voulues sont remplies.

Comme indiqué à l'article 1.4.6., un *compartiment* ou une *zone* situé sur le *territoire* d'un pays ou de plusieurs pays non déclarés indemnes d'infection à ranavirus peut être déclaré indemne de cette *infection* par l'*Autorité compétente* ~~de ce~~ du pays ou de l'ensemble des pays concernés si ~~ou par l'ensemble des Autorités compétentes concernées~~ :

- 1) aucune des *espèces sensibles* visées à l'article 8.2.2. n'est présente dans le *compartiment* ou la *zone* et les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins deux ans ;

OU

- 2) l'une quelconque des *espèces sensibles* visées à l'article 8.2.2. est présente dans le *compartiment* ou la *zone*, mais les conditions suivantes sont remplies :

- a) ~~aucune présence de la maladie n'a été observée~~ aucune infection à ranavirus n'est apparue depuis au moins dix ans malgré l'existence de conditions propices à son expression clinique (comme indiqué au chapitre correspondant du *Manuel aquatique*), et
- b) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins dix ans ;

OU

- 3) le statut sanitaire au regard de ~~la maladie~~ l'infection à ranavirus n'était pas inconnu avant la mise en œuvre de la *surveillance ciblée*, mais les conditions suivantes sont remplies :

- a) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins deux ans, et
- b) ~~une la surveillance ciblée, telle qu'elle est décrite~~ comme indiqué au chapitre 1.4., est mise en œuvre dans le *compartiment* ou la *zone* depuis au moins deux ans sans ~~qu'aucune infection à que des~~ ranavirus aient été détectés ;

OU

- 4) le pays, après avoir déposé une *auto-déclaration d'absence* d'infection à ranavirus pour une *zone*, a perdu son statut indemne ~~de maladie~~ par suite de la détection d'une telle *infection agent* dans cette *zone*, mais les conditions suivantes sont remplies :

- a) dès la détection d'un ranavirus de la maladie, le secteur touché a été déclaré *zone infectée* et une *zone de protection* a été établie, et

## Annexe 9C (suite)

- b) les populations ~~de la zone infectée~~ touchées par l'~~infection infectée~~ ont été ~~détruites ou abattues et~~ éliminées ~~de la zone infectée~~ par un moyen réduisant autant que possible le ~~risque la probabilité~~ de nouvelle ~~propagation de la maladie~~ transmission des ranavirus, et des opérations de désinfection appropriées (comme indiqué au chapitre 4.3.) ont été réalisées, et
- c) les conditions élémentaires de sécurité biologique existant antérieurement ont été réexaminées, et sont en place sans discontinuer, avec les modifications éventuellement nécessaires, depuis l'éradication de ~~la maladie~~ l'infection à ranavirus, et
- d) ~~une~~ la surveillance ciblée, telle qu'elle est décrite ~~comme~~ indiqué au chapitre 1.4., est mise en œuvre depuis au moins deux ans sans que des ~~aucune~~ infection à ranavirus aient été détectés.

Article 8.2.6.

#### Maintien du statut indemne d'infection à ranavirus

Un pays, une *zone* ou un *compartiment* déclaré indemne d'infection à ranavirus conformément aux dispositions énoncées aux alinéas 1 ou 2, suivant le cas, des articles 8.2.4. ou 8.2.5. peut conserver son statut indemne au regard de cette *infection*, sous réserve que les conditions élémentaires de sécurité biologique soient constamment maintenues.

Un pays, une *zone* ou un *compartiment* déclaré indemne d'infection à ranavirus conformément aux dispositions énoncées à l'alinéa 3, suivant le cas, des articles 8.2.4. ou 8.2.5. peut interrompre la surveillance ciblée tout en conservant son statut indemne au regard de cette *infection*, sous réserve que soient constamment réunies les conditions propices à l'expression clinique de l'infection à ranavirus, comme indiqué au chapitre correspondant du *Manuel aquatique*, ~~soient réunies ainsi~~ que les conditions élémentaires de sécurité biologique.

Toutefois, dans les *zones* ou *compartiments* déclarés indemnes ~~d'infection à B. dendrobatidis~~ se trouvant dans des pays qui ~~en~~ sont infectés, ainsi que dans tous les cas où les conditions ne sont pas propices à l'expression clinique de l'infection à ranavirus, la surveillance ciblée doit être poursuivie à un niveau défini par le *Service chargé de la santé des animaux aquatiques* en rapport avec la probabilité d'introduction de l'*infection*.

Article 8.2.7.

#### Importation d'animaux aquatiques et ou de produits issus d'animaux aquatiques à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment déclaré indemne d'infection à ranavirus

Lors d'une importation d'*animaux aquatiques* appartenant à une des espèces visées à l'article 8.2.2., ou et de *produits issus d'animaux aquatiques* dérivés de ces espèces, à partir d'un pays, d'une *zone* ou d'un *compartiment* déclaré indemne d'infection à ranavirus, l'*Autorité compétente* du *pays importateur* doit exiger que l'envoi soit accompagné d'un certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques délivré par l'*Autorité compétente* du *pays exportateur*, ~~ou par un agent certificateur agréé par le pays importateur, et attestant~~. Le certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques doit attester que le lieu de production des *animaux aquatiques* ou et des *produits issus d'animaux aquatiques* est un pays, une *zone* ou un *compartiment* déclaré indemne d'infection à ranavirus ~~selon les~~ sur la base des procédures définies par les articles 8.2.4. ou 8.2.5., selon le cas, et par l'article 8.2.6.

~~Ce~~ Le certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques doit être conforme au modèle reproduit au chapitre 5.11.

Cet article ne s'applique pas aux ~~marchandises~~ produits issus d'animaux aquatiques énumérées à l'alinéa 1 de l'article 8.2.3.

Article 8.2.8.

#### Importation d'animaux aquatiques à des fins d'aquaculture, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection à ranavirus

Lors de l'importation, à des fins d'*aquaculture*, d'*animaux aquatiques* appartenant à une des espèces visées à l'article 8.2.2. à partir d'un pays, d'une *zone* ou d'un *compartiment* non déclaré indemne d'infection à ranavirus, l'*Autorité compétente* du *pays importateur* doit apprécier le risque associé ~~au type de marchandise susvisé à cette importation~~ conformément au chapitre 2.1. et prendre en considération les mesures de réduction du risque figurant aux alinéas 1 et 2 ci-dessous.

- 1) Si l'objectif est le grossissement et la récolte des *animaux aquatiques* importés, il convient d'appliquer les principes suivants :
- a) la livraison directe et le maintien à vie des *animaux aquatiques* importés dans une installation de *quarantaine*, et
  - b) le traitement de toute l'eau utilisée pour le transport ainsi que de tous les équipements, effluents et déchets afin d'inactiver ~~toute l'eau de transport, de tout l'équipement, de tous les effluents et de tous les déchets~~ les ranavirus conformément aux chapitres 4.3., 4.7. et 5.5.

OU

- 2) Si l'objectif est l'établissement d'une nouvelle population à des fins d'*aquaculture*, il convient d'appliquer les principes suivants :
- a) dans le *pays exportateur* :
    - i) identifier les populations sources potentielles et évaluer les données sanitaires des *animaux aquatiques* qui les composent ;
    - ii) tester les populations sources conformément au chapitre 1.4. et sélectionner une population de géniteurs (F-0) d'*animaux aquatiques* présentant un statut sanitaire élevé au regard de l'infection à ranavirus ;
  - b) dans le *pays importateur* :
    - i) placer la population de géniteurs (F-0) importée dans une installation de *quarantaine* ;
    - ii) tester la population F-0 aux fins de la recherche des ranavirus conformément au chapitre 1.4. afin de déterminer si elle constitue une population de géniteurs adéquate ;
    - iii) produire une première génération (F-1) en *quarantaine* ;
    - iv) élever la population F-1 dans une installation de *quarantaine* où les conditions sont propices à l'expression clinique des ranavirus (~~tels qu'ils sont décrits au chapitre 2.1.2. du Manuel aquatique~~), et prélever des échantillons et tester leur présence chez cette population conformément au chapitre 1.4. du Code aquatique et au chapitre 2.1.2. du Manuel aquatique ;
    - v) si aucun ranavirus n'est détecté dans la population F-1, cette dernière pourra être reconnue indemne d'infection à ranavirus et libérée de sa *quarantaine* ;
    - vi) si un ranavirus est détecté dans la population F-1, cette dernière ne sera pas libérée de sa *quarantaine* et sera tuée puis éliminée dans des conditions de sécurité biologique adéquates.

Article 8.2.9.

**Importation d'animaux aquatiques et ou de produits issus d'animaux aquatiques à des fins de transformation ultérieure en vue de la consommation humaine, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection à ranavirus**

Lors de l'importation, à des fins de transformation ultérieure en vue de la consommation humaine, d'*animaux aquatiques appartenant à une des espèces visées à l'article 8.2.2., ou et de produits issus d'animaux aquatiques dérivés de ces espèces*, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un *compartiment* non déclaré indemne d'infection à ranavirus, l'*Autorité compétente* du *pays importateur* doit apprécier le ~~risque associé à ce type de marchandise à cette importation~~ et, si la situation le justifie, exiger :

- 1) la livraison directe du chargement, ainsi que et son maintien entreposage, dans des installations de *quarantaine* ou d'entreposage biosécurisées jusqu'au moment de sa transformation soit à ce qu'il soit transformé en l'un des produits énumérés à l'alinéa 1 de l'article 8.2.3. ou, ~~soit en l'un des produits mentionnés à l'alinéa 1 de l'article 8.2.12., soit ou~~ en l'un des autres produits autorisés par l'*Autorité compétente*, et
- 2) le traitement ~~de l'eau de transport et celui de tous les effluents et déchets résultant des opérations de transformation de l'eau (y compris sous forme de glace) ainsi que de l'ensemble des équipements, conteneurs et matériaux d'emballage utilisés lors du transport~~ dans des conditions permettant d'inactiver les ranavirus ou de les éliminer de manière ~~à empêcher leur contact avec des espèces sensibles.~~ biosécurisée conformément aux chapitres 4.3., 4.7. et 5.5., et

## Annexe 9C (suite)

- 3) le traitement de tous les effluents et de tous les déchets dans des conditions permettant d'inactiver les ranavirus ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3. et 4.7.

Lorsqu'ils l'estiment nécessaire, les États membres peuvent prendre des mesures au niveau national, visant à limiter les risques associés à l'utilisation ~~du type de marchandise~~ des animaux aquatiques ou des produits issus d'animaux aquatiques susvisés à des fins autres que la consommation humaine.

## Article 8.2.10.

**Importation d'animaux aquatiques ou de produits issus d'animaux aquatiques appelés à entrer dans la composition d'aliments pour animaux ou destinés à des fins autres que la consommation humaine, parmi lesquelles figurent l'alimentation animale, les usages agricoles, industriels ou pharmaceutiques et la recherche, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection à ranavirus**

Lors de l'importation d'*animaux aquatiques* appartenant à une des espèces visées à l'article 8.2.2., ou de produits issus d'animaux aquatiques dérivés de ces espèces, destinés à des fins autres que la consommation humaine, parmi lesquelles figurent l'alimentation animale, les usages agricoles, industriels ou pharmaceutiques et la recherche, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection à ranavirus, l'Autorité compétente du pays importateur doit exiger :

- 1) la livraison directe du chargement, ainsi que son maintien, et son entreposage dans des installations de quarantaine ou d'entreposage jusqu'à ce qu'il soit transformé en l'un des produits énumérés à l'alinéa 1 de l'article 8.2.3. ou en l'un des produits autorisés par la voie de leur abattage et de leur transformation en produits autorisés par l'Autorité compétente, et
- 2) le traitement de l'eau et de l'équipement utilisés pour le transport et celui de tous les effluents et déchets produits dans les installations dédiées à la transformation, dans des conditions permettant d'inactiver *B. dendrobatidis* de l'eau (y compris sous forme de glace) ainsi que de l'ensemble des équipements, conteneurs et matériaux d'emballage utilisés lors du transport dans des conditions permettant d'inactiver les ranavirus ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3., 4.7. et 5.5., et
- 3) le traitement de tous les effluents et de tous les déchets dans des conditions permettant d'inactiver les ranavirus ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3. et 4.7.

Cet article ne s'applique pas aux marchandises énumérées à l'alinéa 1 de l'article 8.1.3.

## Article 8.2.11.

**Importation d'animaux aquatiques destinés à des laboratoires ou à des établissements zoologiques à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection à ranavirus**

Lors d'une importation d'*animaux aquatiques* appartenant à une des espèces visées à l'article 8.2.2. qui sont destinés à des laboratoires ou à des établissements zoologiques à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection à ranavirus, l'Autorité compétente du pays importateur doit veiller :

- 1) à leur livraison directe, ainsi qu' ~~et~~ à leur maintien à vie, dans des installations de *quarantaine* agréées par l'Autorité compétente, et
- 2) au traitement de l'eau et de l'équipement utilisés pour le transport ainsi qu'à celui de tous les effluents et de tous les déchets, (y compris sous forme de glace) ainsi que de l'ensemble des équipements, conteneurs et matériaux d'emballage utilisés lors du transport dans des conditions permettant d'inactiver les ranavirus ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3., 4.7. et 5.5., et
- 3) au traitement de tous les effluents et déchets issus des installations de quarantaine des laboratoires ou des établissements zoologiques dans des conditions permettant d'inactiver les ranavirus ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3. et 4.7., et
- 4) à l'élimination des cadavres conformément au chapitre 4.7.

## Article 8.1.12.

**Importation (ou transit par le territoire) ~~d'animaux aquatiques~~ et de produits issus d'animaux aquatiques pour la vente au détail de marchandises destinées à la consommation humaine, indépendamment du statut sanitaire du à partir d'un pays, d'une de la zone ou d'un du compartiment non déclaré indemne d'exportation au regard de l'infection à ranavirus**

- 1) Quel que soit le statut sanitaire du pays, de la *zone* ou du *compartiment* d'exportation au regard de l'infection à ranavirus, les *Autorités compétentes* ne doivent imposer aucune condition liée à aux cette infection ranavirus quand elles autorisent l'importation ou le transit par leur *territoire* des marchandises produits issus d'animaux aquatiques suivantes qui ont été préparées et emballées pour la vente au détail lorsqu'elles satisfont aux conditions requises à l'article 5.4.2. :
    - aucune marchandise produit issu d'un animal aquatique n'est listée.
  - 2) Lors d'une importation ~~d'animaux aquatiques~~ et de *produits issus d'animaux aquatiques* appartenant à une des espèces visées à l'article 8.2.2., à l'exclusion de ceux énumérés à l'alinéa 1 qui précède, à partir d'un pays, d'une *zone* ou d'un *compartiment* non déclaré indemne d'infection à ranavirus, l'*Autorité compétente* du *pays importateur* doit apprécier le *risque* associé ~~au type de marchandise susvisé~~ à cette importation et appliquer des mesures appropriées visant à réduire ce *risque*.
-



## CHAPITRE 9.4.

**INFECTION PAR LE VIRUS DE LA NÉCROSE  
HYPODERMIQUE ET HÉMATOPOÏÉTIQUE INFECTIEUSE**

## Article 9.4.1.

Aux fins de l'application du *Code aquatique*, l'expression « infection par le virus de la nécrose hypodermique et hématopoïétique infectieuse » désigne une *infection* causée par le virus de la nécrose hypodermique et hématopoïétique infectieuse ; il s'agit d'un *agent pathogène* appartenant au genre *Brevidensovirus* et à la famille des Parvoviridae.

Le *Manuel aquatique* contient des informations sur les méthodes de *diagnostic*.

## Article 9.4.2.

**Champ d'application**

Les recommandations de ce chapitre s'appliquent aux espèces ci-après, satisfaisant aux critères permettant de les lister comme étant sensibles conformément au chapitre 1.5. : ~~le bouquet géant (*Macrobrachium rosenbergii*) (à l'étude)~~, la crevette à pattes jaunes (*Penaeus californiensis*), la crevette géante tigrée (*Penaeus monodon*), la crevette ligubam du Nord (*Penaeus setiferus*), la crevette bleue (*Penaeus stylirostris*) et la crevette à pattes blanches (*Penaeus vannamei*).

[...]

---



## CHAPITRE 10.1.

## INFECTION PAR LE VIRUS DE LA NÉCROSE HÉMATOPOÏÉTIQUE ÉPIZOOTIQUE

## Article 10.1.1.

Aux fins de l'application du *Code aquatique*, l'expression « infection par le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique » désigne une *infection* causée par le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique. Il s'agit d'un agent pathogène qui appartient appartenant au genre *Ranavirus* et à la famille des Iridoviridae.

Le *Manuel aquatique* contient des informations sur les méthodes de *diagnostic*.

## Article 10.1.2.

**Champ d'application**

Les recommandations de ce chapitre s'appliquent aux espèces ci-après, satisfaisant aux critères permettant de les lister comme étant sensibles conformément au chapitre 1.5. : le poisson-chat (*Ameiurus melas*), *Melanotaenia fluviatilis*, *Gambusia holbrooki*, la perche européenne (*Perca fluviatilis*), *Macquaria australasica*, *Gambusia affinis*, *Galaxias olidus*, le brochet du Nord (*Esox lucius*), le sandre (*Sander lucioperca*), la perche fluviatile (*Perca fluviatilis*), la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) et *Bidyanus bidyanus*. Ces recommandations concernent également toutes les autres espèces sensibles visées dans le *Manuel aquatique* lorsqu'elles font l'objet d'échanges internationaux.

## Article 10.1.3.

**Importation, ou transit par le territoire, d'animaux aquatiques et de produits issus d'animaux aquatiques indépendamment de l'usage auquel ils sont destinés et du statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de la l'infection par le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique**

- 1) Quel que soit le statut sanitaire du pays, de la *zone* ou du *compartiment* d'exportation au regard de la l'infection par le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique, les *Autorités compétentes* ne doivent imposer aucune condition liée à ~~cette maladie à un tel virus~~ quand elles autorisent, pour quelque usage que ce soit, l'importation, ou le transit par leur *territoire*, des *produits issus d'animaux aquatiques* énumérés ci-dessous lorsqu'il s'agit d'une espèce visée à l'article 10.1.2. et que ces produits satisfont aux conditions requises à l'article 5.4.1. :
  - a) produits à base de poisson stérilisés par la chaleur (c'est-à-dire exposés à une température de 121 °C pendant au moins 3,6 minutes ou à toute combinaison de température et de temps ~~équivalente dont l'équivalence a été démontrée en termes d'inactivation du virus de la~~ l'équivalence a été démontrée en termes d'inactivation du virus de la nécrose hématopoïétique épizootique) et présentés en conditionnement hermétique ;
  - b) produits à base de poisson pasteurisés ayant subi un traitement thermique à 90 °C pendant dix minutes ou à toute combinaison de température et de temps dont l'équivalence a été démontrée en termes d'inactivation du virus de la nécrose hématopoïétique épizootique ;
  - c) poissons éviscérés et séchés par un procédé mécanique (c'est-à-dire ayant subi un traitement thermique à 100 °C pendant au moins 30 minutes ou à toute combinaison de température et de temps dont l'équivalence a été démontrée en termes d'inactivation du virus de la nécrose hématopoïétique épizootique) ;
  - d) huile de poisson ;
  - e) farine de poisson ;
  - f) cuir de poisson.
  
- 2) Lorsque les *Autorités compétentes* autorisent l'importation, ou le transit par leur *territoire*, ~~d'animaux aquatiques ou de produits issus d'animaux aquatiques~~ appartenant à une des espèces visées à l'article 10.1.2. autres que ceux énumérés à l'alinéa 1 de l'article 10.1.3., elles doivent imposer le respect des conditions requises aux articles 10.1.7. à 10.1.44.12. en fonction du statut sanitaire du pays, de la *zone* ou du *compartiment* d'exportation au regard de la l'infection par le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique.

## Annexe 11 (suite)

- 3) L'*Autorité compétente* doit procéder à une *analyse des risques* conformément aux recommandations figurant au chapitre 2.1. lorsqu'elle envisage l'importation ou le transit par son ~~territoire d'animaux aquatiques~~ et de *produits issus d'animaux aquatiques* appartenant à une espèce non visée à l'article 10.1.2., mais dont on peut raisonnablement s'attendre à ce qu'ils posent un *risque* en termes de ~~propagation~~ transmission du virus de la nécrose hématopoïétique épizootique. L'*Autorité compétente* du *pays exportateur* doit être tenue informée du résultat de cette analyse.

## Article 10.1.4.

**Pays indemne d'infection par le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique**

En cas de partage d'une zone avec un ou plusieurs autres pays, un pays ne peut déposer une *auto-déclaration d'absence d'infection par le virus de la* nécrose hématopoïétique épizootique que si tous les secteurs couverts par des étendues d'eaux partagées sont déclarés pays ou zones indemnes de cette ~~maladie~~ infection (voir article 10.1.5.).

Comme indiqué à l'article 1.4.6., un pays peut déposer une *auto-déclaration d'absence d'infection par le virus de la* nécrose hématopoïétique épizootique si :

- 1) aucune des *espèces sensibles* visées à l'article 10.1.2. n'est présente et les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins deux ans ;

OU

- 2) l'une quelconque des *espèces sensibles* visées à l'article 10.1.2. est présente, mais les conditions suivantes sont remplies :

- a) ~~aucune présence de la maladie n'a été observée~~ aucune infection par le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique n'est apparue depuis au moins dix ans malgré l'existence de conditions propices à son expression clinique (comme indiqué au chapitre correspondant du *Manuel aquatique*), et
- b) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins dix ans ;

OU

- 3) le statut sanitaire au regard de ~~la maladie~~ l'infection par le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique n'était ~~pas in~~connu avant la mise en œuvre de la *surveillance ciblée*, mais les conditions suivantes sont remplies :

- a) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins deux ans, et
- b) ~~une~~ la surveillance ciblée comme indiqué, telle qu'elle est décrite au chapitre 1.4., est mise en œuvre depuis au moins deux ans sans que le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique ait été détecté ;

OU

- 4) ce pays, après avoir déposé une *auto-déclaration d'absence d'infection par le virus de la* nécrose hématopoïétique épizootique, a perdu son statut indemne par suite de la détection d'une telle virus ~~maladie~~, mais les conditions suivantes sont remplies :

- a) dès la détection du virus de la nécrose hématopoïétique épizootique de la ~~maladie~~, le secteur touché a été déclaré *zone infectée* et une *zone de protection* a été établie, et
- b) les populations ~~infectées de la zone infectée touchées par l'infection~~ ont été détruites ou abattues et éliminées de la zone infectée par un moyen réduisant autant que possible le ~~risque~~ la probabilité de nouvelle ~~propagation~~ transmission du virus de la nécrose hématopoïétique épizootique de la ~~maladie~~, et les opérations de *désinfection* appropriées (comme indiqué au chapitre 4.3.) ont été ~~effectuées~~ réalisées, et
- c) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* existant antérieurement ont été réexaminées, et sont en place sans discontinuer, avec les modifications éventuellement nécessaires, depuis l'éradication de l'infection par le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique de la ~~maladie~~, et
- d) ~~une~~ la surveillance ciblée comme indiqué, telle qu'elle est décrite au chapitre 1.4., est mise en œuvre depuis au moins deux ans sans que le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique ait été détecté.

Entre-temps, tout ou partie du secteur non touché peut être déclaré zone indemne, pour autant que les conditions requises à l'alinéa 3 de l'article 10.1.5. soient remplies.

Article 10.1.5.

**Compartiment ou zone indemne d'infection par le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique**

En cas d'extension au-delà des frontières d'un pays, un *compartiment* ou une *zone* ne peut être déclaré indemne d'infection par le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique que si l'ensemble des *Autorités compétentes* concernées confirment que toutes les conditions voulues sont remplies.

Comme indiqué à l'article 1.4.6., un *compartiment* ou une *zone* situé sur le *territoire* d'un pays ou de plusieurs pays non déclarés indemnes d'infection par le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique peut être déclaré indemne de cette ~~maladie~~ infection par l'*Autorité compétente de ce du pays ou de l'ensemble des pays concernés* si ~~ou par l'ensemble des~~ *Autorités compétentes concernées* :

- 1) aucune des *espèces sensibles* visées à l'article 10.1.2. n'est présente dans le *compartiment* ou la *zone* et les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins deux ans ;

OU

- 2) l'une quelconque des *espèces sensibles* visées à l'article 10.1.2. est présente dans le *compartiment* ou la *zone*, mais les conditions suivantes sont remplies :
  - a) ~~aucune présence de la maladie n'a été observée~~ aucune infection par le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique n'est apparue depuis au moins dix ans malgré l'existence de conditions propices à son expression clinique (comme indiqué au chapitre correspondant du *Manuel aquatique*), et
  - b) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins dix ans ;

OU

- 3) le statut sanitaire au regard de ~~la maladie~~ l'infection par le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique n'était ~~pas~~ inconnu avant la mise en œuvre de la *surveillance ciblée*, mais les conditions suivantes sont remplies :
  - a) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins deux ans, et
  - b) ~~une~~ la surveillance ciblée comme indiqué, telle qu'elle est décrite au chapitre 1.4., est mise en œuvre dans le *compartiment* ou la *zone* depuis au moins deux ans sans que le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique ait été détecté ;

OU

- 4) ce pays, après avoir déposé une *auto-déclaration d'absence d'infection par le virus de la* nécrose hématopoïétique épizootique pour une *zone*, a perdu son statut indemne par suite de la détection d'une telle ~~maladie~~ maladie virus dans cette *zone*, mais les conditions suivantes sont remplies :
  - a) dès la détection ~~de la maladie~~ du virus de la nécrose hématopoïétique épizootique, le secteur touché a été déclaré *zone infectée* et une *zone de protection* a été établie, et
  - b) les populations ~~infectées de la zone infectée touchées par l'infection~~ ont été ~~détruites ou abattues et~~ éliminées ~~de la zone infectée~~ par un moyen réduisant autant que possible le ~~risque la probabilité~~ de nouvelle propagation transmission du virus de la nécrose hématopoïétique épizootique de la maladie, et les opérations de *désinfection* appropriées (comme indiqué au chapitre 4.3.) ont été ~~effectuées~~ réalisées, et
  - c) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* existant antérieurement ont été réexaminées, et sont en place sans discontinuer, avec les modifications éventuellement nécessaires, depuis l'éradication de ~~la maladie~~ l'infection par le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique, et
  - d) ~~une~~ la surveillance ciblée comme indiqué, telle qu'elle est décrite au chapitre 1.4., est mise en œuvre depuis au moins deux ans sans que le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique ait été détecté.

## Annexe 11 (suite)

## Article 10.1.6.

**Maintien du statut indemne d'infection par le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique**

Un pays, une *zone* ou un *compartiment* déclaré indemne de d'infection par le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique conformément aux dispositions énoncées aux alinéas 1 ou 2, suivant le cas, des articles 10.1.4. ou 10.1.5. peut conserver son statut indemne au regard de cette infection-maladie, sous réserve que les conditions élémentaires de sécurité biologique soient constamment maintenues.

Un pays, une *zone* ou un *compartiment* déclaré indemne de d'infection par le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique conformément aux dispositions énoncées à l'alinéa 3, suivant le cas, des articles 10.1.4. ou 10.1.5. peut interrompre la surveillance ciblée tout en conservant son statut indemne au regard de cette infection-maladie, sous réserve que soient constamment réunies les conditions propices à l'expression clinique de la l'infection par le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique, comme indiqué au chapitre correspondant du *Manuel aquatique*, soient réunies ainsi que les conditions élémentaires de sécurité biologique.

Toutefois, dans les *zones* ou *compartiments* déclarés indemnes de nécrose hématopoïétique épizootique se trouvant dans des pays qui ~~en~~ sont infectés, ainsi que dans tous les cas où les conditions ne sont pas propices à l'expression clinique de l'infection par le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique, la surveillance ciblée doit être poursuivie à un niveau défini par le *Service chargé de la santé des animaux aquatiques* en rapport avec la probabilité d'introduction de l'*infection*.

## Article 10.1.7.

**Importation d'animaux aquatiques et ou de produits issus d'animaux aquatiques à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment déclaré indemne d'infection par le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique**

Lors d'une importation d'*animaux aquatiques* appartenant à ~~des~~ à une des espèces visées à l'article 10.1.2., ou et de *produits issus d'animaux aquatiques* dérivés de ces espèces, à partir d'un pays, d'une *zone* ou d'un *compartiment* déclaré indemne d'infection par le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique, l'*Autorité compétente* du pays importateur doit exiger que l'envoi soit accompagné d'un certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques délivré par l'*Autorité compétente* du pays exportateur, ~~ou par un agent certificateur agréé par le pays importateur, et attestant.~~ Le certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques doit attester que le lieu de production des *animaux aquatiques* et ou des *produits issus d'animaux aquatiques* est un pays, une *zone* ou un *compartiment* déclaré indemne d'infection par le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique ~~selon les~~ sur la base des procédures définies par les articles 10.1.4. ou 10.1.5., selon le cas, et par l'article 10.1.6.

~~Ce~~ Le certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques doit être conforme au modèle reproduit au chapitre 5.11.

Cet article ne s'applique pas aux *marchandises* produits issus d'animaux aquatiques énumérées à l'alinéa 1 de l'article 10.1.3.

## Article 10.1.8.

**Importation d'animaux aquatiques à des fins d'aquaculture, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique**

Lors de l'importation, à des fins d'*aquaculture*, d'*animaux aquatiques* appartenant à une des espèces visées à l'article 10.1.2. à partir d'un pays, d'une *zone* ou d'un *compartiment* non déclaré indemne de d'infection par le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique, l'*Autorité compétente* du pays importateur doit apprécier le risque associé ~~au type de~~ de marchandises susvisé à cette importation conformément au chapitre 2.1. et prendre en considération les mesures de réduction du risque figurant aux alinéas 1 et 2 ci-dessous.

- 1) Si l'objectif est le grossissement et la récolte des *animaux aquatiques* importés, il convient d'appliquer les principes suivants :
  - a) la livraison directe et le maintien à vie des *animaux aquatiques* importés dans une installation de *quarantaine*, et
  - b) le traitement de toute l'eau utilisée pour le transport ainsi que de tous les équipements, effluents et déchets afin d'inactiver toute l'eau de transport, de tout l'équipement, de tous les effluents et de tous les déchets le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique conformément aux chapitres 4.3., 4.7. et 5.5.

OU

- 2) Si l'objectif est l'établissement d'une nouvelle population à des fins d'*aquaculture*, il convient d'appliquer les principes suivants :
  - a) dans le pays exportateur :
    - i) identifier les populations sources potentielles et évaluer les données sanitaires des *animaux aquatiques* qui les composent ;
    - ii) tester les populations sources conformément au chapitre 1.4. et sélectionner une population de géniteurs (F-0) d'*animaux aquatiques* présentant un statut sanitaire élevé au regard de la l'infection par le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique ;

- b) dans le *pays importateur* :
- i) placer la population de géniteurs (F-0) importée dans une installation de *quarantaine* ;
  - ii) tester la population F-0 aux fins de la recherche du virus de la nécrose hématopoïétique épizootique conformément au chapitre 1.4. afin de déterminer si elle constitue une population de géniteurs adéquate ;
  - iii) produire une première génération (F-1) en *quarantaine* ;
  - iv) élever la population F-1 dans une installation de *quarantaine* où les conditions sont propices à l'expression clinique ~~de du virus de la~~ nécrose hématopoïétique épizootique ~~(tels qu'ils sont décrits au chapitre 2.3.1. du Manuel aquatique), et prélever des échantillons et~~ tester sa présence chez cette population conformément au chapitre 1.4. du Code aquatique et au chapitre 2.3.1. du Manuel aquatique ;
  - v) si le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique n'est pas détecté dans la population F-1, cette dernière pourra être reconnue indemne ~~de d'infection par le virus de la~~ nécrose hématopoïétique épizootique et libérée de sa *quarantaine* ;
  - vi) si le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique est détecté dans la population F-1, cette dernière ne sera pas libérée de sa *quarantaine* et sera tuée puis éliminée dans des conditions de sécurité biologique adéquates.

Article 10.1.9.

**Importation d'animaux aquatiques et ou de produits issus d'animaux aquatiques à des fins de transformation ultérieure en vue de la consommation humaine, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique**

Lors de l'importation, à des fins de transformation ultérieure en vue de la consommation humaine, d'*animaux aquatiques* appartenant à une des espèces visées à l'article 10.1.2., ou de produits issus d'animaux aquatiques dérivés de ces espèces, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un *compartiment* non déclaré indemne d'infection par le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique, l'*Autorité compétente* du *pays importateur* doit apprécier le *risque* associé à ce type de ~~merchandise~~ cette importation et, si la situation le justifie, exiger :

- 1) la livraison directe du chargement, ainsi que son maintien, ~~et son entreposage~~ dans des installations de *quarantaine* ou *biosécurisées d'entreposage* jusqu'au moment de sa transformation soit jusqu'à ce qu'il soit transformé en l'un des produits énumérés à l'alinéa 1 de l'article 10.1.3. ou ~~soit en l'un des produits mentionnés à l'alinéa 1 de l'article 10.1.44-12,~~ soit ou en l'un des autres produits autorisés par l'*Autorité compétente*, et
- 2) le traitement ~~de l'eau de transport et celui de tous les effluents et déchets résultant des opérations de transformation de l'eau (y compris sous forme de glace) ainsi que de l'ensemble des équipements, conteneurs et matériaux d'emballage utilisés lors du transport~~ dans des conditions permettant d'inactiver le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique ou de les éliminer de manière à ~~prévenir leur contact avec des espèces sensibles~~ biosécurisée conformément aux chapitres 4.3., 4.7. et 5.5., et
- 3) le traitement de tous les effluents et de tous les déchets dans des conditions permettant d'inactiver le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3. et 4.7.

Lorsqu'ils l'estiment nécessaire, les États membres peuvent prendre des mesures au niveau national, visant à limiter les *risques* associés à l'utilisation ~~du type de merchandise~~ des animaux aquatiques ou des produits issus d'animaux aquatiques susvisés à des fins autres que la consommation humaine.

Article 10.1.10.

**Importation d'animaux aquatiques ou de produits issus d'animaux aquatiques appelés à entrer dans la composition d'aliments pour animaux ou destinés à des fins autres que la consommation humaine, parmi lesquelles figurent l'alimentation animale, les usages agricoles, industriels ou pharmaceutiques et la recherche, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique**

Lors de l'importation d'*animaux aquatiques* appartenant à une des espèces visées à l'article 10.1.2., ou de produits issus d'animaux aquatiques dérivés de ces espèces, destinés à des fins autres que la consommation humaine, parmi lesquelles figurent l'alimentation animale, les usages agricoles, industriels ou pharmaceutiques et la recherche, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un *compartiment* non déclaré indemne d'infection par le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique, l'*Autorité compétente* du *pays importateur* doit exiger :

## Annexe 11 (suite)

- 1) la livraison directe du chargement, ainsi que son maintien, dans des installations de quarantaine ou d'entreposage jusqu'à ce qu'il soit transformé en l'un des produits énumérés à l'alinéa 1 de l'article 10.1.3. ou en l'un en vue d'y être abattu et transformé en des produits autorisés par l'Autorité compétente, et
- 2) le traitement de l'eau de transport et celui de tous les effluents et déchets résultant des opérations de transformation de manière à inactiver de l'eau (y compris sous forme de glace) ainsi que de l'ensemble des équipements, conteneurs et matériaux d'emballage utilisés lors du transport dans des conditions permettant d'inactiver le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3., 4.7. et 5.5., et
- 3) le traitement de tous les effluents et de tous les déchets dans des conditions permettant d'inactiver le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3. et 4.7.

Cet article ne s'applique pas aux marchandises énumérées à l'alinéa 1 de l'article 10.1.3.

## Article 10.1.11.

**Importation d'animaux aquatiques destinés à des laboratoires ou à des établissements zoologiques à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique**

Lors d'une importation d'animaux aquatiques appartenant à une des espèces visées à l'article 10.1.2. qui sont destinés à des laboratoires ou à des établissements zoologiques à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique, l'Autorité compétente du pays importateur doit veiller :

- 1) à leur livraison directe, ainsi qu'à leur maintien à vie, dans des installations de quarantaine agréées par l'Autorité compétente, et
- 2) au traitement de l'eau (y compris sous forme de glace) ainsi que de l'ensemble des équipements, conteneurs et matériaux d'emballage utilisés lors du transport dans des conditions permettant d'inactiver le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3., 4.7. et 5.5., et
- 3) au traitement de tous les effluents et déchets issus des installations de quarantaine des laboratoires ou des établissements zoologiques dans des conditions permettant d'inactiver le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3. et 4.7., et
- 4) à l'élimination des cadavres conformément au chapitre 4.7.

## Article 10.1.11-12.

**Importation (ou transit par le territoire) d'animaux aquatiques et de produits issus d'animaux aquatiques pour la vente au détail de marchandises destinées à la consommation humaine, indépendamment du statut sanitaire du à partir d'un pays, d'une zone ou d'un du compartiment non déclaré indemne d'exportation au regard de l'infection par le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique**

- 1) Quel que soit le statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de la l'infection par le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique, les *Autorités compétentes* ne doivent imposer aucune condition liée à la ~~maladie~~ à un tel virus quand elles autorisent l'importation (ou le transit par leur *territoire*) de filets ou de darnes ou pavés réfrigérés ou congelés qui ont été préparés et emballés pour la vente au détail lorsqu'ils satisfont aux conditions requises à l'article 5.4.2.

Certaines hypothèses ont été posées concernant l'appréciation de la sécurité sanitaire des *produits issus d'animaux aquatiques* susvisés. Les États membres doivent donc se référer à ces hypothèses, figurant à l'article 5.4.2., et estimer si ces dernières s'appliquent à leur situation.

Lorsqu'ils l'estiment nécessaire, les États membres peuvent prendre des mesures au niveau national, visant à limiter les *risques* associés à l'utilisation des *produits issus d'animaux aquatiques* susvisés à des fins autres que la consommation humaine.

- 2) Lors d'une importation ~~d'animaux aquatiques et de produits issus d'animaux aquatiques~~ appartenant à une des espèces visées à l'article 10.1.2., à l'exclusion de ceux mentionnés à l'alinéa 1 qui précède, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique, l'*Autorité compétente* du pays importateur doit apprécier le *risque* associé au type de ~~merchandise~~ susvisé à cette importation et appliquer des mesures appropriées visant à réduire ce *risque*.

## CHAPITRE 10.3.

INFECTION À *GYRODACTYLUS SALARIS*

## Article 10.3.1.

Aux fins de l'application du *Code aquatique*, l'expression « infection à *Gyrodactylus salaris* » désigne une *infection* causée par *Gyrodactylus salaris*. Appartenant à la classe des *Monogenea* et à la famille des Gyrodactylidae, cet agent pathogène est un ectoparasite vivipare vivant en eau douce, ~~(vers plat ou plathelminthe).~~

Le *Manuel aquatique* contient des informations sur les méthodes de *diagnostic*.

## Article 10.3.2.

**Champ d'application**

Les recommandations de ce chapitre s'appliquent aux espèces ci-après, satisfaisant aux critères permettant de les lister comme étant sensibles conformément au chapitre 1.5. : l'omble chevalier (*Salvelinus alpinus*), le saumon atlantique (*Salmo salar*), la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*), l'omble chevalier (*Salvelinus alpinus*), l'omble fontaine (*Salvelinus fontinalis*), l'ombre commun (*Thymallus thymallus*), la truite de lac d'Amérique (*Salvelinus namaycush*) et la truite commune (*Salmo trutta*), l'ombre commun (*Thymallus thymallus*), l'omble fontaine (*Salvelinus fontinalis*) et la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*). Ces recommandations concernent également d'autres espèces de poissons vivant dans des eaux hébergeant le parasite, car ces espèces peuvent en être porteurs et jouer un rôle de *vecteur*.

## Article 10.3.3.

**Importation, ou transit par le territoire, d'animaux aquatiques et de produits issus d'animaux aquatiques indépendamment de l'usage auquel ils sont destinés et du statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection à *G. salaris***

- 1) Quel que soit le statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection à *G. salaris*, les *Autorités compétentes* ne doivent imposer aucune condition liée à ~~cette infection *G. salaris*~~ quand elles autorisent, pour quelque usage que ce soit, l'importation, ou le transit par leur territoire, ~~des animaux aquatiques et des produits issus d'animaux aquatiques~~ énumérés ci-dessous lorsqu'il s'agit d'une espèce visée à l'article 10.3.2. et que ~~ces animaux ou ces produits~~ satisfont aux conditions requises à l'article 5.4.1. :
  - a) produits à base de poisson stérilisés par la chaleur (c'est-à-dire exposés à une température de 121 °C pendant au moins 3,6 minutes ou à toute combinaison de température et de temps équivalente dont l'équivalence a été démontrée en termes d'inactivation de *G. salaris*) et présentés en conditionnement hermétique ;
  - b) produits pasteurisés à base de poisson ayant subi un traitement thermique à 63 °C pendant au moins 30 minutes ou à toute combinaison de température et de temps dont l'équivalence a été démontrée en termes d'inactivation de *G. salaris* ;
  - c) poissons éviscérés et séchés par un procédé mécanique (c'est-à-dire ayant subi un traitement thermique à 100 °C pendant au moins 30 minutes ou à une combinaison de température et de temps dont l'équivalence a été démontrée en termes d'inactivation de *G. salaris*) ;
  - d) poissons éviscérés et séchés dans des conditions naturelles (c'est-à-dire à l'air ou au soleil) ;
  - e) poissons éviscérés et congelés ayant été soumis à des températures inférieures ou égales à moins 18 °C ;
  - f) filets ou darnes / pavés de poisson congelés ayant été soumis à des températures inférieures ou égales à moins 18 °C ;
  - g) poissons éviscérés réfrigérés ayant été pêchés dans une eau de mer de salinité supérieure ou égale à 25 ppt ;
  - h) filets ou darnes / pavés réfrigérés de poissons ayant été pêchés dans une eau de mer de salinité supérieure ou égale à 25 ppt ;

Annexe 12 (suite)

- i) produits réfrigérés à base de poisson dont la peau, les arêtes et les nageoires ont été retirés ;
  - j) rogne de poisson non viable ;
  - k) huile de poisson ;
  - l) *farine* de poisson ;
  - m) cuir de poisson.
- 2) Lorsque les *Autorités compétentes* autorisent l'importation, ou le transit par leur *territoire*, ~~d'animaux aquatiques ou de produits issus d'animaux aquatiques~~ appartenant à une des espèces visées à l'article 10.3.2. autres que ceux énumérés à l'alinéa 1 de l'article 10.3.3., elles doivent imposer le respect des conditions requises aux articles 10.3.7. à 10.3.44-12 en fonction du statut sanitaire du pays, de la *zone* ou du *compartiment* d'exportation au regard de l'infection à *G. salaris*.
- 3) L'*Autorité compétente* doit procéder à une *analyse des risques* conformément aux recommandations figurant au chapitre 2.1. lorsqu'elle envisage l'importation ou le transit par son *territoire* ~~d'animaux aquatiques ou de produits issus d'animaux aquatiques~~ appartenant à une espèce non visée à l'article 10.3.2., mais dont on peut raisonnablement s'attendre à ce qu'ils posent un *risque* en termes de ~~propagation~~ transmission de l'infection à *G. salaris*. L'*Autorité compétente* du *pays exportateur* doit être tenue informée du résultat de cette analyse.

## Article 10.3.4.

**Pays indemne d'infection à *G. salaris***

En cas de partage d'une *zone* avec un ou plusieurs autres pays, un pays ne peut déposer une *auto-déclaration d'absence* d'infection à *G. salaris* que si tous les secteurs couverts par des étendues d'eaux partagées sont déclarés pays ou *zones* indemnes de cette *infection* (voir article 10.3.5.).

Comme indiqué à l'article 1.4.6., un pays peut déposer une *auto-déclaration d'absence* d'infection à *G. salaris* si :

- 1) aucune des *espèces sensibles* visées à l'article 10.3.2. n'est présente et les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins deux ans ;

OU

- 2) l'une quelconque des *espèces sensibles* visées à l'article 10.3.2. est présente, mais les conditions suivantes sont remplies :

- a) ~~aucune présence de la maladie n'a été observée~~ aucune infection à *G. salaris* n'est apparue depuis au moins dix ans malgré l'existence de conditions propices à son expression clinique (comme indiqué au chapitre correspondant du *Manuel aquatique*), et
- b) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins dix ans ;

OU

- 3) le statut sanitaire au regard de ~~la maladie~~ l'infection à *G. salaris* n'était pas inconnu avant la mise en œuvre de la *surveillance ciblée*, mais les conditions suivantes sont remplies :

- a) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins cinq ans, et
- b) ~~une~~ la surveillance ciblée ~~comme indiqué,~~ telle qu'elle est décrite au chapitre 1.4. est mise en œuvre depuis au moins cinq ans sans que ~~aucune infection à *G. salaris* ait été détecté~~ ;

OU

- 4) ce pays, après avoir déposé une *auto-déclaration d'absence* d'infection à *G. salaris*, a perdu son statut indemne ~~de maladie~~ par suite de la détection d'une telle agent *infection*, mais les conditions suivantes sont remplies :

- a) dès la détection de G. salaris ~~la maladie~~, le secteur touché a été déclaré *zone infectée* et une *zone de protection* a été établie, et
- b) les populations infectées ~~de la zone infectée~~ touchées par l'*infection* ont été ~~détruites ou abattues et~~ éliminées ~~de la zone infectée~~ par un moyen réduisant autant que possible le ~~risque~~ la probabilité de nouvelle ~~propagation~~ transmission de G. salaris ~~de la maladie~~, et les opérations de *désinfection* appropriées (comme indiqué au chapitre 4.3.) ont été ~~effectuées~~ réalisées, et
- c) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* existant antérieurement ont été réexaminées, et sont en place sans discontinuer, avec les modifications éventuellement nécessaires, depuis l'éradication de ~~la maladie~~ l'infection à G. salaris, et
- d) ~~une~~ la surveillance ciblée ~~comme indiqué, telle qu'elle~~ est décrite au chapitre 1.4. est mise en œuvre depuis au moins cinq ans sans ~~qu'aucune infection à~~ G. salaris ait été détecté.

Entre-temps, tout ou partie du secteur non touché peut être déclaré *zone indemne*, pour autant que les conditions requises à l'alinéa 3 de l'article 10.3.5. soient remplies.

#### Article 10.3.5.

#### Compartiment ou zone indemne d'infection à *G. salaris*

En cas d'extension au-delà des frontières d'un pays, un *compartiment* ou une *zone* ne peut être déclaré indemne d'infection à *G. salaris* que si l'ensemble des *Autorités compétentes* concernées confirment que toutes les conditions voulues sont remplies.

Comme indiqué à l'article 1.4.6., un *compartiment* ou une *zone* situé sur le *territoire* d'un pays ou de plusieurs pays non déclarés indemnes d'infection à *G. salaris* peut être déclaré indemne de cette *infection* par l'*Autorité compétente* ~~de ce~~ du pays ou de l'ensemble des pays concernés si ~~ou par l'ensemble des Autorités compétentes concernées~~ :

- 1) aucune des *espèces sensibles* visées à l'article 10.3.2. n'est présente dans le *compartiment* ou la *zone* et les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins deux ans ;

OU

- 2) l'une quelconque des *espèces sensibles* visées à l'article 10.3.2. est présente dans le *compartiment* ou la *zone*, mais les conditions suivantes sont remplies :
  - a) ~~aucune présence de la maladie n'a été observée~~ aucune infection à G. salaris n'est apparue depuis au moins dix ans malgré l'existence de conditions propices à son expression clinique (comme indiqué au chapitre correspondant du *Manuel aquatique*), et
  - b) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins cinq ans ;

OU

- 3) un *compartiment* ou une *zone* qui est alimenté en eau de mer d'une salinité d'au moins 25 ppt peut être déclaré indemne d'infection à *G. salaris*, sous réserve qu'aucun *produit issu d'un animal aquatique vivant* appartenant à une des espèces visées à l'article 10.3.2. ait été introduit à partir d'un site de statut zoosanitaire inférieur au regard de l'infection à *G. salaris* durant les 14 jours ayant précédé le transfert de poissons vivants à partir de ce *compartiment* ou de cette *zone* ;

OU

- 4) le statut sanitaire au regard de ~~la maladie~~ l'infection à G. salaris n'était pas inconnu avant la mise en œuvre de la *surveillance ciblée*, mais les conditions suivantes sont remplies :
  - a) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins dix ans, et
  - b) ~~une~~ la surveillance ciblée ~~comme indiqué, telle qu'elle est décrite~~ au chapitre 1.4. est mise en œuvre depuis au moins cinq ans sans que ~~aucune infection à~~ G. salaris ait été détecté ;

## Annexe 12 (suite)

OU

- 5) ce pays, après avoir déposé une *auto-déclaration d'absence* d'infection à *G. salaris* pour une *zone*, a perdu son statut indemne ~~de maladie~~ par suite de la détection d'une telle ~~infection~~ agent dans cette *zone*, mais les conditions suivantes sont remplies :
- a) dès la détection de *G. salaris* ~~la maladie~~, le secteur touché a été déclaré *zone infectée* et une *zone de protection* a été établie, et
  - b) les populations ~~infectées de la zone infectée~~ touchées par l'infection ont été ~~détruites ou abattues et éliminées de la zone infectée~~ par un moyen réduisant autant que possible ~~le risque la probabilité~~ de nouvelle ~~propagation~~ transmission de *G. salaris* de la maladie, et les opérations de *désinfection* appropriées (comme indiqué au chapitre 4.3.) ont été ~~effectuées~~ réalisées, et
  - c) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* existant antérieurement ont été réexaminées, et sont en place sans discontinuer, avec les modifications éventuellement nécessaires, depuis l'éradication de ~~la maladie~~ l'infection à *G. salaris*, et
  - d) ~~une~~ la surveillance ciblée ~~comme indiqué, telle qu'elle est décrite au chapitre 1.4.,~~ est mise en œuvre depuis au moins cinq ans sans que ~~aucune infection à *G. salaris* ait été détecté.~~

Article 10.3.6.

**Maintien du statut indemne d'infection à *G. salaris***

Un pays, une *zone* ou un *compartiment* déclaré indemne d'infection à *G. salaris* conformément aux dispositions énoncées aux alinéas 1 ou 2, suivant le cas, des articles 10.3.4. ou 10.3.5. peut conserver son statut indemne au regard de cette *infection*, sous réserve que les *conditions élémentaires de sécurité biologique* soient constamment maintenues.

Un pays, une *zone* ou un *compartiment* déclaré indemne d'infection à *G. salaris* conformément aux dispositions énoncées à l'alinéa 3 de l'article 10.3.4. ou à l'alinéa 4 de l'article 10.3.5. peut interrompre la *surveillance ciblée* tout en conservant son statut indemne au regard de cette *infection*, sous réserve que soient constamment réunies les conditions propices à l'expression clinique de l'infection à *G. salaris*, comme indiqué au chapitre correspondant du *Manuel aquatique*, ~~soient réunies~~ ainsi que les *conditions élémentaires de sécurité biologique*.

Toutefois, dans les *zones* ou *compartiments* déclarés indemnes ~~d'infection à *G. salaris*~~ se trouvant dans des pays qui en sont infectés, ainsi que dans tous les cas où les conditions ne sont pas propices à ~~sa~~ l'expression clinique de l'infection à *G. salaris*, la *surveillance ciblée* doit être poursuivie à un niveau défini par le *Service chargé de la santé des animaux aquatiques* en rapport avec la probabilité d'introduction de l'*infection*.

Article 10.3.7.

**Importation d'animaux aquatiques et ou de produits issus d'animaux aquatiques à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment déclaré indemne d'infection à *G. salaris***

Lors d'une importation d'*animaux aquatiques* appartenant à une des espèces visées à l'article 10.3.2., ~~et~~ ou de *produits issus d'animaux aquatiques dérivés de ces espèces*, à partir d'un pays, d'une *zone* ou d'un *compartiment* déclaré indemne d'infection à *G. salaris*, l'*Autorité compétente* du *pays importateur* doit exiger que l'envoi soit accompagné d'un *certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques* délivré par l'*Autorité compétente* du *pays exportateur*, ~~ou par un agent certificateur agréé par le pays importateur, et attestant.~~ Le certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques doit attester que le lieu de production des *animaux aquatiques* ~~et~~ ou des *produits issus d'animaux aquatiques* est un pays, une *zone* ou un *compartiment* déclaré indemne d'infection à *G. salaris* ~~selon les~~ sur la base des procédures définies par les articles 10.3.4. ou 10.3.5., selon le cas, et par l'article 10.3.6.

~~Ce certificat~~ Le certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques doit être conforme au modèle reproduit au chapitre 5.11.

Cet article ne s'applique pas aux ~~merchandises~~ produits issus d'animaux aquatiques énumérées à l'alinéa 1 de l'article 10.3.3.

## Article 10.3.8.

**Importation d'animaux aquatiques vivants à des fins d'aquaculture, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection à *G. salaris***

Lors de l'importation, à des fins d'aquaculture, d'animaux aquatiques appartenant à une des espèces visées à l'article 10.3.2. à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection à *G. salaris*, l'Autorité compétente du pays importateur doit apprécier le risque associé au type de marchandise susvisé à cette importation conformément au chapitre 2.1. et prendre en considération les mesures de réduction du risque figurant aux alinéas 1 et 2 ci-dessous.

- 4) ~~Si l'objectif est le grossissement et la récolte des animaux aquatiques importés, il convient d'appliquer les principes suivants :~~
- ~~a) la livraison directe et le maintien à vie des animaux aquatiques importés dans une installation de quarantaine, et~~
  - ~~b) le traitement de l'ensemble des eaux et équipements utilisés toute l'eau de transport, de tout l'équipement, de et de tous les effluents et de tous les déchets générés au cours du transport afin d'inactiver *G. salaris* conformément aux chapitres 4.3., 4.7. et 5.5.~~
- 1) Lors de l'importation, à des fins d'aquaculture, d'animaux aquatiques appartenant à une des espèces visées à l'article 10.3.2., à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection à *G. salaris*, l'Autorité compétente du pays importateur doit :
- a) exiger la présentation d'un certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques délivré par l'Autorité compétente du pays exportateur et attestant :
    - i) qu'immédiatement avant leur exportation, les animaux aquatiques ont été constamment maintenus dans des eaux dont la salinité était supérieure ou égale à 25 ppt au moins pendant 14 jours consécutifs, et
    - ii) qu'aucun autre animal aquatique appartenant à une des espèces visées à l'article 10.3.2. n'a été introduit pendant la période susmentionnée ;
- OU
- iii) s'il s'agit d'œufs embryonnés, que les œufs ont été désinfectés selon une méthode ayant fait la preuve de sa capacité à inactiver *G. salaris* ;
- OU
- b) apprécier le risque associé au type de marchandise à l'importation susvisée et appliquer des mesures visant à réduire ce risque telles que :
    - i) la livraison directe des animaux aquatiques importés et leur maintien à vie dans une installation de quarantaine assurant la sécurité biologique en l'isolant du milieu environnant d'une manière permanente, et
    - ii) si les poissons faisant l'objet de l'importation sont destinés à la reproduction, la désinfection des œufs embryonnés selon une méthode ayant fait la preuve de sa capacité à inactiver *G. salaris* et l'isolement total de leur descendance de première génération ;
    - iii) le traitement de toute l'eau utilisée pour le transport ainsi que de tous les équipements, effluents et déchets afin d'inactiver *G. salaris* conformément aux chapitres 4.3., 4.7. et 5.5.
- OU
- 2) Si l'objectif est l'établissement d'une nouvelle population à des fins d'aquaculture, il convient d'appliquer les principes suivants :
- a) dans le pays exportateur :
    - i) identifier les populations sources potentielles et évaluer les données sanitaires des animaux aquatiques qui les composent ;
    - ii) tester les populations sources conformément au chapitre 1.4. et sélectionner une population de géniteurs (F-0) d'animaux aquatiques présentant un statut sanitaire élevé au regard de l'infection à *G. salaris* ;

## Annexe 12 (suite)

b) dans le pays importateur :

- i) placer la population de géniteurs (F-0) importée dans une installation de *quarantaine* ;
- ii) tester la population F-0 aux fins de la recherche de *G. salaris* conformément au chapitre 1.4. afin de déterminer si elle constitue une population de géniteurs adéquate ;
- iii) produire une première génération (F-1) en *quarantaine* ;
- iv) élever la population F-1 dans une installation de *quarantaine* où les conditions sont propices à l'expression clinique de *G. salaris*, et prélever des échantillons et tester sa présence chez cette population conformément au chapitre 1.4. du Code aquatique et au chapitre 2.3.3. du Manuel aquatique ;
- v) si *G. salaris* n'est pas détecté dans la population F-1, cette dernière pourra être reconnue indemne d'infection à *G. salaris* et libérée de sa *quarantaine* ;
- vi) si *G. salaris* est détecté dans la population F-1, cette dernière ne sera pas libérée de sa *quarantaine* et sera tuée puis éliminée dans des conditions de sécurité biologique adéquates.

Article 10.3.9.

**Importation d'animaux aquatiques et ou de produits issus d'animaux aquatiques à des fins de transformation ultérieure en vue de la consommation humaine, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection à *G. salaris***

Lors de l'importation, à des fins de transformation ultérieure en vue de la consommation humaine, d'*animaux aquatiques* appartenant à une des espèces visées à l'article 10.3.2., ou de produits issus d'animaux aquatiques dérivés de ces espèces, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection à *G. salaris*, l'*Autorité compétente* du pays importateur doit apprécier le risque associé à ~~ce type de marchandise~~ cette importation et, si la situation le justifie, exiger :

- 1) la livraison directe du chargement, ainsi que son maintien, et son entreposage dans des installations de *quarantaine* ou biosécurisées d'entreposage jusqu'au moment de sa transformation soit jusqu'à ce qu'il soit transformé en l'un des produits énumérés à l'alinéa 1 de l'article 10.3.3. ou, soit en l'un des produits mentionnés à l'alinéa 1 de l'article 10.3.4.12., soit ou en l'un des autres produits autorisés par l'Autorité compétente, et
- 2) le traitement de l'eau de transport et celui de tous les effluents et déchets résultant des opérations de transformation de l'eau (y compris sous forme de glace) ainsi que de l'ensemble des équipements, conteneurs et matériaux d'emballage utilisés lors du transport dans des conditions permettant d'inactiver *G. salaris* ou de les éliminer de manière à ~~prévenir leur contact avec des espèces sensibles~~ biosécurisée conformément aux chapitres 4.3., 4.7. et 5.5., et
- 3) le traitement de tous les effluents et de tous les déchets dans des conditions permettant d'inactiver *G. salaris* ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3. et 4.7.

Lorsqu'ils l'estiment nécessaire, les États membres peuvent prendre des mesures au niveau national, visant à limiter les risques associés à l'utilisation ~~du type de marchandise~~ des animaux aquatiques ou des produits issus d'animaux aquatiques susvisés à des fins autres que la consommation humaine.

Article 10.3.10.

**Importation d'animaux aquatiques ou de produits issus d'animaux aquatiques appelés à entrer dans la composition d'aliments pour animaux ou destinés à des fins autres que la consommation humaine, parmi lesquelles figurent l'alimentation animale, les usages agricoles, industriels ou pharmaceutiques et la recherche, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection à *G. salaris***

Lors de l'importation d'*animaux aquatiques* appartenant à une des espèces visées à l'article 10.3.2., ou de produits issus d'animaux aquatiques dérivés de ces espèces, destinés à des fins autres que la consommation humaine, parmi lesquelles figurent l'alimentation animale, les usages agricoles, industriels ou pharmaceutiques et la recherche, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection à *G. salaris*, l'*Autorité compétente* du pays importateur doit exiger :

- 1) la présentation d'un *certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques* délivré par l'*Autorité compétente* du pays exportateur attestant qu'immédiatement avant leur exportation, les *animaux aquatiques* ont été constamment maintenus dans des eaux dont la salinité était supérieure ou égale à 25 ppt au moins pendant 14 jours consécutifs, et qu'aucun autre *animal aquatique vivant* appartenant à une des espèces visées à l'article 10.3.2. n'a été introduit pendant la période susmentionnée ;

OU

- 2) la livraison directe du chargement dans des installations de *quarantaine* ou d'entreposage et son maintien jusqu'à ce qu'il soit transformé en l'un des produits énumérés à l'alinéa 1 de l'article 10.3.3. ~~ou en l'un des autres produits autorisés par l'Autorité compétente, et que l'eau utilisée pour le transport et tous les effluents et tous les déchets soient traités de manière à inactiver de *G. salaris*.~~ ;
- 3) le traitement de l'eau (y compris sous forme de glace) ainsi que de l'ensemble des équipements, conteneurs et matériaux d'emballage utilisés lors du transport dans des conditions permettant d'inactiver *G. salaris* ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3., 4.7. et 5.5., et
- 4) le traitement de tous les effluents et de tous les déchets dans des conditions permettant d'inactiver *G. salaris* ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3. et 4.7.

Cet article ne s'applique pas aux *marchandises* énumérées à l'alinéa 1 de l'article 10.3.3.

#### Article 10.3.11.

#### **Importation d'animaux aquatiques destinés à des laboratoires ou à des établissements zoologiques à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection à *G. salaris***

Lors d'une importation d'animaux aquatiques appartenant à une des espèces visées à l'article 10.3.2. qui sont destinés à des laboratoires ou à des établissements zoologiques à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection à *G. salaris*, l'Autorité compétente du pays importateur doit veiller :

- 1) à leur livraison directe, ainsi qu'à leur maintien à vie, dans des installations de *quarantaine* agréées par l'Autorité compétente, et
- 2) au traitement de l'eau (y compris sous forme de glace) ainsi que de l'ensemble des équipements, conteneurs et matériaux d'emballage utilisés lors du transport dans des conditions permettant d'inactiver *G. salaris* ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3., 4.7. et 5.5., et
- 3) au traitement de tous les effluents et déchets issus des installations de *quarantaine* des laboratoires ou des établissements zoologiques dans des conditions permettant d'inactiver *G. salaris* ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3. et 4.7., et
- 4) à l'élimination des cadavres conformément au chapitre 4.7.

#### Article 10.3.12.

#### **Importation (ou transit par le territoire) d'animaux aquatiques et de produits issus d'animaux aquatiques pour la vente au détail de marchandises destinées à la consommation humaine, indépendamment du statut sanitaire du pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'exportation au regard de l'infection à *G. salaris***

- 1) Quel que soit le statut sanitaire du pays, de la zone ou du *compartiment* d'exportation au regard de l'infection à *G. salaris*, les *Autorités compétentes* ne doivent imposer aucune condition liée à ~~cette infection *G. salaris*~~ quand elles autorisent l'importation (ou le transit par leur *territoire*) des ~~*marchandises produits issus d'animaux aquatiques*~~ suivantes qui ont été préparées et emballées pour la vente au détail lorsqu'elles ~~ils~~ satisfont aux conditions requises à l'article 5.4.2. :
  - aucune ~~*marchandise produit issu d'un animal aquatique*~~ n'est listée.
- 2) Lors d'une importation ~~d'animaux aquatiques~~ et de *produits issus d'animaux aquatiques* appartenant à une des espèces visées à l'article 10.3.2., à l'exclusion de ceux énumérés à l'alinéa 1 qui précède, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un *compartiment* non déclaré indemne d'infection à *G. salaris*, l'*Autorité compétente* du pays importateur doit apprécier le *risque* associé à cette importation au type de ~~*marchandise*~~ *suvisé* et appliquer des mesures appropriées visant à réduire ce *risque*.



## CHAPITRE 10.4.

## INFECTION PAR LE VIRUS DE L'ANÉMIE INFECTIEUSE DU SAUMON

## Article 10.4.1.

Aux fins de l'application du *Code aquatique*, l'expression « infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon » désigne une *infection causée* par ~~le~~ les formes du virus de l'anémie infectieuse du saumon, dont les formes présentent ~~présentant~~ des délétions dans la région hautement polymorphe (variants délétés dans la RHP du virus) ou non (variants RHP0). ~~Ce virus~~ Il s'agit d'un agent pathogène ~~appartient appartenant~~ au genre *Isavirus* et à la famille des orthomyxoviridés Orthomyxoviridae. Les deux génotypes doivent faire l'objet d'une *notification*, conformément au chapitre 1.1 du Code aquatique.

L'existence d'un lien entre les variants non pathogènes (RHP0) du virus de l'anémie infectieuse du saumon et les variants pathogènes du virus de l'anémie infectieuse du saumon (délétés dans la RHP du virus) est avérée, des *foyers* pouvant survenir suite à une mutation de variants délétés dans la RHP à partir des variants non pathogènes RHP0.

Les dispositions prévues au présent chapitre concernent les trois catégories de statut sanitaire à distinguer au regard du virus de l'anémie infectieuse du saumon :

- 1) absence des variants HPR0 et des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon ;
- 2) présence endémique des variants RHP0 (mais absence des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon) ;
- 3) présence endémique des variants RHP0 et des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon.

Le *Manuel aquatique* contient des informations sur les méthodes de *diagnostic*.

## Article 10.4.2.

**Champ d'application**

Les recommandations du présent chapitre s'appliquent aux espèces ci-après, satisfaisant aux critères permettant de les lister comme étant sensibles conformément au chapitre 1.5. : le saumon atlantique (*Salmo salar*), la truite d'Europe (*Salmo trutta*) et la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*). ~~Ces recommandations concernent également toutes les autres espèces sensibles visées dans le Manuel aquatique lorsqu'elles font l'objet d'échanges internationaux.~~

## Article 10.4.3.

### **Importation, ou transit ~~par le territoire, d'animaux aquatiques~~ et de produits issus d'animaux aquatiques indépendamment de l'usage auquel ils sont destinés et du statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon**

Les dispositions figurant au présent article s'appliquent à l'ensemble des formes du virus de l'anémie infectieuse du saumon, y compris les variants RHP0.

- 1) Quel que soit le statut sanitaire du pays, de la *zone* ou du *compartiment* d'exportation au regard de l'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon, les *Autorités compétentes* ne doivent imposer aucune condition liée à ~~cette infection à un tel virus~~ quand elles autorisent, pour quelque usage que ce soit, l'importation, ou le transit par leur *territoire*, des *produits issus d'animaux aquatiques* énumérés ci-dessous lorsqu'il s'agit d'une espèce visée à l'article 10.4.2. et que ces produits satisfont aux conditions requises à l'article 5.4.1. :
  - a) produits à base de poisson stérilisés par la chaleur (c'est-à-dire exposés à une température de 121 °C pendant au moins 3,6 minutes ou à toute combinaison de température et de temps ~~équivalente dont l'équivalence a été démontrée en termes d'inactivation du virus de l'anémie infectieuse du saumon~~) et présentés en conditionnement hermétique ;
  - b) produits pasteurisés à base de poisson ayant subi un traitement thermique à 90 °C pendant au moins dix minutes ou à toute combinaison de température et de temps dont l'équivalence a été démontrée en termes d'inactivation du virus de l'anémie infectieuse du saumon ;
  - c) poissons éviscérés et séchés par un procédé mécanique (c'est-à-dire ayant subi un traitement thermique à 100 °C pendant 30 minutes ou à toute combinaison de température et de temps dont l'équivalence a été démontrée en termes d'inactivation du virus de l'anémie infectieuse du saumon) ;

## Annexe 13 (suite)

- d) huile de poisson ;
  - e) farine de poisson ;
  - f) cuir de poisson.
- 2) Lorsque les *Autorités compétentes* autorisent l'importation, ou le transit par leur *territoire*, ~~d'animaux aquatiques ou de produits issus d'animaux aquatiques~~ appartenant à une des espèces visées à l'article 10.4.2., à l'exclusion des produits énumérés à l'alinéa 1 de l'article 10.4.3., elles doivent imposer le respect des conditions requises aux articles 10.4.10. à 10.4.16-17, en fonction du statut sanitaire du pays, de la *zone* ou du *compartiment* d'exportation au regard de l'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon.
- 3) L'*Autorité compétente* doit procéder à une *analyse des risques* conformément aux recommandations figurant au chapitre 2.1. lorsqu'elle envisage l'importation, ou le transit par son *territoire*, ~~d'animaux aquatiques ou de produits issus d'animaux aquatiques~~ appartenant à une espèce non visée à l'article 10.4.2., mais dont on peut raisonnablement s'attendre à ce qu'ils posent un *risque* en termes de ~~propagation~~ transmission de l'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon. L'*Autorité compétente* du *pays exportateur* doit être tenue informée du résultat de cette analyse.

## Article 10.4.4.

**Pays indemne d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon**

Les dispositions figurant au présent article impliquent que le pays est indemne d'infection par l'ensemble des formes du virus de l'anémie infectieuse du saumon, y compris les variants RHP0.

En cas de partage d'une *zone* avec un ou plusieurs autres pays, un pays ne peut déposer une *auto-déclaration d'absence* d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon que si tous les secteurs couverts par des étendues d'eaux partagées sont déclarés pays ou *zones* indemnes de cette *infection* (voir article 10.4.6.).

Comme indiqué à l'article 1.4.6., un pays peut déposer une *auto-déclaration d'absence* d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon si :

- 1) aucune des *espèces sensibles* visées à l'article 10.4.2. n'est présente et les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins deux ans ;

OU

- 2) le statut sanitaire au regard de l'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon ~~la maladie~~ n'était pas inconnu avant la mise en œuvre de la *surveillance ciblée*, mais les conditions suivantes sont remplies :

- a) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins deux ans, et
- b) ~~une~~ la surveillance ciblée ~~comme indiqué, telle qu'elle est décrite~~ au chapitre 1.4. est mise en œuvre depuis au moins deux ans sans ~~qu'aucune~~ que le virus de l'anémie infectieuse du saumon ait été détecté ;

OU

- 3) ce pays, après avoir déposé une *auto-déclaration d'absence* d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon, a perdu son statut indemne ~~de maladie~~ par suite de la détection d'une telle virus infection, mais les conditions suivantes sont remplies :

- a) dès la détection du virus de l'anémie infectieuse du saumon ~~de la maladie~~, le secteur touché a été déclaré *zone infectée* et une *zone de protection* a été établie, et
- b) les populations infectées de la zone infectée touchées par l'infection ont été ~~détruites ou abattues~~ et éliminées ~~de la zone infectée~~ par un moyen réduisant autant que possible le ~~risque~~ la probabilité de nouvelle propagation transmission du virus de l'anémie infectieuse du saumon ~~de la maladie~~, et les opérations de *désinfection* appropriées comme indiqué dans le chapitre 4.3. ont été ~~effectuées~~ réalisées, et
- c) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* existant antérieurement ont été réexaminées, et sont en place sans discontinuer, avec les modifications éventuellement nécessaires, depuis l'éradication de ~~la maladie~~ l'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon, et

- d) ~~une la surveillance ciblée comme indiqué, telle qu'elle est décrite~~ au chapitre 1.4., est mise en œuvre depuis au moins deux ans sans ~~qu'aucune que le~~ infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon ait été détecté.

Entre-temps, tout ou partie du secteur non touché peut être déclaré *zone* indemne, pour autant que les conditions requises à l'alinéa 3 de l'article 10.4.6. soient remplies.

Le processus d'*auto-déclaration d'absence* de l'infection par les variants HPR0 du virus de l'anémie infectieuse du saumon reposant sur l'absence ~~d'expression clinique de la maladie~~ l'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon (voir statut historiquement indemne visé à l'article 1.4.6.) ne peut être complété, car les variants HPR0 du virus de l'anémie infectieuse du saumon sont peu susceptibles de provoquer des signes cliniques.

#### Article 10.4.5.

#### **Pays indemne d'infection par des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon**

Les dispositions du présent article impliquent que le pays est indemne d'infection par des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon, mais pas nécessairement d'infection par des variants RHP0 de ce virus.

En cas de partage d'une *zone* avec un ou plusieurs autres pays, un pays ne peut déposer une *auto-déclaration d'absence* d'infection par des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon que si tous les secteurs couverts par des étendues d'eaux partagées sont déclarés pays ou *zones* indemnes d'infection par des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon (voir article 10.4.7.).

Comme indiqué à l'article 1.4.6., un pays peut déposer une *auto-déclaration d'absence* d'infection par des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon si :

- 1) l'une quelconque des *espèces sensibles* visées à l'article 10.4.2. est présente, mais les conditions suivantes sont remplies :
  - a) ~~aucune présence aucune~~ infection par des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon ~~n'a été observée n'est apparue~~ depuis au moins dix ans, malgré l'existence de conditions propices à son expression clinique (comme indiqué au chapitre correspondant du *Manuel aquatique*), et
  - b) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins dix ans ;

OU

- 2) le statut sanitaire au regard de ~~la maladie~~ l'infection par des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon n'était pas inconnu avant la mise en œuvre de la *surveillance ciblée*, mais les conditions suivantes sont remplies :
  - a) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins deux ans, et
  - b) ~~une la surveillance ciblée comme indiqué, telle qu'elle est décrite~~ au chapitre 1.4., est mise en œuvre depuis au moins deux ans sans ~~qu'aucune que des~~ variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon aient été détectés ;

OU

- 3) ce pays, après avoir déposé une *auto-déclaration d'absence* d'infection par des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon, a perdu son statut indemne ~~de maladie~~ par suite de la détection d'~~une telle infection de tels variants~~, mais les conditions suivantes sont remplies :
  - a) dès la détection ~~de l'infection par~~ des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon, le secteur touché a été déclaré *zone infectée* et une *zone de protection* a été établie, et
  - b) les populations ~~infectées ont été détruites ou de la zone infectée touchées par l'infection ont été abattues et~~ éliminées de la *zone infectée* par des moyens réduisant autant que possible ~~le risque la probabilité~~ de nouvelle ~~propagation~~ transmission des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon, et les opérations de *désinfection* appropriées (comme indiqué au chapitre 4.3.) ont été ~~effectuées~~ réalisées, et
  - c) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* existant antérieurement ont été réexaminées, et sont en place sans discontinuer, avec les modifications éventuellement nécessaires, depuis l'éradication de ~~la maladie~~ l'infection par des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon, et

## Annexe 13 (suite)

- d) ~~une la surveillance ciblée comme indiqué, telle qu'elle est décrite~~ au chapitre 1.4., est mise en œuvre depuis au moins deux ans sans ~~qu'aucune que des~~ variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon aient été détectés.

Entre-temps, tout ou partie du secteur non touché peut être déclaré zone indemne, pour autant que les conditions requises à l'alinéa 3 de l'article 10.4.7. soient remplies.

## Article 10.4.6.

**Compartiment ou zone indemne d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon**

Les dispositions figurant au présent article impliquent que le *compartiment* ou la *zone* est indemne d'infection par l'ensemble des formes du virus de l'anémie infectieuse du saumon, y compris les variants RHP0.

En cas d'extension au-delà des frontières d'un pays, un *compartiment* ou une *zone* ne peut être déclaré indemne d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon que si l'ensemble des *Autorités compétentes* concernées confirment que toutes les conditions voulues sont remplies.

Comme indiqué à l'article 1.4.6., un *compartiment* ou une *zone* situé sur le *territoire* d'un pays ou de plusieurs pays non déclarés indemnes d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon peut être déclaré indemne de cette infection par l'*Autorité compétente de ce du pays ou de l'ensemble des pays concernés* si ~~ou par l'ensemble des Autorités compétentes concernées~~ :

- 1) aucune des *espèces sensibles* visées à l'article 10.4.2. n'est présente dans le *compartiment* ou la *zone* et les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins deux ans ;

OU

- 2) le statut sanitaire au regard de ~~la maladie l'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon~~ n'était pas inconnu avant la mise en œuvre de la *surveillance ciblée*, mais les conditions suivantes sont remplies :

- a) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins deux ans, et
- b) ~~une la surveillance ciblée comme indiqué, telle qu'elle est décrite~~ au chapitre 1.4., est mise en œuvre dans ce *compartiment* ou cette *zone* depuis au moins deux ans sans ~~qu'aucune que le~~ virus de l'anémie infectieuse du saumon ait été détecté ;

OU

- 3) ce pays, après avoir déposé une *auto-déclaration d'absence* d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon pour une *zone*, a perdu son statut indemne ~~de maladie~~ par suite de la détection d'une telle ~~infection~~ virus dans cette *zone*, mais les conditions suivantes sont remplies :

- a) dès la détection ~~de l'infection par le du~~ virus de l'anémie infectieuse du saumon, le secteur touché a été déclaré *zone infectée* et une *zone de protection* a été établie, et
- b) les populations ~~infectées ont été détruites ou de la zone infectée touchées par l'infection ont été abattues et éliminées de la zone infectée~~ par un moyen réduisant autant que possible ~~le risque la probabilité~~ de nouvelle ~~propagation transmission~~ du virus de l'anémie infectieuse du saumon, et les opérations de *désinfection* appropriées (comme indiqué au chapitre 4.3.) ont été ~~effectuées réalisées~~, et
- c) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* existant antérieurement ont été réexaminées, et sont en place sans discontinuer, avec les modifications éventuellement nécessaires, depuis l'éradication de ~~la maladie l'infection par le~~ virus de l'anémie infectieuse du saumon, et
- d) ~~une la surveillance ciblée comme indiqué, telle qu'elle est~~ décrite au chapitre 1.4., est mise en œuvre dans cette *zone* depuis au moins deux ans sans ~~qu'aucune que le~~ virus de l'anémie infectieuse du saumon ait été détecté.

## Article 10.4.7.

**Compartiment ou zone indemne d'infection par les variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon**

Les dispositions du présent article impliquent que le *compartiment* ou la *zone* est indemne d'infection par des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon, mais pas nécessairement d'infection par des variants RHP0 de ce virus.

En cas d'extension sur le *territoire* de plusieurs pays, un *compartiment* ou une *zone* peut être déclaré indemne d'infection par des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon si l'ensemble des *Autorités compétentes* concernées confirment que toutes les conditions voulues sont remplies.

Comme indiqué à l'article 1.4.6., un *compartiment* ou une *zone* situé sur le *territoire* d'un pays ou de plusieurs pays non déclarés indemnes d'infection par des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon peut être déclaré indemne par l'*Autorité compétente de ce pays ou de l'ensemble des pays concernés* si ~~ou par l'ensemble des *Autorités compétentes* concernées~~ :

- 1) l'une quelconque des *espèces sensibles* visées à l'article 10.4.2. est présente dans le *compartiment* ou la *zone* et les conditions suivantes sont remplies :
  - a) aucune ~~apparition de~~ l'infection par des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon ~~n'a été détectée~~ n'est apparue depuis au moins dix ans malgré l'existence de conditions propices à son expression clinique (comme indiqué au chapitre correspondant du *Manuel aquatique*), et
  - b) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins dix ans ;

OU

- 2) le statut sanitaire au regard ~~de la maladie de l'infection par des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon~~ n'était pas inconnu avant la mise en œuvre de la *surveillance ciblée*, mais les conditions suivantes sont remplies :
  - a) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins deux ans, et
  - b) ~~une~~ la surveillance ciblée ~~comme indiqué, telle qu'elle est décrite~~ au chapitre 1.4., est mise en œuvre dans ce *compartiment* ou cette *zone* depuis au moins deux ans ~~qu'aucune~~ que des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon aient été détectés ;

OU

- 3) ce pays, après avoir déposé une *auto-déclaration d'absence* d'infection par des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon pour une *zone*, a perdu son statut indemne ~~de maladie~~ par suite de la détection ~~d'une telle infection de tels variants~~ dans la *zone*, mais les conditions suivantes sont remplies :
  - a) dès la détection ~~de l'infection par des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon~~, le secteur touché a été déclaré *zone infectée* et une *zone de protection* a été établie, et
  - b) les populations ~~infectées ont été détruites ou de la zone infectée touchées par l'infection ont été abattues et éliminées~~ de la *zone infectée* par un moyen réduisant autant que possible ~~le risque la probabilité~~ de nouvelle ~~propagation~~ transmission des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon, et les opérations de *désinfection* appropriées (comme indiqué au chapitre 4.3.) ont été ~~effectuées~~ réalisées, et
  - c) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* existant antérieurement ont été réexaminées, et sont en place sans discontinuer, avec les modifications éventuellement nécessaires, depuis l'éradication de ~~la maladie l'infection par des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon~~, et
  - d) ~~une~~ la surveillance ciblée ~~comme indiqué, telle qu'elle est décrite~~ au chapitre 1.4., est mise en œuvre depuis au moins deux ans sans ~~qu'aucune~~ que des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon aient été détectés.

Article 10.4.8.

#### Maintien du statut indemne d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon

Les dispositions figurant au présent article impliquent que le pays, la *zone* ou le *compartiment* est indemne d'infection par l'ensemble des formes du virus de l'anémie infectieuse du saumon, y compris les variants RHP0.

Un pays, une *zone* ou un *compartiment* déclaré indemne d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon conformément aux dispositions énoncées à l'alinéa 1, suivant le cas, des articles 10.4.4. ou 10.4.6. peut conserver son statut indemne au regard de cette *infection*, sous réserve que les *conditions élémentaires de sécurité biologique* soient maintenues sans discontinuer.

### Annexe 13 (suite)

Un pays, une *zone* ou un *compartiment* déclaré indemne d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon conformément aux dispositions énoncées à l'alinéa 2, suivant le cas, des articles 10.4.4. ou 10.4.6. peut conserver son statut indemne au regard de cette *infection*, sous réserve que la *surveillance ciblée* soit poursuivie à un niveau défini par le *Service chargé de la santé des animaux aquatiques* en rapport avec la probabilité d'introduction de l'*infection* et que les *conditions élémentaires de sécurité biologique* soient maintenues sans discontinuer.

Article 10.4.9.

#### **Maintien du statut indemne d'infection par des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon**

Les dispositions du présent article impliquent que le pays, la *zone* ou le *compartiment* est indemne d'infection par des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon, mais pas nécessairement d'infection par des variants RHP0 de ce virus.

Un pays, une *zone* ou un *compartiment* déclaré indemne d'infection par des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon conformément aux dispositions énoncées aux alinéas 1 ou 2, suivant le cas, des articles 10.4.5. ou 10.4.7. peut conserver son statut indemne au regard de cette *infection*, sous réserve que les *conditions élémentaires de sécurité biologique* soient maintenues sans discontinuer.

Un pays, une *zone* ou un *compartiment* déclaré indemne d'infection par des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon conformément aux dispositions énoncées à l'alinéa 3, suivant le cas, des articles 10.4.5. ou 10.4.7. peut interrompre la *surveillance ciblée* tout en conservant son statut indemne au regard de cette *infection*, sous réserve que soient réunies sans discontinuer les conditions propices à l'expression clinique de l'infection par des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon, comme indiqué au chapitre correspondant du *Manuel aquatique*, ~~soient réunies~~ ainsi que les *conditions élémentaires de sécurité biologique*.

Toutefois, dans les *zones* ou *compartiments* déclarés indemnes se trouvant dans des pays où l'*infection* est présente, ainsi que dans tous les cas où les conditions ne sont pas propices à l'expression clinique de l'infection par des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon, la *surveillance ciblée* doit être poursuivie à un niveau défini par le *Service chargé de la santé des animaux aquatiques* en rapport avec la probabilité d'introduction de l'*infection*.

Article 10.4.10.

#### **Importation d'animaux aquatiques et ou de produits issus d'animaux aquatiques à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment déclaré indemne d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon**

Les dispositions figurant au présent article impliquent que le pays, la *zone* ou le *compartiment* est indemne d'infection par l'ensemble des formes du virus de l'anémie infectieuse du saumon, y compris les variants RHP0.

Lors d'une importation d'*animaux aquatiques* appartenant à une des espèces visées à l'article 10.4.2., ~~et~~ ou de *produits issus d'animaux aquatiques dérivés de ces espèces*, à partir d'un pays, d'une *zone* ou d'un *compartiment* déclaré indemne d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon, l'*Autorité compétente* du pays importateur doit exiger la présentation d'un *certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques* délivré par l'*Autorité compétente* du pays exportateur, ~~ou par un agent certificateur agréé par le pays importateur, et attestant. Le certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques doit attester~~ que le lieu de production des *animaux aquatiques et ou des produits issus d'animaux aquatiques* est un pays, une *zone* ou un *compartiment* déclaré indemne d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon ~~selon les~~ sur la base des procédures prévues par les articles 10.4.4. ou 10.4.6., selon le cas, et par l'article 10.4.8.

~~Ce certificat~~ Le certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques doit être conforme au modèle reproduit au chapitre 5.11.

Cet article ne s'applique pas aux ~~marchandises~~ produits issus d'animaux aquatiques énumérées à l'alinéa 1 de l'article 10.4.3.

Article 10.4.11.

#### **Importation d'animaux aquatiques et ou de produits issus d'animaux aquatiques à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment déclaré indemne d'infection par les variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon**

Les dispositions du présent article impliquent que le pays, la *zone* ou le *compartiment* est indemne d'infection par des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon, mais pas nécessairement d'infection par des variants RHP0 de ce virus.

Lors d'une importation d'*animaux aquatiques* appartenant à une des espèces visées à l'article 10.4.2., ~~et ou de produits issus d'animaux aquatiques dérivés de ces espèces,~~ à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment déclaré indemne d'infection par les variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon, l'*Autorité compétente du pays importateur* doit exiger que l'envoi soit accompagné d'un *certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques* délivré par l'*Autorité compétente du pays exportateur*, ~~ou par un agent certificateur agréé par le pays importateur, et attestant, Le certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques doit attester~~ que le lieu de production des *animaux aquatiques* ~~et ou des produits issus d'animaux aquatiques~~ est un pays, une zone ou un compartiment déclaré indemne d'infection par les variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon ~~selon les~~ sur la base des procédures définies par les articles 10.4.5. ou 10.4.7., selon le cas, et par l'article 10.4.9.

~~Ce certificat~~ Le certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques doit être conforme au modèle reproduit au chapitre 5.11.

Cet article ne s'applique pas aux ~~marchandises~~ produits issus d'animaux aquatiques énumérées à l'alinéa 1 de l'article 10.4.3.

#### Article 10.4.12.

#### **Importation d'animaux aquatiques à des fins d'aquaculture, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon**

Les dispositions figurant au présent article s'appliquent à l'ensemble des formes du virus de l'anémie infectieuse du saumon, y compris les variants RHP0.

Lors de l'importation, à des fins d'aquaculture, d'*animaux aquatiques* appartenant à une des espèces visées à l'article 10.4.2. à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon, l'*Autorité compétente du pays importateur* doit apprécier le *risque* associé au ~~type de~~ marchandise susvisé à cette importation conformément au chapitre 2.1. et prendre en considération les mesures de réduction du *risque* figurant aux alinéas 1 et 2 ci-dessous.

- 1) Si l'objectif est le grossissement et la récolte des *animaux aquatiques* importés, il convient d'appliquer les principes suivants :
  - a) la livraison directe et le maintien à vie des *animaux aquatiques* importés dans une installation de *quarantaine*, et
  - b) le traitement de toute l'eau utilisée pour le transport ainsi que de tous les équipements, effluents et déchets afin d'inactiver ~~toute l'eau de transport, de tout l'équipement, de et de tous les effluents et de tous les déchets~~ le virus de l'anémie infectieuse du saumon conformément aux chapitres 4.3., 4.7. et 5.5.

OU

- 2) Si l'objectif est l'établissement d'une nouvelle population à des fins d'aquaculture, il convient d'appliquer les principes suivants :
  - a) dans le *pays exportateur* :
    - i) identifier les populations sources potentielles et évaluer les données sanitaires des *animaux aquatiques* qui les composent ;
    - ii) tester les populations sources conformément au chapitre 1.4. et sélectionner une population de géniteurs (F-0) d'*animaux aquatiques* présentant un statut sanitaire élevé au regard de l'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon ;
  - b) dans le *pays importateur* :
    - i) placer la population de géniteurs (F-0) importée dans une installation de *quarantaine* ;
    - ii) tester la population F-0 aux fins de la recherche du virus de l'anémie infectieuse du saumon conformément au chapitre 1.4. afin de déterminer si elle constitue une population de géniteurs adéquate ;
    - iii) produire une première génération (F-1) en *quarantaine* ;
    - iv) élever la population F-1 dans une installation de *quarantaine* où les conditions sont propices à l'expression clinique ~~de l'infection par le~~ du virus de l'anémie infectieuse du saumon ~~(tels qu'ils sont décrits au chapitre 2.3.5. du Manuel aquatique), et prélever des échantillons et~~ tester sa présence chez cette population conformément au chapitre 1.4. du Code aquatique et au chapitre 2.3.5. du Manuel aquatique ;
    - v) si le virus de l'anémie infectieuse du saumon n'est pas détecté dans la population F-1, cette dernière pourra être reconnue indemne d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon et libérée de sa *quarantaine* ;
    - vi) si le virus de l'anémie infectieuse du saumon est détecté dans la population F-1, cette dernière ne sera pas libérée de sa *quarantaine* et sera tuée puis éliminée dans des conditions de sécurité biologique adéquates.

## Annexe 13 (suite)

## Article 10.4.13.

**Importation d'animaux aquatiques et ou de produits issus d'animaux aquatiques à des fins de transformation ultérieure en vue de la consommation humaine, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon**

Les dispositions figurant au présent article s'appliquent à l'ensemble des formes du virus de l'anémie infectieuse du saumon, y compris les variants RHP0.

Lors de l'importation, à des fins de transformation ultérieure en vue de la consommation humaine, d'*animaux aquatiques* appartenant à une des espèces visées à l'article 10.4.2., ou de produits issus d'animaux aquatiques dérivés de ces espèces, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon, l'*Autorité compétente* du pays importateur doit apprécier le risque associé à ce type de ~~de~~ merchandise cette importation et, si la situation le justifie, exiger :

- 1) la livraison directe du chargement, ainsi que son maintien, et son entreposage dans des installations de quarantaine ou biosécurisées d'entreposage jusqu'au moment de sa transformation soit jusqu'à ce qu'il soit transformé en l'un des produits énumérés à l'alinéa 1 de l'article 10.4.3. ou ~~soit en l'un des produits mentionnés à l'alinéa 1 de l'article 10.4.15-16, soit~~ ou en l'un des autres produits autorisés par l'*Autorité compétente*, et
- 2) le traitement de l'eau de transport et celui de tous les effluents et déchets résultant des opérations de ~~transformation de l'eau (y compris sous forme de glace) ainsi que de l'ensemble des équipements, conteneurs et matériaux d'emballage utilisés lors du transport~~ dans des conditions permettant d'inactiver le virus de l'anémie infectieuse du saumon ou de les éliminer de manière à ~~prévenir leur contact avec des espèces sensibles~~ biosécurisée conformément aux chapitres 4.3., 4.7. et 5.5., et
- 3) le traitement de tous les effluents et de tous les déchets dans des conditions permettant d'inactiver le virus de l'anémie infectieuse du saumon ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3. et 4.7.

Lorsqu'ils l'estiment nécessaire, les États membres peuvent prendre des mesures au niveau national, visant à limiter les risques associés à l'utilisation ~~du type de marchandise~~ des animaux aquatiques ou des produits issus d'animaux aquatiques susvisés à des fins autres que la consommation humaine.

## Article 10.4.14.

**Importation d'animaux aquatiques ou de produits issus d'animaux aquatiques appelés à entrer dans la composition d'aliments pour animaux ou destinés à des fins autres que la consommation humaine, parmi lesquelles figurent l'alimentation animale, les usages agricoles, industriels ou pharmaceutiques et la recherche, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon**

Les dispositions figurant au présent article s'appliquent à l'ensemble des formes du virus de l'anémie infectieuse du saumon, y compris les variants RHP0.

Lors de l'importation d'*animaux aquatiques* appartenant à une des espèces visées à l'article 10.4.2., ou de produits issus d'animaux aquatiques dérivés de ces espèces, destinés à des fins autres que la consommation humaine, parmi lesquelles figurent l'alimentation animale, les usages agricoles, industriels ou pharmaceutiques et la recherche, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon, l'*Autorité compétente* du pays importateur doit exiger :

- 1) la livraison directe du chargement, ainsi que son maintien, dans des installations de quarantaine ou d'entreposage jusqu'à ce qu'il soit transformé en l'un des produits énumérés à l'alinéa 1 de l'article 10.4.3. ou en l'un en vue d'y être abattu et transformé en des produits autorisés par l'*Autorité compétente*, et
- 2) le traitement de l'eau de transport et celui de tous les effluents et déchets résultant des opérations de ~~transformation de manière à inactiver de l'eau (y compris sous forme de glace) ainsi que de l'ensemble des équipements, conteneurs et matériaux d'emballage utilisés lors du transport dans des conditions permettant d'inactiver~~ le virus de l'anémie infectieuse du saumon ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3., 4.7. et 5.5., et
- 3) le traitement de tous les effluents et de tous les déchets dans des conditions permettant d'inactiver le virus de l'anémie infectieuse du saumon ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3. et 4.7.

Cet article ne s'applique pas aux marchandises énumérées à l'alinéa 1 de l'article 10.4.3.

Article 10.4.15.**Importation d'animaux aquatiques destinés à des laboratoires ou à des établissements zoologiques à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon**

Lors d'une importation d'animaux aquatiques appartenant à une des espèces visées à l'article 10.4.2. qui sont destinés à des laboratoires ou à des établissements zoologiques à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon, l'Autorité compétente du pays importateur doit veiller :

- 1) à leur livraison directe, ainsi qu'à leur maintien à vie, dans des installations de quarantaine agréées par l'Autorité compétente, et
- 2) au traitement de l'eau (y compris sous forme de glace) ainsi que de l'ensemble des équipements, conteneurs et matériaux d'emballage utilisés lors du transport dans des conditions permettant d'inactiver le virus de l'anémie infectieuse du saumon ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3., 4.7. et 5.5., et
- 3) au traitement de tous les effluents et déchets issus des installations de quarantaine des laboratoires ou des établissements zoologiques dans des conditions permettant d'inactiver le virus de l'anémie infectieuse du saumon ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3. et 4.7., et
- 4) à l'élimination des cadavres conformément au chapitre 4.7.

Article 10.4.15-16.**Importation (ou transit par le territoire) d'animaux aquatiques et de produits issus d'animaux aquatiques pour la vente au détail de marchandises destinées à la consommation humaine, indépendamment du statut sanitaire du , à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment d'exportation non déclaré indemne au regard de l'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon**

Les dispositions figurant au présent article s'appliquent à l'ensemble des formes du virus de l'anémie infectieuse du saumon, y compris les variants RHP0.

- 1) Quel que soit le statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon, les *Autorités compétentes* ne doivent imposer aucune condition liée à ~~cette infection un tel virus~~ quand elles autorisent l'importation (ou le transit par leur territoire) de filets ou de darnes ou pavés de poisson congelés ou réfrigérés qui ont été préparés et emballés pour la vente au détail lorsqu'ils satisfont aux conditions requises à l'article 5.4.2.

Certaines hypothèses ont été posées concernant l'appréciation de la sécurité sanitaire des *produits issus d'animaux aquatiques* susvisés. Les États membres doivent donc se référer à ces hypothèses, figurant à l'article 5.4.2., et estimer si ces dernières s'appliquent à leur situation.

Lorsqu'ils l'estiment nécessaire, les États membres peuvent prendre des mesures au niveau national, visant à limiter les *risques* associés à l'utilisation ~~du type de marchandise~~ des produits issus d'animaux aquatiques susvisés à des fins autres que la consommation humaine.

- 2) Lors d'une importation ~~d'animaux aquatiques et de produits issus d'animaux aquatiques~~ appartenant à une des espèces visées à l'article 10.4.2., à l'exclusion de ceux mentionnés à l'alinéa 1 qui précède, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon, l'Autorité compétente du pays importateur doit apprécier le *risque* associé ~~au type de marchandise susvisé~~ à cette importation et appliquer des mesures appropriées visant à réduire ce *risque*.

Article 10.4.16-17.**Importation d'œufs désinfectés destinés à l'aquaculture à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon**

Les dispositions figurant au présent article s'appliquent à l'ensemble des formes du virus de l'anémie infectieuse du saumon, y compris les variants RHP0.

Annexe 13 (suite)

- 1) L'*Autorité compétente* du *pays importateur*, lorsqu'elle autorise l'importation d'œufs désinfectés destinés à son *aquaculture* d'une des espèces visées à l'article 10.4.2., à partir d'un pays, d'une *zone* ou d'un *compartiment* non déclaré indemne d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon, doit au moins apprécier le *risque* associé :
  - a) au statut sanitaire au regard de l'infection par le ~~du~~ virus de l'anémie infectieuse du saumon de l'eau utilisée pour la *désinfection* des œufs ;
  - b) à la prévalence de l'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon chez les géniteurs (dans le liquide ovarien et la laitance), et
  - c) à la température et au pH de l'eau utilisée lors de l'opération de *désinfection*.
  
- 2) L'*Autorité compétente* du *pays importateur*, si elle arrive à la conclusion que l'importation peut être acceptée, doit alors appliquer les mesures suivantes afin de réduire les *risques* encourus :
  - a) les œufs doivent être désinfectés préalablement à leur importation selon les recommandations contenues au chapitre 4.4. ou celles requises par l'*Autorité compétente* du *pays importateur*, et
  - b) il est nécessaire que les œufs désinfectés et destinés à l'importation n'entrent pas en contact avec du matériel susceptible de détériorer leur statut sanitaire.

Lorsqu'elle l'estime nécessaire, l'*Autorité compétente* peut prendre des mesures au niveau national, telles que le renouvellement de l'opération de *désinfection* des œufs dès l'arrivée dans le *pays importateur*.

  
- 3) L'*Autorité compétente* du *pays importateur*, lorsqu'elle autorise l'importation d'œufs désinfectés destinés à son *aquaculture* d'une des espèces visées à l'article 10.4.2., à partir d'un pays, d'une *zone* ou d'un *compartiment* non déclaré indemne d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon, doit exiger qu'ils soient accompagnés d'un *certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques* délivré par l'*Autorité compétente* du *pays exportateur*, ~~ou par un agent certificateur agréé par le pays importateur~~, et attestant que les mesures prévues à l'alinéa 2 du présent article ont été appliquées.

## CHAPITRE 10.2.

## INFECTION À *APHANOMYCES INVADANS* (SYNDROME ULCERATIF EPIZOOTIQUE)

## Article 10.2.1.

Aux fins de l'application du *Code aquatique*, l'expression « infection à *Aphanomyces invadans* » désigne toutes les infections causées par le champignon oomycète l'agent pathogène *Aphanomyces invadans* (synonyme : *A. piscicida*). La maladie était précédemment connue sous le nom de syndrome ulcératif épizootique.

Le *Manuel aquatique* contient des informations sur les méthodes de *diagnostic*.

## Article 10.2.2.

**Champ d'application**

Les recommandations de ce chapitre s'appliquent à *Acanthopagrus australis*, à la perche grimpeuse (*Anabas testudineus*), aux anguilles (Anguillidés), aux poissons-chats (Bagridés), à la perche (*Bidyanus bidyanus*), au menhaden tyran (*Brevoortia tyrannus*), aux carangues (*Caranx* spp.), au bhakur (*Catla catla*), à la tête de serpent strié (*Channa striatus*), au mrigal (*Cirrhinus mrigala*), aux claridés (*Clarius* spp.), aux exocets (Exocoetidés), à *Glossogobius giuris*, à *Oxyeleotris marmoratus*, aux gobies (Gobiidés), au rohu (*Labeorohita*), au labéo (*Labeo* spp.), au barramundi (*Lates calcarifer*), au mullet cabot (*Mugil cephalus*), aux mulets [Mugilidés] (*Mugil* spp. et *Liza* spp.), au ayu (*Plecoglossus altivelis*), au barbeau d'Asie (*Puntius sophore*), à *Scortum barcoo*, aux sillaginidés (*Sillago ciliata*), aux Siluridés, au gourami à peau de serpent (*Trichogaster pectoralis*), au poisson archer (*Toxotes chatareus*), au barbeau argenté (*Puntius gonionotus*), au scatophage (*Scatophagus argus*), au gourami (*Osphronemus guramy*), à *Platycephalus fuscus*, aux psettodidés (*Psettodes* sp.), à *Rhodeus ocellatus*, à *Rohtee* sp., au rotengle (*Scaridinius erythrophthalmus*), à *Terapon* sp. et au gourami bleu (*Trichogaster trichopterus*). Ces recommandations concernent également toutes les autres espèces sensibles visées dans le *Manuel aquatique* lorsqu'elles font l'objet d'échanges internationaux.

## Article 10.2.3.

**Importation, ou transit par le territoire, d'animaux aquatiques et de produits issus d'animaux aquatiques indépendamment de l'usage auquel ils sont destinés et du statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection à *A. invadans***

- 1) Quel que soit le statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection à *A. invadans*, les Autorités compétentes ne doivent imposer aucune condition liée à ~~cette infection *A. invadans*~~ quand elles autorisent, pour quelque usage que ce soit, l'importation, ou le transit par leur territoire, ~~des animaux aquatiques et des produits issus d'animaux aquatiques~~ énumérés ci-dessous lorsqu'il s'agit d'une espèce visée à l'article 10.2.2. et que ~~ces animaux ou ces produits~~ satisfont aux conditions requises à l'article 5.4.1. :
  - a) produits à base de poisson stérilisés par la chaleur (c'est-à-dire exposés à une température de 121 °C pendant au moins 3,6 minutes ou à toute combinaison de température et de temps ~~équivalente dont l'équivalence a été démontrée en termes d'inactivation de *A. invadans*~~) et présentés en conditionnement hermétique ;
  - b) produits pasteurisés à base de poisson ayant subi un traitement thermique à 90 °C pendant au moins dix minutes ou à toute combinaison de température et de temps dont l'équivalence a été démontrée en termes d'inactivation de *A. invadans* ;
  - c) poissons éviscérés et séchés par un procédé mécanique (c'est-à-dire ayant subi un traitement thermique à 100 °C pendant au moins 30 minutes ou à toute combinaison de température et de temps dont l'équivalence a été démontrée en termes d'inactivation de *A. invadans* ;
  - d) huile de poisson ;
  - e) farine de poisson ;
  - f) poissons éviscérés congelés ;
  - g) filets ou darnes / pavés de poisson congelés.

## Annexe 14 (suite)

- 2) Lorsque les *Autorités compétentes* autorisent l'importation, ou le transit par leur *territoire*, ~~d'animaux aquatiques ou de produits issus d'animaux aquatiques~~ appartenant à une des espèces visées à l'article 10.2.2. autres que ceux énumérés à l'alinéa 1 de l'article 10.2.3., elles doivent imposer le respect des conditions requises aux articles 10.2.7. à 10.2.44-12, en fonction du statut sanitaire du pays, de la *zone* ou du *compartiment* d'exportation au regard de l'infection à *A. invadans*.
- 3) L'*Autorité compétente* doit procéder à une *analyse des risques* conformément aux recommandations figurant au chapitre 2.1. lorsqu'elle envisage l'importation, ou le transit par son *territoire*, ~~d'animaux aquatiques et de produits issus d'animaux aquatiques~~ appartenant à une espèce non visée à l'article 10.2.2., mais dont on peut raisonnablement s'attendre à ce qu'ils posent un *risque* en termes de ~~propagation~~ transmission de l'infection à *A. invadans*. L'*Autorité* compétente du *pays exportateur* doit être tenue informée du résultat de cette analyse.

## Article 10.2.4.

**Pays indemne d'infection à *A. invadans***

En cas de partage d'une *zone* avec un ou plusieurs autres pays, un pays ne peut déposer une *auto-déclaration d'absence* d'infection à *A. invadans* que si tous les secteurs couverts par des étendues d'eaux partagées sont déclarés pays ou *zones* indemnes de cette *infection* (voir article 10.2.5.).

Comme indiqué à l'article 1.4.6., un pays peut déposer une *auto-déclaration d'absence* d'infection à *A. invadans* si :

- 1) un pays dans lequel ~~l'aucune~~ infection à *A. invadans* ~~n'a pas été détectée~~ n'est apparue depuis au moins dix ans malgré l'existence de conditions propices à son expression clinique, comme indiqué au chapitre correspondant du *Manuel aquatique*, peut déposer une *auto-déclaration d'absence* d'infection à *A. invadans* si les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer sur son *territoire* depuis au moins dix ans ;

OU

- 2) le statut sanitaire au regard de ~~la maladie~~ l'infection à *A. invadans* ~~n'était pas inconnu~~ avant la mise en œuvre de la *surveillance ciblée*, mais les conditions suivantes sont remplies :

- a) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins deux ans, et
- b) ~~une~~ la surveillance ciblée ~~comme indiqué, telle qu'elle est décrite~~ au chapitre 1.4. est mise en œuvre depuis au moins deux ans sans que ~~aucune~~ *A. invadans* ait été détecté ;

OU

- 3) ce pays, après avoir déposé une *auto-déclaration d'absence* d'infection à *A. invadans*, a perdu son statut indemne ~~de maladie~~ par suite de la détection d'une telle ~~infection~~ infection agent, mais les conditions suivantes sont remplies :

- a) dès la détection de *A. invadans* ~~de la maladie~~, le secteur touché a été déclaré *zone infectée* et une *zone de protection* a été établie, et
- b) les populations ~~infectées de la zone infectée~~ touchées par l'infection ont été ~~détruites ou abattues et~~ éliminées ~~de la zone infectée~~ par un moyen réduisant autant que possible ~~le risque~~ la probabilité de nouvelle ~~propagation~~ transmission de *A. invadans* ~~de la maladie~~, et les opérations de *désinfection* appropriées (comme indiqué au chapitre 4.3.) ont été ~~effectuées~~ réalisées, et
- c) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* existant antérieurement ont été réexaminées, et sont en place sans discontinuer, avec les modifications éventuellement nécessaires, depuis l'éradication de ~~la maladie~~ l'infection à *A. invadans*, et
- d) ~~une~~ la surveillance ciblée ~~comme indiqué, telle qu'elle est décrite~~ au chapitre 1.4. est mise en œuvre depuis au moins deux ans sans que ~~aucune~~ infection à *A. invadans* ait été détecté.

Entre-temps, tout ou partie du secteur non touché peut être déclaré *zone* indemne, pour autant que les conditions requises à l'alinéa 2 de l'article 10.2.5. soient remplies.

## Article 10.2.5.

**Compartiment ou zone indemne d'infection à *A. invadans***

En cas d'extension au-delà des frontières d'un pays, un *compartiment* ou une *zone* ne peut être déclaré indemne d'infection à *A. invadans* que si l'ensemble des *Autorités compétentes* concernées confirment que toutes les conditions voulues sont remplies.

Comme indiqué à l'article 1.4.6., un *compartiment* ou une *zone* situé sur le *territoire* d'un pays ou de plusieurs pays non déclarés indemnes d'infection à *A. invadans* peut être déclaré indemne de cette *infection* par l'*Autorité compétente* ~~de ce~~ du pays ou de l'ensemble des pays concernés si ~~ou par l'ensemble des Autorités compétentes concernées~~ :

- 1) un *compartiment* ou une *zone* où les espèces visées à l'article 10.2.2. sont présentes, mais où ~~la manifestation de la maladie n'a pas été observée~~ aucune infection à *A. invadans* n'est apparue depuis au moins dix ans malgré l'existence de conditions propices à son expression clinique, comme indiqué au chapitre correspondant du *Manuel aquatique*, peut être déclaré indemne d'infection à *A. invadans* si les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins dix ans ;

OU

- 2) le statut sanitaire au regard ~~de la maladie de l'infection à *A. invadans* n'était pas~~ inconnu avant la mise en œuvre de la *surveillance ciblée*, mais les conditions suivantes sont remplies :
  - a) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins deux ans, et
  - b) ~~une~~ la surveillance ciblée ~~comme indiqué, telle qu'elle est décrite~~ au chapitre 1.4., est mise en œuvre dans le *compartiment* ou la *zone* depuis au moins deux ans sans que ~~aucune infection à *A. invadans* ait été détecté~~ ;

OU

- 3) ce pays, après avoir déposé une *auto-déclaration d'absence* d'infection à *A. invadans* pour une *zone*, a perdu son statut indemne ~~de maladie~~ par suite de la détection d'une telle *infection agent* dans cette *zone*, mais les conditions suivantes sont remplies :
  - a) dès la détection ~~de la maladie de *A. invadans*~~, le secteur touché a été déclaré *zone infectée* et une *zone de protection* a été établie, et
  - b) les populations ~~infectées de la zone infectée touchées par l'infection~~ ont été détruites ou abattues et éliminées de la zone infectée par un moyen réduisant autant que possible ~~le risque la probabilité~~ de nouvelle propagation transmission de *A. invadans* de la maladie, et les opérations de *désinfection* appropriées (comme indiqué dans le chapitre 4.3.) ont été effectuées réalisées, et
  - c) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* existant antérieurement ont été réexaminées, et sont en place sans discontinuer, avec les modifications éventuellement nécessaires, depuis l'éradication de ~~la maladie l'infection à *A. invadans*~~, et
  - d) ~~une~~ la surveillance ciblée ~~comme indiqué, telle qu'elle est décrite~~ au chapitre 1.4. est mise en œuvre depuis au moins deux ans sans que ~~aucune *A. invadans* ait été détecté~~.

## Article 10.2.6.

**Maintien du statut indemne d'infection à *A. invadans***

Un pays, une *zone* ou un *compartiment* déclaré indemne d'infection à *A. invadans* conformément aux dispositions énoncées à l'alinéa 1, suivant le cas, des articles 10.2.4. ou 10.2.5. peut conserver son statut indemne au regard de cette *infection*, sous réserve que les *conditions élémentaires de sécurité biologique* soient constamment maintenues.

Un pays, une *zone* ou un *compartiment* déclaré indemne d'infection à *A. invadans* conformément aux dispositions énoncées à l'alinéa 2, suivant le cas, des articles 10.2.4. ou 10.2.5. peut interrompre la *surveillance ciblée* tout en conservant son statut indemne au regard de cette *infection*, sous réserve que soient constamment réunies les conditions propices à l'expression clinique de l'infection à *A. invadans*, comme indiqué au chapitre correspondant du *Manuel aquatique*, ~~soient réunies et ainsi~~ que les *conditions élémentaires de sécurité biologique*.

## Annexe 14 (suite)

Toutefois, dans les zones ou compartiments déclarés indemnes d'infection à *A. invadans* se trouvant dans des pays qui en sont infectés, ainsi que dans tous les cas où les conditions ne sont pas propices à l'expression clinique de l'infection à *A. invadans*, la surveillance ciblée doit être poursuivie à un niveau défini par le Service chargé de la santé des animaux aquatiques en rapport avec la probabilité d'introduction de l'infection.

Article 10.2.7.

**Importation d'animaux aquatiques et ou de produits issus d'animaux aquatiques à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment déclaré indemne d'infection à *A. invadans***

Lors d'une importation d'animaux aquatiques appartenant à une des espèces visées à l'article 10.2.2., ~~et~~ ou de produits issus d'animaux aquatiques dérivés de ces espèces, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment déclaré indemne d'infection à *A. invadans*, l'Autorité compétente du pays importateur doit exiger que l'envoi soit accompagné d'un certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques délivré par l'Autorité compétente du pays exportateur, ~~ou par un agent certificateur agréé par le pays importateur, et attestant~~. Le certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques doit attester que le lieu de production des animaux aquatiques ~~et~~ ou des produits issus d'animaux aquatiques est un pays, une zone ou un compartiment déclaré indemne d'infection à *A. invadans* ~~selon les~~ sur la base des procédures définies par les articles 10.2.4. ou 10.2.5., selon le cas, et par l'article 10.2.6.

~~Ce certificat~~ Le certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques doit être conforme au modèle reproduit au chapitre 5.11.

Cet article ne s'applique pas aux ~~marchandises~~ produits issus d'animaux aquatiques énumérées à l'alinéa 1 de l'article 10.2.3.

Article 10.2.8.

**Importation d'animaux aquatiques à des fins d'aquaculture, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection à *A. invadans***

Lors de l'importation, à des fins d'aquaculture, d'animaux aquatiques appartenant à une des espèces visées à l'article 10.2.2. à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection à *A. invadans*, l'Autorité compétente du pays importateur doit apprécier le risque associé ~~au type de marchandise susvisé à cette importation~~ conformément au chapitre 2.1. et prendre en considération les mesures de réduction du risque figurant aux alinéas 1 et 2 ci-dessous.

- 1) Si l'objectif est le grossissement et la récolte des animaux aquatiques importés, il convient d'appliquer les principes suivants :
  - a) la livraison directe et le maintien à vie des animaux aquatiques importés dans une installation de quarantaine, et
  - b) le traitement de toute l'eau utilisée pour le transport ainsi que de tous les équipements, effluents et déchets afin d'inactiver ~~toute l'eau de transport, de tout l'équipement,~~ de *A. invadans* conformément aux chapitres 4.3., 4.7. et 5.5.

OU

- 2) Si l'objectif est l'établissement d'une nouvelle population à des fins d'aquaculture, il convient d'appliquer les principes suivants :
  - a) dans le pays exportateur :
    - i) identifier les populations sources potentielles et évaluer les données sanitaires des animaux aquatiques qui les composent ;
    - ii) tester les populations sources conformément au chapitre 1.4. et sélectionner une population de géniteurs (F-0) d'animaux aquatiques présentant un statut sanitaire élevé au regard de l'infection à *A. invadans* ;
  - b) dans le pays importateur :
    - i) placer la population de géniteurs (F-0) importée dans une installation de quarantaine ;
    - ii) tester la population F-0 aux fins de la recherche de *A. invadans* conformément au chapitre 1.4. afin de déterminer si elle constitue une population de géniteurs adéquate ;
    - iii) produire une première génération (F-1) en quarantaine ;

## Annexe 14 (suite)

- iv) élever la population F-1 dans une installation de *quarantaine* où les conditions sont propices à l'expression clinique de l'infection à *A. invadans* (tels qu'ils sont décrits au chapitre 2.3.2. du *Manuel aquatique*), et prélever des échantillons et tester la présence de *A. invadans* chez cette population conformément au chapitre 1.4. du *Code aquatique* et au chapitre 2.3.2. du *Manuel aquatique*;
- v) si *A. invadans* n'est pas détecté dans la population F-1, cette dernière pourra être reconnue indemne d'infection à *A. invadans* et libérée de sa *quarantaine* ;
- vi) si *A. invadans* est détecté dans la population F-1, cette dernière ne sera pas libérée de sa *quarantaine* et sera tuée puis éliminée dans des conditions de sécurité biologique adéquates.

## Article 10.2.9.

**Importation d'animaux aquatiques et ou de produits issus d'animaux aquatiques à des fins de transformation ultérieure en vue de la consommation humaine, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection à *A. invadans***

Lors de l'importation, à des fins de transformation ultérieure en vue de la consommation humaine, d'*animaux aquatiques* appartenant à une des espèces visées à l'article 10.2.2., ou de produits issus d'animaux aquatiques dérivés de ces espèces, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection à *A. invadans*, l'*Autorité compétente* du pays importateur doit apprécier le risque associé à ce type de ~~merchandises~~ cette importation et, si la situation le justifie, exiger :

- 1) la livraison directe du chargement, ainsi que son maintien, et son entreposage dans des installations de *quarantaine* ou biosécurisées d'entreposage jusqu'au moment de sa transformation soit jusqu'à ce qu'il soit transformé en l'un des produits énumérés à l'alinéa 1 de l'article 10.2.3. ou, soit en l'un des produits mentionnés à l'alinéa 1 de l'article 10.2.44-12., ~~soit ou~~ en l'un des autres produits autorisés par l'*Autorité compétente*, et
- 2) le traitement de l'eau de transport et celui de tous les effluents et déchets résultant des opérations de transformation de l'eau (y compris sous forme de glace) ainsi que de l'ensemble des équipements, conteneurs et matériaux d'emballage utilisés lors du transport dans des conditions permettant d'inactiver *A. invadans* ou de les éliminer de manière à prévenir leur contact avec des espèces sensibles biosécurisée conformément aux chapitres 4.3., 4.7. et 5.5., et
- 3) le traitement de tous les effluents et de tous les déchets dans des conditions permettant d'inactiver *A. invadans* ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3. et 4.7.

Lorsqu'ils l'estiment nécessaire, les États membres peuvent prendre des mesures au niveau national, visant à limiter les risques associés à l'utilisation du type de marchandises des animaux aquatiques ou des produits issus d'animaux aquatiques susvisés à des fins autres que la consommation humaine.

## Article 10.2.10.

**Importation d'animaux aquatiques ou de produits issus d'animaux aquatiques appelés à entrer dans la composition d'aliments pour animaux ou destinés à des fins autres que la consommation humaine, parmi lesquelles figurent l'alimentation animale, les usages agricoles, industriels ou pharmaceutiques et la recherche, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection à *A. invadans***

Lors de l'importation d'*animaux aquatiques* appartenant à une des espèces visées à l'article 10.2.2., ou de produits issus d'animaux aquatiques dérivés de ces espèces, destinés à des fins autres que la consommation humaine, parmi lesquelles figurent l'alimentation animale, les usages agricoles, industriels ou pharmaceutiques et la recherche, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection à *A. invadans*, l'*Autorité compétente* du pays importateur doit exiger :

- 1) la livraison directe du chargement, ainsi que son maintien, dans des installations de *quarantaine* ou d'entreposage jusqu'à ce qu'il soit transformé en l'un des produits énumérés à l'alinéa 1 de l'article 10.2.3. ou en l'un en vue d'y être abattu et transformé en des produits autorisés par l'*Autorité compétente*, et
- 2) le traitement de l'eau de transport et celui de tous les effluents et déchets résultant des opérations de transformation de manière à inactiver de l'eau (y compris sous forme de glace) ainsi que de l'ensemble des équipements, conteneurs et matériaux d'emballage utilisés lors du transport dans des conditions permettant d'inactiver *A. invadans* ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3., 4.7. et 5.5., et

## Annexe 14 (suite)

- 3) le traitement de tous les effluents et de tous les déchets dans des conditions permettant d'inactiver *A. invadans* ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3. et 4.7.

Cet article ne s'applique pas aux ~~marchandises~~ énumérées à l'alinéa 1 de l'article 10.2.3.

## Article 10.2.11.

**Importation d'animaux aquatiques destinés à des laboratoires ou à des établissements zoologiques à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection à *A. invadans***

Lors d'une importation d'animaux aquatiques appartenant à une des espèces visées à l'article 10.2.2. qui sont destinés à des laboratoires ou à des établissements zoologiques à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection à *A. invadans*, l'Autorité compétente du pays importateur doit veiller :

- 1) à leur livraison directe, ainsi qu'à leur maintien à vie, dans des installations de quarantaine agréées par l'Autorité compétente, et
- 2) au traitement de l'eau (y compris sous forme de glace) ainsi que de l'ensemble des équipements, conteneurs et matériaux d'emballage utilisés lors du transport dans des conditions permettant d'inactiver *A. invadans* ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3., 4.7. et 5.5., et
- 3) au traitement de tous les effluents et déchets issus des installations de quarantaine des laboratoires ou des établissements zoologiques dans des conditions permettant d'inactiver *A. invadans* ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3. et 4.7., et
- 4) à l'élimination des cadavres conformément au chapitre 4.7.

## Article 10.2.11.12.

**Importation (ou transit par le territoire) d'animaux aquatiques et de produits issus d'animaux aquatiques pour la vente au détail de marchandises destinées à la consommation humaine, indépendamment du statut sanitaire du , à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment d'exportation non déclaré indemne au regard de l'infection à *A. invadans***

- 1) Quel que soit le statut sanitaire du pays, de la zone ou du *compartiment* d'exportation au regard de l'infection à *A. invadans*, les *Autorités compétentes* ne doivent imposer aucune condition liée à ~~*A. invadans* cette infection~~ quand elles autorisent l'importation (ou le transit par leur *territoire*) de filets ou de darnes ou pavés de poisson réfrigérés qui ont été préparés et emballés pour la vente au détail lorsqu'ils satisfont aux conditions requises à l'article 5.4.2.

Certaines hypothèses ont été posées concernant l'appréciation de la sécurité sanitaire des *produits issus d'animaux aquatiques* susvisés. Les États membres doivent donc se référer à ces hypothèses, figurant à l'article 5.4.2., et estimer si ces dernières s'appliquent à leur situation.

Lorsqu'ils l'estiment nécessaire, les États membres peuvent prendre des mesures au niveau national, visant à limiter les *risques* associés à l'utilisation ~~du type de marchandise des produits issus d'animaux aquatiques~~ susvisés à des fins autres que la consommation humaine.

- 2) Lors d'une importation ~~d'animaux aquatiques et de produits issus d'animaux aquatiques~~ appartenant à une des espèces visées à l'article 10.2.2., à l'exclusion de ceux mentionnés à l'alinéa 1 qui précède, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un *compartiment* non déclaré indemne d'infection à *A. invadans*, l'*Autorité compétente* du pays importateur doit apprécier le *risque* associé ~~à cette importation au type de marchandise~~ susvisé et appliquer des mesures appropriées visant à réduire ce *risque*.

## CHAPITRE 10.5.

## INFECTION PAR L'ALPHAVIRUS DES SALMONIDÉS

## Article 10.5.1.

**Dispositions générales**

Aux fins de l'application du *Code aquatique*, l'expression « infection par l'alphavirus des salmonidés » désigne l'infection causée par n'importe quel sous-type d'alphavirus des salmonidés. Il s'agit d'un agent pathogène appartenant au genre *Alphavirus* au sein de et à la famille des *Togaviridae*.

Le *Manuel aquatique* contient des informations sur les méthodes de *diagnostic*.

## Article 10.5.2.

**Champ d'application**

Les recommandations de ce chapitre s'appliquent au saumon atlantique (*Salmo salar*), à la truite brune (*Salmo trutta*) et à la truite arc-en-ciel (*Onchorynchus mykiss*). Ces recommandations concernent également toutes les autres espèces sensibles visées dans le *Manuel aquatique* lorsqu'elles font l'objet d'échanges internationaux.

## Article 10.5.3.

**Importation, ou transit par le territoire, d'animaux aquatiques et de produits issus d'animaux aquatiques indépendamment de l'usage auquel ils sont destinés et du statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection par l'alphavirus des salmonidés**

- 1) Quel que soit le statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection par l'alphavirus des salmonidés, les *Autorités compétentes* ne doivent imposer aucune condition liée à ~~cette infection un tel alphavirus~~ quand elles autorisent, pour quelque usage que ce soit, l'importation, ou le transit par leur territoire, des produits issus d'animaux aquatiques énumérés ci-dessous lorsqu'il s'agit d'une espèce visée à l'article 10.5.2. et que ces produits satisfont aux conditions requises à l'article 5.4.1. :
  - a) produits à base de poisson stérilisés par la chaleur (c'est-à-dire exposés à une température de 121 °C pendant au moins 3,6 minutes ou à toute combinaison de température et de temps équivalente dont l'équivalence a été démontrée en termes d'inactivation de l'alphavirus des salmonidés) et présentés en conditionnement hermétique ;
  - b) produits pasteurisés à base de poisson ayant subi un traitement thermique à 90 °C pendant au moins dix minutes ou à toute combinaison de température et de temps dont l'équivalence a été démontrée en termes d'inactivation de l'alphavirus des salmonidés ;
  - c) poissons éviscérés et séchés par un procédé mécanique (c'est-à-dire ayant subi un traitement thermique à 100 °C pendant 30 minutes ou à toute combinaison de température et de temps dont l'équivalence a été démontrée en termes d'inactivation de l'alphavirus des salmonidés ;
  - d) huile de poisson ;
  - e) farine de poisson ;
  - f) cuir de peau de poisson.
- 2) Lorsque les *Autorités compétentes* autorisent l'importation, ou le transit par leur territoire, ~~des animaux aquatiques~~ ou de produits issus d'animaux aquatiques appartenant à une des espèces visées à l'article 10.5.2. autres que ceux énumérés à l'alinéa 1 de l'article 10.5.3., elles doivent imposer le respect des conditions requises aux articles 10.5.7. à 10.5.12-13 en fonction du statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection par l'alphavirus des salmonidés.
- 3) L'*Autorité compétente* doit procéder à une analyse des risques conformément aux recommandations figurant au chapitre 2.1. lorsqu'elle envisage l'importation, ou le transit par son territoire, ~~d'animaux aquatiques ou de produits issus d'animaux aquatiques~~ appartenant à une espèce non visée à l'article 10.5.2., mais dont on peut raisonnablement s'attendre à ce qu'ils posent un risque en termes de propagation transmission de l'infection par de l'alphavirus des salmonidés. L'*Autorité compétente* du pays exportateur doit être tenue informée du résultat de cette analyse.

Annexe 15 (suite)

## Article 10.5.4.

**Pays indemne d'infection par l'alphavirus des salmonidés**

En cas de partage d'une zone avec un ou plusieurs autres pays, un pays ne peut déposer une *auto-déclaration d'absence* d'infection par l'alphavirus des salmonidés que si tous les secteurs couverts par des étendues d'eaux partagées sont déclarés pays ou zones indemnes de cette *infection* (voir article 10.5.5.).

Comme indiqué à l'article 1.4.6., un pays peut déposer une *auto-déclaration d'absence* d'infection par l'alphavirus des salmonidés si :

- 1) aucune des *espèces sensibles* visées à l'article 10.5.2. n'est présente et les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins deux ans ;

OU

- 2) l'une quelconque des *espèces sensibles* visées à l'article 10.5.2. est présente, mais les conditions suivantes sont remplies :
  - a) ~~la présence de la maladie n'a pas été observée~~ aucune infection par l'alphavirus des salmonidés n'est apparue depuis au moins dix ans malgré l'existence de conditions propices à son expression clinique (comme indiqué au chapitre correspondant du *Manuel aquatique*), et
  - b) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins dix ans ;

OU

- 3) le statut sanitaire au regard ~~de la maladie de l'infection par l'alphavirus des salmonidés~~ n'était pas inconnu avant la mise en œuvre de la *surveillance ciblée*, mais les conditions suivantes sont remplies :
  - a) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins deux ans, et
  - b) ~~une~~ la *surveillance ciblée* ~~comme indiqué, telle qu'elle est décrite~~ au chapitre 1.4. est mise en œuvre depuis au moins deux ans sans que l'alphavirus des salmonidés ait été détecté ;

OU

- 4) ce pays, après avoir déposé une *auto-déclaration d'absence* d'infection par l'alphavirus des salmonidés, a perdu son statut indemne ~~de maladie~~ par suite de la détection d'une telle ~~infection~~ infection alphavirus, mais les conditions suivantes sont remplies :
  - a) dès la détection ~~de la maladie de l'alphavirus des salmonidés~~, le secteur touché a été déclaré *zone infectée* et une *zone de protection* a été établie, et
  - b) les populations ~~infectées de la zone infectée~~ touchées par l'*infection* ont été ~~détruites ou abattues et éliminées de la zone infectée~~ par un moyen réduisant autant que possible le ~~risque~~ la probabilité de nouvelle ~~propagation~~ transmission de l'alphavirus des salmonidés de la maladie, et les opérations de *désinfection* appropriées (comme indiqué au chapitre 4.3.) ont été ~~effectuées~~ réalisées, et
  - c) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* existant antérieurement ont été réexaminées, et sont en place sans discontinuer, avec les modifications éventuellement nécessaires, depuis l'éradication de ~~la maladie~~ l'infection par l'alphavirus des salmonidés, et
  - d) ~~une~~ la *surveillance ciblée* ~~comme indiqué, telle qu'elle est décrite~~ au chapitre 1.4. est mise en œuvre depuis au moins deux ans sans que ~~aucune~~ l'alphavirus des salmonidés ait été détecté.

Entre-temps, tout ou partie du secteur non touché peut être déclaré *zone indemne*, pour autant que les conditions requises à l'alinéa 3 de l'article 10.5.5. soient remplies.

## Article 10.5.5.

**Compartiment ou zone indemne d'infection par l'alphavirus des salmonidés**

En cas d'extension au-delà des frontières d'un pays, un *compartiment* ou une *zone* ne peut être déclaré indemne d'infection par l'alphavirus des salmonidés que si l'ensemble des *Autorités compétentes* concernées confirment que toutes les conditions voulues sont remplies.

Comme indiqué à l'article 1.4.6., un *compartiment* ou une *zone* indemne d'infection par l'alphavirus des salmonidés situé sur le *territoire* d'un pays ou de plusieurs pays non déclarés indemnes de cette *infection* peut être déclaré indemne par l'*Autorité compétente de ce* du pays ou de l'ensemble des pays concernés si ~~ou par l'ensemble des~~ *Autorités compétentes concernées* :

- 1) aucune des *espèces sensibles* visées à l'article 10.5.2. n'est présente dans le *compartiment* ou la *zone* et les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins deux ans ;

OU

- 2) l'une quelconque des *espèces sensibles* visées à l'article 10.5.2. est présente dans le *compartiment* ou la *zone*, mais les conditions suivantes sont remplies :
  - a) ~~la présence de la maladie n'a pas été observée~~ aucune infection par l'alphavirus des salmonidés n'est pas apparue depuis au moins dix ans malgré l'existence de conditions propices à son expression clinique (comme indiqué au chapitre correspondant du *Manuel aquatique*), et
  - b) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins dix ans ;

OU

- 3) le statut sanitaire au regard de ~~la maladie~~ l'infection par l'alphavirus des salmonidés ~~n'était pas~~ inconnu avant la mise en œuvre de la *surveillance ciblée*, mais les conditions suivantes sont remplies :
  - a) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins deux ans, et
  - b) ~~une~~ la surveillance ciblée ~~comme indiqué, telle qu'elle est décrite~~ au chapitre 1.4., est mise en œuvre dans le *compartiment* ou la *zone* depuis au moins deux ans sans que ~~aucune infection~~ par l'alphavirus des salmonidés ait été détecté ;

OU

- 4) ce pays, après avoir déposé une *auto-déclaration d'absence* d'infection par l'alphavirus des salmonidés pour une *zone*, a perdu son statut indemne ~~de maladie~~ par suite de la détection d'une telle ~~infection~~ alphavirus dans cette *zone*, mais les conditions suivantes sont remplies :
  - a) dès la détection ~~de la maladie~~ de l'alphavirus des salmonidés, le secteur touché a été déclaré *zone infectée* et une *zone de protection* a été établie, et
  - b) les populations ~~infectées de la zone infectée touchées par l'infection~~ ont été détruites ou abattues et éliminées de la zone infectée par un moyen réduisant autant que possible le ~~risque~~ la probabilité de nouvelle ~~propagation~~ transmission de l'alphavirus des salmonidés de la maladie, et les opérations de *désinfection* appropriées (comme indiqué au chapitre 4.3.) ont été ~~effectuées~~ réalisées, et
  - c) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* existant antérieurement ont été réexaminées, et sont en place sans discontinuer, avec les modifications éventuellement nécessaires, depuis l'éradication de ~~la maladie~~ l'infection par l'alphavirus des salmonidés, et
  - d) ~~une~~ la surveillance ciblée ~~comme indiqué, telle qu'elle est décrite~~ au chapitre 1.4., est mise en œuvre depuis au moins deux ans sans que ~~aucune infection~~ par l'alphavirus des salmonidés ait été détecté.

## Annexe 15 (suite)

## Article 10.5.6.

**Maintien du statut indemne d'infection par l'alphavirus des salmonidés**

Un pays, une *zone* ou un *compartiment* déclaré indemne d'infection par l'alphavirus des salmonidés conformément aux dispositions énoncées aux alinéas 1 ou 2, suivant le cas, des articles 10.5.4. ou 10.5.5. peut conserver son statut indemne de cette *infection*, sous réserve que les *conditions élémentaires de sécurité biologique* soient constamment maintenues.

Une *zone* ou un *compartiment* déclaré indemne d'infection par l'alphavirus des salmonidés conformément aux dispositions énoncées à l'alinéa 3, suivant le cas, des articles 10.5.4. ou 10.5.5. peut interrompre la *surveillance ciblée* tout en conservant son statut indemne de cette *infection*, sous réserve que soient constamment réunies les conditions propices à l'expression clinique de l'infection par l'alphavirus des salmonidés, comme indiqué au chapitre correspondant du *Manuel aquatique*, ~~soient réunies~~ ainsi que les *conditions élémentaires de sécurité biologique*.

Toutefois, dans les *zones* ou *compartiments* déclarés indemnes ~~d'infection par l'alphavirus des salmonidés~~ se trouvant dans des pays qui ~~en~~ sont infectés, ainsi que dans tous les cas où les conditions ne sont pas propices à l'expression clinique ~~de l'infection par l'alphavirus des salmonidés~~, la *surveillance ciblée* doit être poursuivie à un niveau défini par le *Service chargé de la santé des animaux aquatiques* en rapport avec la probabilité d'introduction de l'*infection*.

## Article 10.5.7.

**Importation d'animaux aquatiques et ou de produits issus d'animaux aquatiques à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment déclaré indemne d'infection par l'alphavirus des salmonidés**

Lors d'une importation d'*animaux aquatiques* appartenant à une des espèces visées à l'article 10.5.2., ~~et~~ ou de *produits issus d'animaux aquatiques dérivés de ces espèces* à partir d'un pays, d'une *zone* ou d'un *compartiment* déclaré indemne d'infection par l'alphavirus des salmonidés, l'*Autorité compétente* du *pays importateur* doit exiger que l'envoi soit accompagné d'un *certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques* délivré par l'*Autorité compétente* du *pays exportateur*, ~~ou par un agent certificateur agréé par le pays importateur, et attestant. Le certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques doit attester~~ que le lieu de production des *animaux aquatiques* ~~et~~ ou des *produits issus d'animaux aquatiques* est un pays, une *zone* ou un *compartiment* déclaré indemne d'infection par l'alphavirus des salmonidés ~~selon les~~ sur la base des procédures définies par les articles 10.5.4. ou 10.5.5., selon le cas, et par l'article 10.5.6.

~~Ce certificat~~ Le certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques doit être conforme au modèle reproduit au chapitre 5.11.

Cet article ne s'applique pas aux ~~marchandises~~ produits issus d'animaux aquatiques énumérées à l'alinéa 1 de l'article 10.5.3.

## Article 10.5.8.

**Importation d'animaux aquatiques à des fins d'aquaculture, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par l'alphavirus des salmonidés**

Lors de l'importation, à des fins d'*aquaculture*, d'*animaux aquatiques* appartenant à une des espèces visées à l'article 10.5.2. à partir d'un pays, d'une *zone* ou d'un *compartiment* non déclaré indemne d'infection par l'alphavirus des salmonidés, l'*Autorité compétente* du *pays importateur* doit apprécier le *risque* associé ~~au type de marchandise susvisé~~ à cette importation conformément au chapitre 2.1. et prendre en considération les mesures de réduction du *risque* figurant aux alinéas 1 et 2 ci-dessous.

- 1) Si l'objectif est le grossissement et la récolte des *animaux aquatiques* importés, il convient d'appliquer les principes suivants :
  - a) la livraison directe et le maintien à vie des *animaux aquatiques* importés dans une installation de *quarantaine*, et
  - b) le traitement de toute l'eau utilisée pour le transport ainsi que de tous les équipements, effluents et déchets afin d'inactiver ~~toute l'eau de transport, de tout l'équipement, de et de tous les effluents et de tous les déchets~~ l'alphavirus des salmonidés conformément aux chapitres 4.3., 4.7. et 5.5.

OU

- 2) Si l'objectif est l'établissement d'une nouvelle population à des fins d'aquaculture, il convient d'appliquer les principes suivants :
- a) dans le *pays exportateur* :
    - i) identifier les populations sources potentielles et évaluer les données sanitaires des *animaux aquatiques* qui les composent ;
    - ii) tester les populations sources conformément au chapitre 1.4. et sélectionner une population de géniteurs (F-0) d'*animaux aquatiques* présentant un statut sanitaire élevé au regard de l'infection par l'alphavirus des salmonidés ;
  - b) dans le *pays importateur* :
    - i) placer la population de géniteurs (F-0) importée dans une installation de *quarantaine* ;
    - ii) tester la population F-0 aux fins de la recherche de l'alphavirus des salmonidés conformément au chapitre 1.4. afin de déterminer si elle constitue une population de géniteurs adéquate ;
    - iii) produire une première génération (F-1) en *quarantaine* ;
    - iv) élever la population F-1 dans une installation de *quarantaine* où les conditions sont propices à l'expression clinique de l'infection par l'alphavirus des salmonidés ~~(tels qu'ils sont décrits au chapitre 2.3.6. du Manuel aquatique)~~, et prélever des échantillons et tester sa présence chez cette population conformément au chapitre 1.4. du Code aquatique et au chapitre 2.3.6. du Manuel aquatique ;
    - v) si l'alphavirus des salmonidés n'est pas détecté dans la population F-1, cette dernière pourra être reconnue indemne d'infection par l'alphavirus des salmonidés et libérée de sa *quarantaine* ;
    - vi) si l'alphavirus des salmonidés est détecté dans la population F-1, cette dernière ne sera pas libérée de sa *quarantaine* et sera tuée puis éliminée dans des conditions de sécurité biologique adéquates.

Article 10.5.9.

**Importation d'animaux aquatiques et ou de produits issus d'animaux aquatiques à des fins de transformation ultérieure en vue de la consommation humaine, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par l'alphavirus des salmonidés**

Lors de l'importation, à des fins de transformation ultérieure en vue de la consommation humaine, d'*animaux aquatiques* appartenant à une des espèces visées à l'article 10.5.2. ou de produits issus d'animaux aquatiques dérivés de ces espèces, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un *compartiment* non déclaré indemne d'infection par l'alphavirus des salmonidés, l'*Autorité compétente* du *pays importateur* doit apprécier le *risque* associé à ce type de *marchandise* cette importation et, si la situation le justifie, exiger :

- 1) la livraison directe du chargement, ainsi que son maintien, et son entreposage dans des installations de *quarantaine* ou biosécurisées d'entreposage jusqu'au moment de sa transformation soit jusqu'à ce qu'il soit transformé en l'un des produits énumérés à l'alinéa 1 de l'article 10.5.3. ou, soit en l'un des produits mentionnés à l'alinéa 1 de l'article 10.5.44-12, soit ou en l'un des autres produits autorisés par l'*Autorité compétente*, et
- 2) le traitement de l'eau de transport et celui de tous les effluents et déchets résultant des opérations de transformation de l'eau (y compris sous forme de glace) ainsi que de l'ensemble des équipements, conteneurs et matériaux d'emballage utilisés lors du transport dans des conditions permettant d'inactiver l'alphavirus des salmonidés ou de les éliminer de manière à prévenir leur contact avec des espèces sensibles biosécurisée conformément aux chapitres 4.3., 4.7. et 5.5., et
- 3) le traitement de tous les effluents et de tous les déchets dans des conditions permettant d'inactiver l'alphavirus des salmonidés ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3. et 4.7.

Lorsqu'ils l'estiment nécessaire, les États membres peuvent prendre des mesures au niveau national, visant à limiter les *risques* associés à l'utilisation du type de marchandise des animaux aquatiques ou des produits issus d'animaux aquatiques susvisés à des fins autres que la consommation humaine.

Article 10.5.10.

**Importation d'animaux aquatiques ou de produits issus d'animaux aquatiques appelés à entrer dans la composition d'aliments pour animaux ou destinés à des fins autres que la consommation humaine, parmi lesquelles figurent l'alimentation animale, les usages agricoles, industriels ou pharmaceutiques et la recherche, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par l'alphavirus des salmonidés**

Lors de l'importation d'*animaux aquatiques* appartenant à une des espèces visées à l'article 10.5.2. ou de produits issus d'animaux aquatiques dérivés de ces espèces, destinés à des fins autres que la consommation humaine, parmi lesquelles figurent l'alimentation animale, les usages agricoles, industriels ou pharmaceutiques et la recherche, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un *compartiment* non déclaré indemne d'infection par l'alphavirus des salmonidés, l'*Autorité compétente* du *pays importateur* doit exiger :

## Annexe 15 (suite)

- 1) la livraison directe du chargement, ainsi que son maintien, dans des installations de quarantaine ou d'entreposage jusqu'à ce qu'il soit transformé en l'un des produits énumérés à l'alinéa 1 de l'article 10.5.3. ou en l'un en vue d'y être abattu et transformé en des produits autorisés par l'Autorité compétente, et
- 2) le traitement de l'eau de transport et celui de tous les effluents et déchets résultant des opérations de transformation de manière à inactiver de l'eau (y compris sous forme de glace) ainsi que de l'ensemble des équipements, conteneurs et matériaux d'emballage utilisés lors du transport dans des conditions permettant d'inactiver l'alphavirus des salmonidés ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3., 4.7. et 5.5., et
- 3) le traitement de tous les effluents et de tous les déchets dans des conditions permettant d'inactiver l'alphavirus des salmonidés ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3. et 4.7.

Cet article ne s'applique pas aux marchandises énumérées à l'alinéa 1 de l'article 10.5.3.

## Article 10.5.11.

**Importation d'animaux aquatiques destinés à des laboratoires ou à des établissements zoologiques à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par l'alphavirus des salmonidés**

Lors d'une importation d'animaux aquatiques appartenant à une des espèces visées à l'article 10.2.2. qui sont destinés à des laboratoires ou à des établissements zoologiques à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par l'alphavirus des salmonidés, l'Autorité compétente du pays importateur doit veiller :

- 1) à leur livraison directe, ainsi qu'à leur maintien à vie, dans des installations de quarantaine agréées par l'Autorité compétente, et
- 2) au traitement de l'eau (y compris sous forme de glace) ainsi que de l'ensemble des équipements, conteneurs et matériaux d'emballage utilisés lors du transport dans des conditions permettant d'inactiver l'alphavirus des salmonidés ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3., 4.7. et 5.5., et
- 3) au traitement de tous les effluents et déchets issus des installations de quarantaine des laboratoires ou des établissements zoologiques dans des conditions permettant d'inactiver l'alphavirus des salmonidés ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3. et 4.7., et
- 4) à l'élimination des cadavres conformément au chapitre 4.7.

## Article 10.5.12.

**Importation (ou transit par le territoire) d'animaux aquatiques et de produits issus d'animaux aquatiques pour la vente au détail de marchandises destinées à la consommation humaine, indépendamment du statut sanitaire du , à partir d'un pays, d'une de la zone ou d'un du compartiment d'exportation non déclaré indemne au regard de l'infection par l'alphavirus des salmonidés**

- 1) Quel que soit le statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection par l'alphavirus des salmonidés, les *Autorités compétentes* ne doivent imposer aucune condition liée à ~~cette infection un tel alphavirus~~ quand elles autorisent l'importation (ou le transit par leur territoire) de filets ou de darnes ou pavés de poisson congelés ou réfrigérés qui ont été préparés et emballés pour la vente au détail lorsqu'ils satisfont aux conditions requises à l'article 5.4.2.

Certaines hypothèses ont été posées concernant l'appréciation de la sécurité sanitaire des *produits issus d'animaux aquatiques* susvisés. Les États membres doivent donc se référer à ces hypothèses, figurant à l'article 5.4.2., et estimer si ces dernières s'appliquent à leur situation.

Lorsqu'ils l'estiment nécessaire, les États membres peuvent prendre des mesures au niveau national, visant à limiter les *risques* associés à l'utilisation ~~du type de marchandise des produits issus d'animaux aquatiques~~ susvisés à des fins autres que la consommation humaine.

- 2) Lors d'une importation ~~d'animaux aquatiques et de produits issus d'animaux aquatiques~~ appartenant à une des espèces visées à l'article 10.5.2., à l'exclusion de ceux mentionnés à l'alinéa 1 qui précède, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par l'alphavirus des salmonidés, l'*Autorité compétente* du pays importateur doit apprécier le *risque* associé ~~à cette importation au type de marchandise susvisé~~ et appliquer des mesures appropriées visant à réduire ce *risque*.

## Article 10.5.42-13.

**Importation d'œufs désinfectés destinés à l'aquaculture à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par l'alphavirus des salmonidés**

- 1) L'*Autorité compétente* du *pays importateur*, lorsqu'elle autorise l'importation d'œufs désinfectés destinés à son *aquaculture* d'une des espèces visées à l'article 10.5.2., à partir d'un pays, d'une *zone* ou d'un *compartiment* non déclaré indemne d'infection par l'alphavirus des salmonidés, doit au moins apprécier le risque associé :
  - a) au statut sanitaire au regard de l'infection par l'alphavirus des salmonidés de l'eau utilisée pour la *désinfection* des œufs ;
  - b) à la prévalence de l'infection par l'alphavirus des salmonidés chez les géniteurs, et
  - c) à la température et au pH de l'eau utilisée lors de l'opération de *désinfection*.
- 2) L'*Autorité compétente* du *pays importateur*, si elle arrive à la conclusion que l'importation peut être acceptée, doit alors appliquer les mesures suivantes afin de réduire les risques encourus :
  - a) les œufs doivent être désinfectés préalablement à leur importation selon les recommandations contenues au chapitre 4.4. ou celles requises par l'*Autorité compétente* du *pays importateur*, et
  - b) il est nécessaire que les œufs désinfectés et destinés à l'importation n'entrent pas en contact avec du matériel susceptible de détériorer leur statut sanitaire.

Lorsqu'elle l'estime nécessaire, l'*Autorité compétente* peut prendre des mesures au niveau national, telles que le renouvellement de l'opération de *désinfection* des œufs dès l'arrivée dans le *pays importateur*.

- 3) L'*Autorité compétente* du *pays importateur*, lorsqu'elle autorise l'importation d'œufs désinfectés destinés à son *aquaculture* d'une des espèces visées à l'article 10.5.2. à partir d'un pays, d'une *zone* ou d'un *compartiment* non déclaré indemne d'infection par l'alphavirus des salmonidés, doit exiger qu'ils soient accompagnés d'un *certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques* délivré par l'*Autorité compétente* du *pays exportateur*, ~~ou par un agent certificateur agréé par le pays importateur~~, et attestant que les mesures prévues à l'alinéa 2 du présent article ont été appliquées.



## CHAPITRE 10.6.

## INFECTION PAR LE VIRUS DE LA NÉCROSE HÉMATOPOÏÉTIQUE INFECTIEUSE

## Article 10.6.1.

Aux fins de l'application du *Code aquatique*, l'expression « infection par le virus de la nécrose hématopoïétique infectieuse » désigne une *infection* causée par le virus de la nécrose hématopoïétique infectieuse. Il s'agit d'un agent pathogène appartenant au genre *Novirhabdovirus* et à la famille des Rhabdoviridae.

Le *Manuel aquatique* contient des informations sur les méthodes de *diagnostic*.

## Article 10.6.2.

**Champ d'application**

Les recommandations de ce chapitre s'appliquent à la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*), à une des espèces de saumon du Pacifique (chinook [*Oncorhynchus tshawytscha*], sockeye [*Oncorhynchus nerka*], keta [*Oncorhynchus keta*], masou [*Oncorhynchus masou*], rose [*Oncorhynchus rhodurus*] et argenté [*Oncorhynchus kisutch*]), ainsi qu'au saumon de l'Atlantique (*Salmo salar*). Ces recommandations concernent également toutes les autres espèces sensibles visées dans le *Manuel aquatique* lorsqu'elles font l'objet d'échanges internationaux.

## Article 10.6.3.

**Importation, ou transit par le territoire, d'animaux aquatiques et de produits issus d'animaux aquatiques indépendamment de l'usage auquel ils sont destinés et du statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection par le virus de la nécrose hématopoïétique infectieuse**

- 1) Quel que soit le statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection par le virus de la nécrose hématopoïétique infectieuse, les Autorités compétentes ne doivent imposer aucune condition liée à ~~cette maladie un tel virus~~ quand elles autorisent, pour quelque usage que ce soit, l'importation, ou le transit par leur territoire, des produits issus d'animaux aquatiques énumérés ci-dessous lorsqu'il s'agit d'une espèce visée à l'article 10.6.2. et que ces produits satisfont aux conditions requises à l'article 5.4.1. :
  - a) produits à base de poisson stérilisés par la chaleur (c'est-à-dire exposés à une température de 121 °C pendant au moins 3,6 minutes ou à toute combinaison de température et de temps équivalente ~~dont l'équivalence a été démontrée en termes d'inactivation du virus de la nécrose hématopoïétique infectieuse~~) et présentés en conditionnement thermique ;
  - b) produits pasteurisés à base de poisson ayant subi un traitement thermique à 90 °C pendant au moins dix minutes ou à toute combinaison de température et de temps dont l'équivalence a été démontrée en termes d'inactivation du virus de la nécrose hématopoïétique infectieuse ;
  - c) poissons éviscérés et séchés par un procédé mécanique (c'est-à-dire ayant subi un traitement thermique à 100 °C pendant au moins 30 minutes ou à toute combinaison de température et de temps dont l'équivalence a été démontrée en termes d'inactivation du virus de la nécrose hématopoïétique infectieuse) ;
  - d) huile de poisson ;
  - e) farine de poisson ;
  - f) cuir de poisson.
- 2) Lorsque les Autorités compétentes autorisent l'importation, ou le transit par leur territoire, ~~d'animaux aquatiques ou de produits issus d'animaux aquatiques~~ appartenant à une des espèces visées à l'article 10.6.2. autres que ceux énumérés à l'alinéa 1 de l'article 10.6.3., elles doivent imposer le respect des conditions requises aux articles 10.6.7. à 10.6.42-13. en fonction du statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection par le virus de la nécrose hématopoïétique infectieuse.
- 3) L'Autorité compétente doit procéder à une analyse des risques conformément aux recommandations figurant au chapitre 2.1. lorsqu'elle envisage l'importation, ou le transit par son territoire, ~~d'animaux aquatiques ou de produits issus d'animaux aquatiques~~ appartenant à une espèce non visée à l'article 10.6.2., mais dont on peut raisonnablement s'attendre à ce qu'ils posent un risque en termes de propagation transmission du virus de la nécrose hématopoïétique infectieuse. L'Autorité compétente du pays exportateur doit être tenue informée du résultat de cette analyse.

## Annexe 16 (suite)

## Article 10.6.4.

**Pays indemne d'infection par le virus de la nécrose hématoïétique infectieuse**

En cas de partage d'une zone avec un ou plusieurs autres pays, un pays ne peut déposer une *auto-déclaration d'absence d'infection par le virus de la nécrose hématoïétique infectieuse* que si tous les secteurs couverts par des étendues d'eaux partagées sont déclarés pays ou zones indemnes de cette ~~maladie~~ *infection* (voir article 10.6.5.).

Comme indiqué à l'article 1.4.6., un pays peut déposer une *auto-déclaration d'absence d'infection par le virus de la nécrose hématoïétique infectieuse* si :

- 1) aucune des *espèces sensibles* visées à l'article 10.6.2. n'est présente et les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins deux ans ;

OU

- 2) l'une quelconque des *espèces sensibles* visées à l'article 10.6.2. est présente, mais les conditions suivantes sont remplies :

- a) ~~la présence de la maladie n'a pas été observée~~ aucune infection par le virus de la nécrose hématoïétique infectieuse n'est apparue depuis au moins dix ans malgré l'existence de conditions propices à son expression clinique (comme indiqué au chapitre correspondant du *Manuel aquatique*), et
- b) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins dix ans, et

OU

- 3) le statut sanitaire au regard ~~de la maladie de l'infection par le virus de la~~ de la nécrose hématoïétique infectieuse n'était pas inconnu avant la mise en œuvre de la *surveillance ciblée*, mais les conditions suivantes sont remplies :

- a) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins deux ans, et
- b) ~~une~~ la surveillance ciblée comme indiqué, telle qu'elle est décrite au chapitre 1.4. est mise en œuvre depuis au moins deux ans sans que le virus de la nécrose hématoïétique infectieuse ait été détecté ;

OU

- 4) ce pays, après avoir déposé une *auto-déclaration d'absence d'infection par le virus de la* nécrose hématoïétique infectieuse, a perdu son statut indemne par suite de la détection d'une telle ~~maladie~~ *infection*, mais les conditions suivantes sont remplies :

- a) dès la détection du virus de la nécrose hématoïétique infectieuse ~~de la maladie~~, le secteur touché a été déclaré *zone infectée* et une *zone de protection* a été établie, et
- b) les populations ~~infectées de la zone infectée~~ touchées par l'infection ont été ~~détruites ou abattues et éliminées de la zone infectée~~ par un moyen réduisant autant que possible le ~~risque~~ la probabilité de nouvelle ~~propagation~~ transmission du virus de la nécrose hématoïétique infectieuse ~~de la maladie~~, et les opérations de *désinfection* appropriées (comme indiqué au chapitre 4.3.) ont été ~~effectuées~~ réalisées, et
- c) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* existant antérieurement ont été réexaminées, et sont en place sans discontinuer, avec les modifications éventuellement nécessaires, depuis l'éradication de ~~la maladie~~ l'infection par le virus de la nécrose hématoïétique infectieuse, et
- d) ~~une~~ la surveillance ciblée comme indiqué, telle qu'elle est décrite au chapitre 1.4. est mise en œuvre depuis au moins deux ans sans que le virus de la nécrose hématoïétique infectieuse ait été détecté.

Entre-temps, tout ou partie du secteur non touché peut être déclaré *zone indemne*, pour autant que les conditions requises à l'alinéa 3 de l'article 10.6.5. soient remplies.

## Article 10.6.5.

**Compartiment ou zone indemne d'infection par le virus de la nécrose hématoïétique infectieuse**

En cas d'extension au-delà des frontières d'un pays, un *compartiment* ou une *zone* ne peut être déclaré indemne d'infection par le virus de la nécrose hématoïétique infectieuse que si l'ensemble des *Autorités compétentes* concernées confirment que toutes les conditions voulues sont remplies.

Comme indiqué à l'article 1.4.6., un *compartiment* ou une *zone* indemne d'infection par le virus de la nécrose hématoïétique infectieuse situé sur le *territoire* d'un pays ou de plusieurs pays non déclarés indemnes de cette ~~maladie~~ infection peut être déclaré indemne par l'*Autorité compétente* ~~de ce~~ du pays ou de l'ensemble des pays concernés si ~~ou par l'ensemble des~~ *Autorités compétentes* concernées :

- 1) aucune des *espèces sensibles* visées à l'article 10.6.2. n'est présente dans le *compartiment* ou la *zone* et les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins deux ans ;

OU

- 2) l'une quelconque des *espèces sensibles* visées à l'article 10.6.2. est présente dans le *compartiment* ou la *zone*, mais les conditions suivantes sont remplies :
  - a) ~~la présence de la maladie n'a pas été observée~~ aucune infection par le virus de la nécrose hématoïétique infectieuse n'est apparue depuis au moins dix ans malgré l'existence de conditions propices à son expression clinique (comme indiqué au chapitre correspondant du *Manuel aquatique*), et
  - b) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins dix ans ;

OU

- 3) le statut sanitaire au regard de ~~la maladie~~ l'infection par le virus de la nécrose hématoïétique infectieuse ~~n'était pas~~ inconnu avant la mise en œuvre de la *surveillance ciblée*, mais les conditions suivantes sont remplies :
  - a) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins deux ans, et
  - b) ~~une~~ la surveillance ciblée ~~comme indiqué, telle qu'elle est décrite~~ au chapitre 1.4., est mise en œuvre dans le *compartiment* ou la *zone* depuis au moins deux ans sans que le virus de la nécrose hématoïétique infectieuse ait été détecté ;

OU

- 4) ce pays, après avoir déposé une *auto-déclaration d'absence d'infection par le virus de la* nécrose hématoïétique infectieuse pour une *zone*, a perdu son statut indemne par suite de la détection d'une telle ~~maladie~~ virus dans cette *zone*, mais les conditions suivantes sont remplies :
  - a) dès la détection ~~de la maladie~~ du virus de la nécrose hématoïétique infectieuse, le secteur touché a été déclaré *zone infectée* et une *zone de protection* a été établie, et
  - b) les populations ~~infectées de la zone infectée touchées par l'infection~~ ont été détruites ou abattues et éliminées de la zone infectée par un moyen réduisant autant que possible le risque la probabilité de nouvelle propagation transmission du virus de la nécrose hématoïétique infectieuse ~~de la maladie~~, et les opérations de *désinfection* appropriées (comme indiqué au chapitre 4.3.) ont été ~~effectuées~~ réalisées, et
  - c) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* existant antérieurement ont été réexaminées, et sont en place sans discontinuer, avec les modifications éventuellement nécessaires, depuis l'éradication de ~~la maladie~~ l'infection par le virus de la nécrose hématoïétique infectieuse, et
  - d) ~~une~~ la surveillance ciblée ~~comme indiqué, telle qu'elle est décrite~~ au chapitre 1.4., est mise en œuvre depuis au moins deux ans sans que le virus de la nécrose hématoïétique infectieuse ait été détecté.

## Annexe 16 (suite)

## Article 10.6.6.

**Maintien du statut indemne d'infection par le virus de la nécrose hématoïétique infectieuse**

Un pays, une *zone* ou un *compartiment* déclaré indemne d'infection par le virus de la nécrose hématoïétique infectieuse conformément aux dispositions énoncées aux alinéas 1 ou 2, suivant le cas, des articles 10.6.4. ou 10.6.5. peut conserver son statut indemne au regard de cette infection ~~ette maladie~~, sous réserve que les *conditions élémentaires de sécurité biologique* soient constamment maintenues.

Un pays, une *zone* ou un *compartiment* déclaré indemne d'infection par le virus de la nécrose hématoïétique infectieuse conformément aux dispositions énoncées à l'alinéa 3, suivant le cas, des articles 10.6.4. ou 10.6.5., peut interrompre la *surveillance ciblée* tout en conservant son statut indemne au regard de cette infection ~~ette maladie~~, sous réserve que soient constamment réunies les conditions propices à l'expression clinique de l'infection par le virus de la nécrose hématoïétique infectieuse, comme indiqué au chapitre correspondant du *Manuel aquatique*, ~~soient réunies ainsi~~ que les *conditions élémentaires de sécurité biologique*.

Toutefois, dans les *zones* ou *compartiments* déclarés indemnes ~~de nécrose hématoïétique infectieuse~~ se trouvant dans des pays qui ~~en~~ sont infectés, ainsi que dans tous les cas où les conditions ne sont pas propices à l'expression clinique de l'infection par le virus de la nécrose hématoïétique infectieuse, la *surveillance ciblée* doit être poursuivie à un niveau défini par le *Service chargé de la santé des animaux aquatiques* en rapport avec la probabilité d'introduction de l'*infection*.

## Article 10.6.7.

**Importation d'animaux aquatiques ~~et~~ ou de produits issus d'animaux aquatiques à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment déclaré indemne d'infection par le virus de la nécrose hématoïétique infectieuse**

Lors d'une importation d'*animaux aquatiques* appartenant à une des espèces visées à l'article 10.6.2., ~~et~~ ou de *produits issus d'animaux aquatiques dérivés de ces espèces*, à partir d'un pays, d'une *zone* ou d'un *compartiment* déclaré indemne d'infection par le virus de la nécrose hématoïétique infectieuse, l'*Autorité compétente* du *pays importateur* doit exiger la présentation d'un *certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques* délivré par l'*Autorité compétente* du *pays exportateur*, ~~ou par un agent certificateur agréé par le pays importateur, et attestant.~~ Le certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques doit attester que le lieu de production des *animaux aquatiques* ~~et~~ ou des *produits issus d'animaux aquatiques* est un pays, une *zone* ou un *compartiment* déclaré indemne d'infection par le virus de la nécrose hématoïétique infectieuse ~~selon les~~ sur la base des procédures définies par les articles 10.6.4. ou 10.6.5., selon le cas, et par l'article 10.6.6.

~~Ce certificat~~ Le certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques doit être conforme au modèle reproduit au chapitre 5.11.

Cet article ne s'applique pas aux *marchandises* produits issus d'animaux aquatiques énumérées à l'alinéa 1 de l'article 10.6.3.

## Article 10.6.8.

**Importation d'animaux aquatiques à des fins d'aquaculture, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par le virus de la nécrose hématoïétique infectieuse**

Lors de l'importation, à des fins d'*aquaculture*, d'*animaux aquatiques* appartenant à une des espèces visées à l'article 10.6.2. à partir d'un pays, d'une *zone* ou d'un *compartiment* non déclaré indemne d'infection par le virus de la nécrose hématoïétique infectieuse, l'*Autorité compétente* du *pays importateur* doit apprécier le *risque* associé ~~au type de marchandise susvisé à cette importation~~ conformément au chapitre 2.1. et prendre en considération les mesures de réduction du *risque* figurant aux alinéas 1 et 2 ci-dessous.

- 1) Si l'objectif est le grossissement et la récolte des *animaux aquatiques* importés, il convient d'appliquer les principes suivants :
  - a) la livraison directe et le maintien à vie des *animaux aquatiques* importés dans une installation de *quarantaine*, et
  - b) le traitement de toute l'eau utilisée pour le transport ainsi que de tous les équipements, effluents et déchets afin d'inactiver ~~toute l'eau de transport, de tout l'équipement, de et de tous les effluents et de tous les déchets~~ le virus de la nécrose hématoïétique infectieuse conformément aux chapitres 4.3., 4.7. et 5.5.

OU

- 2) Si l'objectif est l'établissement d'une nouvelle population à des fins d'aquaculture, il convient d'appliquer les principes suivants :
- a) dans le *pays exportateur* :
    - i) identifier les populations sources potentielles et évaluer les données sanitaires des *animaux aquatiques* qui les composent ;
    - ii) tester les populations sources conformément au chapitre 1.4. et sélectionner une population de géniteurs (F-0) d'*animaux aquatiques* présentant un statut sanitaire élevé au regard de l'infection par le virus de la nécrose hématopoïétique infectieuse ;
  - b) dans le *pays importateur* :
    - i) placer la population de géniteurs (F-0) importée dans une installation de *quarantaine* ;
    - ii) tester la population F-0 aux fins de la recherche du virus de la nécrose hématopoïétique infectieuse conformément au chapitre 1.4. afin de déterminer si elle constitue une population de géniteurs adéquate ;
    - iii) produire une première génération (F-1) en *quarantaine* ;
    - iv) élever la population F-1 dans une installation de *quarantaine* où les conditions sont propices à l'expression clinique du virus de la nécrose hématopoïétique infectieuse ( ~~tels qu'ils sont décrits au chapitre 2.3.4. du Manuel aquatique~~), et prélever des échantillons et tester sa présence chez cette population conformément au chapitre 1.4. du Code aquatique et au chapitre 2.3.4. du Manuel aquatique ;
    - v) si le virus de la nécrose hématopoïétique infectieuse n'est pas détecté dans la population F-1, cette dernière pourra être reconnue indemne d'infection par le virus de la nécrose hématopoïétique infectieuse et libérée de sa *quarantaine* ;
    - vi) si le virus de la nécrose hématopoïétique infectieuse est détecté dans la population F-1, cette dernière ne sera pas libérée de sa *quarantaine* et sera tuée puis éliminée dans des conditions de sécurité biologique adéquates.

## Article 10.6.9.

**Importation d'animaux aquatiques et ou de produits issus d'animaux aquatiques à des fins de transformation ultérieure en vue de la consommation humaine, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par le virus de la nécrose hématopoïétique infectieuse**

Lors de l'importation, à des fins de transformation ultérieure en vue de la consommation humaine, d'*animaux aquatiques* appartenant à une des espèces visées à l'article 10.6.2., ou de produits issus d'animaux aquatiques dérivés de ces espèces, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par le virus de la nécrose hématopoïétique infectieuse, l'*Autorité compétente* du *pays importateur* doit apprécier le *risque* associé à  ~~ce type de marchandise~~ cette importation et, si la situation le justifie, exiger :

- 1) la livraison directe du chargement, ainsi que son maintien, et son entreposage dans des installations de *quarantaine* ou biosécurisées d'entreposage jusqu'au moment de sa transformation soit jusqu'à ce qu'il soit transformé en l'un des produits énumérés à l'alinéa 1 de l'article 10.6.3. ou, soit en l'un des produits mentionnés à l'alinéa 1 de l'article 10.6.11-12, soit ou en l'un des autres produits autorisés par l'Autorité compétente, et
- 2) le traitement  ~~de l'eau de transport et celui de tous les effluents et déchets résultant des opérations de transformation de l'eau (y compris sous forme de glace) ainsi que de l'ensemble des équipements, conteneurs et matériaux d'emballage utilisés lors du transport~~ dans des conditions permettant d'inactiver le virus de la nécrose hématopoïétique infectieuse ou de les éliminer de manière  ~~à prévenir leur contact avec des espèces sensibles~~ biosécurisée conformément aux chapitres 4.3., 4.7. et 5.5., et
- 3) le traitement de tous les effluents et de tous les déchets dans des conditions permettant d'inactiver le virus de la nécrose hématopoïétique infectieuse ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3. et 4.7.

Lorsqu'ils l'estiment nécessaire, les États membres peuvent prendre des mesures au niveau national, visant à limiter les *risques* associés à l'utilisation  ~~du type de marchandise~~ des animaux aquatiques ou des produits issus d'animaux aquatiques susvisés à des fins autres que la consommation humaine.

## Article 10.6.10.

**Importation d'animaux aquatiques ou de produits issus d'animaux aquatiques appelés à entrer dans la composition d'aliments pour animaux ou destinés à des fins autres que la consommation humaine, parmi lesquelles figurent l'alimentation animale, les usages agricoles, industriels ou pharmaceutiques et la recherche, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par le virus de la nécrose hématopoïétique infectieuse**

Lors de l'importation d'*animaux aquatiques* appartenant à une des espèces visées à l'article 10.6.2., ou de produits issus d'animaux aquatiques dérivés de ces espèces, destinés à des fins autres que la consommation humaine, parmi lesquelles figurent l'alimentation animale, les usages agricoles, industriels ou pharmaceutiques et la recherche, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par le virus de la nécrose hématopoïétique infectieuse, l'*Autorité compétente* du *pays importateur* doit exiger :

## Annexe 16 (suite)

- 1) la livraison directe du chargement, ainsi que son maintien, dans des installations de quarantaine ou d'entreposage jusqu'à ce qu'il soit transformé en l'un des produits énumérés à l'alinéa 1 de l'article 10.6.3. ou en l'un en vue d'y être abattu et transformé en des produits autorisés par l'Autorité compétente, et
- 2) ~~le traitement de l'eau de transport et celui de tous les effluents et déchets résultant des opérations de transformation de manière à inactiver de l'eau (y compris sous forme de glace) ainsi que de l'ensemble des équipements, conteneurs et matériaux d'emballage utilisés lors du transport permettant d'inactiver le virus de la nécrose hématoïétique infectieuse ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3., 4.7. et 5.5., et~~
- 3) le traitement de tous les effluents et de tous les déchets dans des conditions permettant d'inactiver le virus de la nécrose hématoïétique infectieuse ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3. et 4.7.

Cet article ne s'applique pas aux marchandises énumérées à l'alinéa 1 de l'article 10.6.3.

## Article 10.6.11.

**Importation d'animaux aquatiques destinés à des laboratoires ou à des établissements zoologiques à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par le virus de la nécrose hématoïétique infectieuse**

Lors d'une importation d'animaux aquatiques appartenant à une des espèces visées à l'article 10.6.2. qui sont destinés à des laboratoires ou à des établissements zoologiques à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par le virus de la nécrose hématoïétique infectieuse, l'Autorité compétente du pays importateur doit veiller :

- 1) à leur livraison directe, ainsi qu'à leur maintien à vie, dans des installations de quarantaine agréées par l'Autorité compétente, et
- 2) au traitement de l'eau (y compris sous forme de glace) ainsi que de l'ensemble des équipements, conteneurs et matériaux d'emballage utilisés lors du transport dans des conditions permettant d'inactiver le virus de la nécrose hématoïétique infectieuse ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3., 4.7. et 5.5., et
- 3) au traitement de tous les effluents et déchets issus des installations de quarantaine des laboratoires ou des établissements zoologiques dans des conditions permettant d'inactiver le virus de la nécrose hématoïétique infectieuse ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3. et 4.7., et
- 4) à l'élimination des cadavres conformément au chapitre 4.7.

## Article 10.6.11.12.

**Importation (ou transit par le territoire) d'animaux aquatiques et de produits issus d'animaux aquatiques pour la vente au détail de marchandises destinées à la consommation humaine, indépendamment du statut sanitaire du , à partir d'un pays, d'une zone ou d'un du compartiment d'exportation non déclaré indemne au regard de l'infection par le virus de la nécrose hématoïétique infectieuse**

- 1) Quel que soit le statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection par le virus de la nécrose hématoïétique infectieuse, les Autorités compétentes ne doivent imposer aucune condition liée à cette maladie un tel virus quand elles autorisent l'importation (ou le transit par leur territoire) de filets ou de darnes ou pavés de poisson congelés ou réfrigérés qui ont été préparés et emballés pour la vente au détail lorsqu'ils satisfont aux conditions requises à l'article 5.4.2.

Certaines hypothèses ont été posées concernant l'appréciation de la sécurité sanitaire des produits issus d'animaux aquatiques susvisés. Les États membres doivent donc se référer à ces hypothèses, figurant à l'article 5.4.2., et estimer si ces dernières s'appliquent à leur situation.

Lorsqu'ils l'estiment nécessaire, les États membres peuvent prendre des mesures au niveau national, visant à limiter les risques associés à l'utilisation du type de marchandise des produits issus d'animaux aquatiques susvisés à des fins autres que la consommation humaine.

- 2) Lors d'une importation d'animaux aquatiques et de produits issus d'animaux aquatiques appartenant à une des espèces visées à l'article 10.6.2., à l'exclusion de ceux mentionnés à l'alinéa 1 qui précède, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par le virus de la nécrose hématoïétique infectieuse, l'Autorité compétente du pays importateur doit apprécier le risque associé au type de marchandise susvisé à cette importation et appliquer des mesures appropriées visant à réduire ce risque.

## Article 10.6.42-13.

**Importation d'œufs désinfectés destinés à l'aquaculture à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré d'infection par le virus de la nécrose hématopoïétique infectieuse**

- 1) L'*Autorité compétente* du *pays importateur*, lorsqu'elle autorise l'importation d'œufs désinfectés destinés à son *aquaculture* d'une des espèces visées à l'article 10.6.2., à partir d'un pays, d'une *zone* ou d'un *compartiment* non déclaré indemne d'infection par le virus de la nécrose hématopoïétique infectieuse, doit au moins apprécier le *risque* associé :
  - a) au statut sanitaire au regard de l'infection par le virus de la nécrose hématopoïétique infectieuse de l'eau utilisée pour la *désinfection* des œufs ;
  - b) à la prévalence de l'infection ~~due au~~ par le virus de la nécrose hématopoïétique infectieuse chez les géniteurs (dans le liquide ovarien et la laitance), et
  - c) à la température et au pH de l'eau utilisée lors de l'opération de *désinfection*.
- 2) L'*Autorité compétente* du *pays importateur*, si elle arrive à la conclusion que l'importation peut être acceptée, doit alors appliquer les mesures suivantes afin de réduire les *risques* encourus :
  - a) les œufs doivent être désinfectés préalablement à leur importation selon les recommandations contenues au chapitre 4.4. ou celles requises par l'*Autorité compétente* du *pays importateur*, et
  - b) il est nécessaire que les œufs désinfectés et destinés à l'importation n'entrent pas en contact avec du matériel susceptible de détériorer leur statut sanitaire.

Lorsqu'elle l'estime nécessaire, l'*Autorité compétente* peut prendre des mesures au niveau national, telles que le renouvellement de l'opération de *désinfection* des œufs dès l'arrivée dans le *pays importateur*.

- 3) L'*Autorité compétente* du *pays importateur*, lorsqu'elle autorise l'importation d'œufs désinfectés destinés à son *aquaculture* d'une des espèces visées à l'article 10.6.2., à partir d'un pays, d'une *zone* ou d'un *compartiment* non déclaré indemne d'infection par le virus de la nécrose hématopoïétique infectieuse, doit exiger qu'ils soient accompagnés d'un *certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques* délivré par l'*Autorité compétente* du *pays exportateur*, ~~ou par un agent certificateur agréé par le pays importateur~~, et attestant que les mesures désignées à l'alinéa 2 de l'article 10.6.12. ont été appliquées.



## CHAPITRE 10.7.

## INFECTION PAR L'HERPÈSVIRUS HERPÈSVIROSE DE LA CARPE KOÏ

## Article 10.7.1.

Aux fins de l'application du *Code aquatique*, l'expression « infection par l'herpèsvirus herpèsvirose de la carpe koï » désigne une *infection* causée par ~~un virus de l'espèce~~ l'herpèsvirus de la carpe koï. Il s'agit d'un agent pathogène que les tentatives taxonomiques ont classé parmi la sous-famille des herpèsvirus des cyprinidés appartenant au genre *Cyprinivirus* et à la famille des Herpesviridae.

Le *Manuel aquatique* contient des informations sur les méthodes de *diagnostic*.

## Article 10.7.2.

**Champ d'application**

Les recommandations de ce chapitre s'appliquent à la carpe commune (*Cyprinus carpio carpio*), à la carpe goi (*Cyprinus carpio goi*), à la carpe koï (*Cyprinus carpio koï*) et aux hybrides de la carpe commune (par exemple, *Cyprinus carpio* x *Carassius auratus*). Ces recommandations concernent également toutes les autres espèces sensibles visées dans le *Manuel aquatique* lorsqu'elles font l'objet d'échanges internationaux.

## Article 10.7.3.

**Importation, ou transit par le territoire, d'animaux aquatiques et de produits issus d'animaux aquatiques indépendamment de l'usage auquel ils sont destinés et du statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection par l'herpèsvirus de la carpe koï**

- 1) Quel que soit le statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection par l'herpèsvirus herpèsvirose de la carpe koï, les *Autorités compétentes* ne doivent imposer aucune condition liée à ~~cette maladie un tel herpèsvirus~~ quand elles autorisent, pour quelque usage que ce soit, l'importation, ou le transit par leur territoire, des produits issus d'animaux aquatiques énumérés ci-dessous lorsqu'il s'agit d'une espèce visée à l'article 10.7.2. et que ces produits satisfont aux conditions requises à l'article 5.4.1. :
  - a) produits à base de poisson stérilisés par la chaleur (c'est-à-dire exposés à une température de 121 °C pendant au moins 3,6 minutes ou à toute combinaison de température et de temps équivalente dont l'équivalence a été démontrée en termes d'inactivation de l'herpèsvirus de la carpe koï et présentés en conditionnement hermétique ;
  - b) produits pasteurisés à base de poisson ayant subi un traitement thermique à 90 °C pendant au moins dix minutes ou à toute combinaison de température et de temps dont l'équivalence a été démontrée en termes d'inactivation de l'herpèsvirus de la carpe koï ;
  - c) poissons éviscérés et séchés par un procédé mécanique (c'est-à-dire ayant subi un traitement thermique à 100 °C pendant au moins 30 minutes ou à toute combinaison de température et de temps dont l'équivalence a été démontrée en termes d'inactivation de l'herpèsvirus de la carpe koï) ;
  - d) huile de poisson ;
  - e) farine de poisson.
- 2) Lorsque les *Autorités compétentes* autorisent l'importation, ou le transit par leur territoire, d'animaux aquatiques ou de produits issus d'animaux aquatiques appartenant à une des espèces visées à l'article 10.7.2. autres que ceux énumérés à l'alinéa 1 de l'article 10.7.3., elles doivent imposer le respect des conditions requises aux articles 10.7.7. à 10.7.44.12. en fonction du statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection par l'herpèsvirus herpèsvirose de la carpe koï.
- 3) L'*Autorité compétente* doit procéder à une analyse des risques conformément aux recommandations figurant au chapitre 2.1. lorsqu'elle envisage l'importation, ou le transit par son territoire, d'animaux aquatiques ou de produits issus d'animaux aquatiques appartenant à une espèce non visée à l'article 10.7.2., mais dont on peut raisonnablement s'attendre à ce qu'ils posent un risque en termes de propagation transmission de l'herpèsvirose de la carpe koï. L'*Autorité compétente* du pays exportateur doit être tenue informée du résultat de cette analyse.

Annexe 17 (suite)

## Article 10.7.4.

**Pays indemne d'herpèsvirose de la carpe koï de l'infection par l'herpèsvirus de la carpe koï**

En cas de partage d'une zone avec un ou plusieurs autres pays, un pays ne peut déposer une *auto-déclaration d'absence d'herpèsvirose de la carpe koï d'infection par l'herpèsvirus de la carpe koï* que si tous les secteurs couverts par des étendues d'eaux partagées sont déclarés pays ou zones indemnes de cette *maladie infection* (voir article 10.7.5.).

Comme indiqué à l'article 1.4.6., un pays peut déposer une *auto-déclaration d'absence d'herpèsvirose de la carpe koï d'infection par l'herpèsvirus de la carpe koï* si :

- 1) aucune des espèces sensibles visées à l'article 10.7.2. n'est présente et les conditions élémentaires de sécurité biologique sont réunies sans discontinuer depuis au moins deux ans ;

OU

- 2) l'une quelconque des espèces sensibles visées à l'article 10.7.2. est présente, mais les conditions suivantes sont remplies :

- a) ~~la présence de la maladie n'a pas été observée~~ aucune infection par l'herpèsvirus de la carpe koï n'est apparue depuis au moins dix ans malgré l'existence de conditions propices à son expression clinique (comme indiqué au chapitre correspondant du *Manuel aquatique*), et
- b) les conditions élémentaires de sécurité biologique sont réunies sans discontinuer depuis au moins dix ans ;

OU

- 3) le statut sanitaire au regard de ~~la maladie~~ l'infection par l'herpèsvirus de la carpe koï n'était pas inconnu avant la mise en œuvre de la surveillance ciblée, mais les conditions suivantes sont remplies :

- a) les conditions élémentaires de sécurité biologique sont réunies sans discontinuer depuis au moins deux ans, et
- b) ~~une~~ la surveillance ciblée ~~comme indiqué, telle qu'elle est décrite~~ au chapitre 1.4. est mise en œuvre depuis au moins deux ans sans que l'herpèsvirus de la carpe koï ait été détecté ;

OU

- 4) ce pays, après avoir déposé une *auto-déclaration d'absence de l'infection par l'herpèsvirus de la carpe koï*, a perdu son statut indemne par suite de la détection d'une ~~tel~~ *maladie tel herpèsvirus*, mais les conditions suivantes sont remplies :

- a) dès la détection ~~de la maladie de l'herpèsvirus de la carpe koï~~, le secteur touché a été déclaré zone infectée et une zone de protection a été établie, et
- b) les populations ~~infectées de la zone infectée touchées par l'infection~~ ont été détruites ou abattues et éliminées ~~de la zone infectée~~ par un moyen réduisant autant que possible le risque la probabilité de nouvelle propagation transmission de l'herpèsvirus de la carpe koï ~~de la maladie~~, et les opérations de désinfection appropriées (comme indiqué au chapitre 4.3.) ont été effectuées réalisées, et
- c) les conditions élémentaires de sécurité biologique existant antérieurement ont été réexaminées, et sont en place sans discontinuer, avec les modifications éventuellement nécessaires, depuis l'éradication de ~~la maladie~~ l'infection par l'herpèsvirus de la carpe koï, et
- d) ~~une~~ la surveillance ciblée ~~comme indiqué, telle qu'elle est décrite~~ au chapitre 1.4. est mise en œuvre depuis au moins deux ans sans que l'herpèsvirus de la carpe koï ait été détecté.

Entre-temps, tout ou partie du secteur non touché peut être déclaré zone indemne de la maladie, pour autant que les conditions requises à l'alinéa 3 de l'article 10.7.5. soient remplies.

## Article 10.7.5.

**Compartiment ou zone indemne d'herpèsvirose de la carpe koï d'infection par l'herpèsvirus de la carpe koï**

En cas d'extension au-delà des frontières d'un pays, un compartiment ou une zone ne peut être déclaré indemne ~~d'herpèsvirose de la carpe koï d'infection par l'herpèsvirus de la carpe koï~~ que si l'ensemble des Autorités compétentes concernées confirment que toutes les conditions voulues sont remplies.

## Annexe 17 (suite)

Comme indiqué à l'article 1.4.6., un *compartiment* ou une *zone* indemne d'infection par l'herpèsvirus de la carpe koï ~~d'herpèsvirose de la carpe koï~~ situé sur le *territoire* d'un pays ou de plusieurs pays non déclarés indemnes de cette maladie infection peut être déclaré indemne par l'*Autorité compétente* ~~de ce~~ du pays ou de l'ensemble des pays concernés si ~~ou par l'ensemble des Autorités compétentes concernées~~ :

- 1) aucune des *espèces sensibles* visées à l'article 10.7.2. n'est présente dans le *compartiment* ou la *zone* et les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins deux ans ;

OU

- 2) l'une quelconque des *espèces sensibles* visées à l'article 10.7.2. est présente dans le *compartiment* ou la *zone*, mais les conditions suivantes sont remplies :

- a) ~~la présence d~~ aucune infection par l'herpèsvirus de la carpe koï ~~herpèsvirose de la carpe koï~~ n'a pas été ~~observée~~ n'est apparue depuis au moins dix ans malgré l'existence de conditions propices à son expression clinique (comme indiqué au chapitre correspondant du *Manuel aquatique*), et
- b) ~~une~~ la surveillance ciblée ~~comme indiqué, telle qu'elle est décrite~~ au chapitre 1.4. est mise en œuvre depuis au moins dix ans sans que l'herpèsvirus de la carpe koï ait été détecté ;

OU

- 3) le statut sanitaire au regard de ~~la maladie~~ l'infection par l'herpèsvirus de la carpe koï n'était pas inconnu avant la mise en œuvre de la *surveillance ciblée*, mais les conditions suivantes sont remplies :

- a) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins deux ans, et
- b) ~~une~~ la surveillance ciblée ~~comme indiqué, telle qu'elle est décrite~~ au chapitre 1.4. est mise en œuvre dans le *compartiment* ou la *zone* depuis au moins deux ans sans que l'herpèsvirus de la carpe koï ait été détecté ;

OU

- 4) ce pays, après avoir déposé une *auto-déclaration d'absence* ~~d'herpèsvirose de la carpe koï~~ d'infection par l'herpèsvirus de la carpe koï pour une *zone*, a perdu son statut indemne par suite de la détection d'un tel herpèsvirus d'une telle maladie dans cette *zone*, mais les conditions suivantes sont remplies :

- a) dès la détection ~~de la maladie de~~ l'herpèsvirus de la carpe koï, le secteur touché a été déclaré *zone infectée* et une *zone de protection* a été établie, et
- b) les populations infectées ~~de la zone infectée touchées par l'infection~~ ont été ~~détruites ou abattues et~~ éliminées ~~de la zone infectée~~ par un moyen réduisant autant que possible ~~le risque~~ la probabilité de nouvelle ~~propagation~~ transmission de l'herpèsvirus de la carpe koï ~~de la maladie~~, et les opérations de *désinfection* appropriées (comme indiqué au chapitre 4.3.) ont été ~~effectuées~~ réalisées, et
- c) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* existant antérieurement ont été réexaminées, et sont en place sans discontinuer, avec les modifications éventuellement nécessaires, depuis l'éradication ~~la maladie de~~ l'infection par l'herpèsvirus de la carpe koï, et
- d) ~~une~~ la surveillance ciblée ~~comme indiqué, telle qu'elle est décrite~~ au chapitre 1.4. est mise en œuvre depuis au moins deux ans sans que l'herpèsvirus de la carpe koï ait été détecté.

## Article 10.7.6.

**Maintien du statut indemne d'herpèsvirose de la carpe koï d'infection par l'herpèsvirus de la carpe koï**

Un pays, une *zone* ou un *compartiment* déclaré indemne d'infection par l'herpèsvirus de la carpe koï ~~d'herpèsvirose de la carpe koï~~ conformément aux dispositions énoncées aux alinéas 1 ou 2, suivant le cas, des articles 10.7.4. ou 10.7.5. peut conserver son statut indemne de cette infection maladie, sous réserve que les *conditions élémentaires de sécurité biologique* soient constamment maintenues.

Un pays, une *zone* ou un *compartiment* déclaré indemne d'infection par l'herpèsvirus de la carpe koï ~~d'herpèsvirose de la carpe koï~~ conformément aux dispositions énoncées à l'alinéa 3, suivant le cas, des articles 10.7.4. ou 10.7.5. peut interrompre la *surveillance ciblée* tout en conservant son statut indemne de cette infection maladie, sous réserve que soient constamment réunies les conditions propices à l'expression clinique de l'infection par l'herpèsvirus de la carpe koï ~~de l'herpèsvirose de la carpe koï~~, comme indiqué au chapitre correspondant du *Manuel aquatique*, ~~soient réunies~~ ainsi que les *conditions élémentaires de sécurité biologique*.

## Annexe 17 (suite)

Toutefois, dans les zones ou compartiments déclarés indemnes ~~d'herpès-virose de la carpe koï~~ se trouvant dans des pays qui ~~en~~ sont infectés, ainsi que dans tous les cas où les conditions ne sont pas propices à l'expression clinique ~~de l'herpès-virose de la carpe koï de l'infection par l'herpès-virus de la carpe koï~~, la surveillance ciblée doit être poursuivie à un niveau défini par le Service chargé de la santé des animaux aquatiques en rapport avec la probabilité d'introduction de l'infection.

## Article 10.7.7.

**Importation d'animaux aquatiques et ou de produits issus d'animaux aquatiques à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment déclaré indemne ~~d'herpès-virose de la carpe koï~~ d'infection par l'herpès-virus de la carpe koï**

Lors d'une importation d'animaux aquatiques appartenant à une des espèces visées à l'article 10.7.2., et ou de produits issus d'animaux aquatiques dérivés de ces espèces, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment déclaré indemne d'infection par l'herpès-virus de la carpe koï ~~d'herpès-virose de la carpe koï~~, l'Autorité compétente du pays importateur doit exiger la présentation d'un certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques délivré par l'Autorité compétente du pays exportateur, ~~ou par un agent certificateur agréé par le pays importateur, et attestant. Le certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques doit~~ attester que le lieu de production des animaux aquatiques ~~et~~ ou des produits issus d'animaux aquatiques est un pays, une zone ou un compartiment déclaré indemne ~~d'herpès-virose de la carpe koï~~ d'infection par l'herpès-virus de la carpe koï ~~selon les~~ sur la base des procédures définies par les articles 10.7.4. ou 10.7.5., selon le cas, et par l'article 10.7.6.

~~Ce certificat~~ Le certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques doit être conforme au modèle reproduit au chapitre 5.11.

Cet article ne s'applique pas aux marchandises produits issus d'animaux aquatiques énumérées à l'alinéa 1 de l'article 10.7.3.

## Article 10.7.8.

**Importation d'animaux aquatiques à des fins d'aquaculture, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne ~~d'herpès-virose de la carpe koï~~ d'infection par l'herpès-virus de la carpe koï**

Lors de l'importation, à des fins d'aquaculture, d'animaux aquatiques appartenant à une des espèces visées à l'article 10.7.2. à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par l'herpès-virus de la carpe koï ~~d'herpès-virose de la carpe koï~~, l'Autorité compétente du pays importateur doit apprécier le risque associé ~~au type de marchandise susvisé à cette importation~~ conformément au chapitre 2.1. et prendre en considération les mesures de réduction du risque figurant aux alinéas 1 et 2 ci-dessous.

- 1) Si l'objectif est le grossissement et la récolte des animaux aquatiques importés, il convient d'appliquer les principes suivants :
  - a) la livraison directe et le maintien à vie des animaux aquatiques importés dans une installation de *quarantaine*, et
  - b) le traitement de toute l'eau utilisée pour le transport ainsi que de tous les équipements, effluents et déchets afin d'inactiver toute l'eau de transport, de tout l'équipement, de et de tous les effluents et de tous les déchets l'herpès-virus de la carpe koï conformément aux chapitres 4.3., 4.7. et 5.5.

OU

- 2) Si l'objectif est l'établissement d'une nouvelle population à des fins d'aquaculture, il convient d'appliquer les principes suivants :
  - a) dans le pays exportateur :
    - i) identifier les populations sources potentielles et évaluer les données sanitaires des animaux aquatiques qui les composent ;
    - ii) tester les populations sources conformément au chapitre 1.4. et sélectionner une population de géniteurs (F-0) d'animaux aquatiques présentant un statut sanitaire élevé au regard ~~de l'herpès-virose de la carpe koï de l'infection par l'herpès-virus de la carpe koï~~;
  - b) dans le pays importateur :
    - i) placer la population de géniteurs (F-0) importée dans une installation de *quarantaine* ;
    - ii) tester la population F-0 aux fins de la recherche de l'herpès-virus de la carpe koï conformément au chapitre 1.4. afin de déterminer si elle constitue une population de géniteurs adéquate ;
    - iii) produire une première génération (F-1) en *quarantaine* ;
    - iv) élever la population F-1 dans une installation de *quarantaine* où les conditions sont propices à l'expression clinique de ~~l'herpès-virose de la carpe~~ l'herpès-virus de la carpe koï ~~(tels qu'ils sont décrits au chapitre 2.3.7. du Manuel aquatique), et prélever des échantillons et tester sa présence chez cette population conformément au chapitre 1.4. du Code aquatique et au chapitre 2.3.7. du Manuel aquatique;~~

- v) si l'herpèsvirus de la carpe koï n'est pas détecté dans la population F-1, cette dernière pourra être reconnue indemne ~~d'herpèsvirose de la carpe koï~~ d'infection par l'herpèsvirus de la carpe koï et libérée de sa *quarantaine* ;
- vi) si l'herpèsvirus de la carpe koï est détecté dans la population F-1, cette dernière ne sera pas libérée de sa *quarantaine* et sera tuée puis éliminée dans des conditions de sécurité biologique adéquates.

## Article 10.7.9.

**Importation d'animaux aquatiques et ou de produits issus d'animaux aquatiques à des fins de transformation ultérieure en vue de la consommation humaine, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne ~~d'herpèsvirose de la carpe koï~~ d'infection par l'herpèsvirus de la carpe koï**

Lors de l'importation, à des fins de transformation ultérieure en vue de la consommation humaine, *d'animaux aquatiques* appartenant à une des espèces visées à l'article 10.7.2., ou de produits issus d'animaux aquatiques dérivés de ces espèces, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par l'herpèsvirus de la carpe koï, l'*Autorité compétente* du pays importateur doit apprécier le *risque* associé à ~~ce type de marchandise~~ cette importation et, si la situation le justifie, exiger :

- 1) la livraison directe du chargement, ainsi que son maintien, et son entreposage dans des installations de *quarantaine* ou *biosécurisées d'entreposage* jusqu'au moment de sa transformation soit jusqu'à ce qu'il soit transformé en l'un des produits énumérés à l'alinéa 1 de l'article 10.7.3. ou ~~soit en l'un des produits mentionnés à l'alinéa 1 de l'article 10.7.44-12,~~ soit ou en l'un des autres produits autorisés par l'*Autorité compétente*, et
- 2) le traitement de l'eau de transport et celui de tous les effluents et déchets résultant des opérations de transformation de l'eau (y compris sous forme de glace) ainsi que de l'ensemble des équipements, *conteneurs* et matériaux d'emballage utilisés lors du transport dans des conditions permettant d'inactiver l'herpèsvirus de la carpe koï ou de les éliminer de manière à prévenir leur contact avec des *espèces sensibles* biosécurisée conformément aux chapitres 4.3., 4.7. et 5.5., et
- 3) le traitement de tous les effluents et de tous les déchets dans des conditions permettant d'inactiver l'herpèsvirus de la carpe koï ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3. et 4.7.

Lorsqu'ils l'estiment nécessaire, les États membres peuvent prendre des mesures au niveau national, visant à limiter les *risques* associés à l'utilisation ~~du type de marchandise~~ des animaux aquatiques ou des produits issus d'animaux aquatiques susvisés à des fins autres que la consommation humaine.

## Article 10.7.10.

**Importation d'animaux aquatiques ou de produits issus d'animaux aquatiques appelés à entrer dans la composition d'aliments pour animaux ou destinés à des fins autres que la consommation humaine, parmi lesquelles figurent l'alimentation animale, les usages agricoles, industriels ou pharmaceutiques et la recherche, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne ~~d'herpèsvirose de la carpe koï~~ d'infection par l'herpèsvirus de la carpe koï**

Lors de l'importation d'*animaux aquatiques* appartenant à une des espèces visées à l'article 10.7.2., ou de produits issus d'animaux aquatiques dérivés de ces espèces, destinés à des fins autres que la consommation humaine, parmi lesquelles figurent l'alimentation animale, les usages agricoles, industriels ou pharmaceutiques et la recherche, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par l'herpèsvirus de la carpe koï ~~d'herpèsvirose de la carpe koï~~, l'*Autorité compétente* du pays importateur doit exiger :

- 1) la livraison directe du chargement, ainsi que son maintien, dans des installations de *quarantaine* ou d'entreposage jusqu'à ce qu'il soit transformé en l'un des produits énumérés à l'alinéa 1 de l'article 10.7.3. ou en l'un en vue d'y être abattu et transformé en des produits autorisés par l'*Autorité compétente*, et
- 2) que l'eau de transport et tous les effluents et déchets résultant des opérations de transformation soient traités de manière à inactiver l'herpèsvirus koï. le traitement de l'eau (y compris sous forme de glace) ainsi que de l'ensemble des équipements, *conteneurs* et matériaux d'emballage utilisés lors du transport dans des conditions permettant d'inactiver l'herpèsvirus de la carpe koï ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3., 4.7. et 5.5., et
- 3) le traitement de tous les effluents et de tous les déchets dans des conditions permettant d'inactiver l'herpèsvirus de la carpe koï ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3. et 4.7.

Cet article ne s'applique pas aux *marchandises* énumérées à l'alinéa 1 de l'article 10.7.3.

## Annexe 17 (suite)

Article 10.7.11.**Importation d'animaux aquatiques destinés à des laboratoires ou à des établissements zoologiques à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par l'herpèsvirus de la carpe koï**

Lors d'une importation d'animaux aquatiques appartenant à une des espèces visées à l'article 10.7.2. qui sont destinés à des laboratoires ou à des établissements zoologiques à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'herpèsvirose de la carpe koï, l'Autorité compétente du pays importateur doit veiller :

- 1) à leur livraison directe, ainsi qu'à leur maintien à vie, dans des installations de quarantaine agréées par l'Autorité compétente, et
- 2) au traitement de l'eau (y compris sous forme de glace) ainsi que de l'ensemble des équipements, conteneurs et matériaux d'emballage utilisés lors du transport dans des conditions permettant d'inactiver l'herpèsvirus de la carpe koï ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3., 4.7. et 5.5., et
- 3) au traitement de tous les effluents et déchets issus des installations de quarantaine des laboratoires ou des établissements zoologiques dans des conditions permettant d'inactiver l'herpèsvirus de la carpe koï ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3. et 4.7., et
- 4) à l'élimination des cadavres conformément au chapitre 4.7.

Article 10.7.11.12.**Importation (ou transit par le territoire) d'animaux aquatiques et de produits issus d'animaux aquatiques pour la vente au détail de marchandises destinées à la consommation humaine, indépendamment du statut sanitaire du , à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment d'exportation non déclaré indemne au regard de l'herpèsvirose de la carpe koï de l'infection par l'herpèsvirus de la carpe koï**

- 1) Quel que soit le statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection par l'herpèsvirus de la carpe koï de l'herpèsvirose de la carpe koï, les Autorités compétentes ne doivent imposer aucune condition liée à la ~~maladie un tel herpèsvirus~~ quand elles autorisent l'importation (ou le transit par leur territoire) de filets ou de darnes ou pavés de poisson congelés ou réfrigérés qui ont été préparés et emballés pour la vente au détail lorsqu'ils satisfont aux conditions requises à l'article 5.4.2.

Certaines hypothèses ont été posées concernant l'appréciation de la sécurité sanitaire des produits issus d'animaux aquatiques susvisés. Les États membres doivent donc se référer à ces hypothèses, figurant à l'article 5.4.2., et estimer si ces dernières s'appliquent à leur situation.

Lorsqu'ils l'estiment nécessaire, les États membres peuvent prendre des mesures au niveau national, visant à limiter les risques associés à l'utilisation ~~du type de marchandise~~ des produits issus d'animaux aquatiques susvisés à des fins autres que la consommation humaine.

- 2) Lors d'une importation ~~d'animaux aquatiques et de produits issus d'animaux aquatiques~~ appartenant à une des espèces visées à l'article 10.7.2., à l'exclusion de ceux mentionnés à l'alinéa 1 qui précède, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par l'herpèsvirus de la carpe koï ~~d'herpèsvirose de la carpe koï~~, l'Autorité compétente du pays importateur doit apprécier le risque associé à cette importation ~~au type de marchandise susvisé~~ et appliquer des mesures appropriées visant à réduire ce risque.

## CHAPITRE 10.8.

## INFECTION PAR L'IRIDOVIRUS IRIDOVIROSE DE LA DAURADE JAPONAISE

## Article 10.8.1.

Aux fins de l'application du *Code aquatique*, l'expression « infection par l'iridovirus de la daurade japonaise » désigne une *infection* causée par l'iridovirus de la daurade japonaise. Il s'agit d'un agent pathogène appartenant au genre *Megalocytivirus* et à la famille des Iridoviridae.

Le *Manuel aquatique* contient des informations sur les méthodes de *diagnostic*.

## Article 10.8.2.

**Champ d'application**

Les recommandations de ce chapitre s'appliquent au spare japonais (*Pagrus major*), à la sériole du Japon (*Seriola quinqueradiata*), à la sériole couronnée (*Seriola dumerili*), aux bars (*Lateolabrax* sp. et *Lates calcarifer*), au thon rouge (*Thunnus thynnus*), à *Oplegnathus fasciatus*, à *Caranx delicatissimus*, au poisson mandarin (*Siniperca chuatsi*), au tambour rouge (*Sciaenops ocellatus*), au mullet (*Mugil cephalus*) et aux mérous (*Epinephelus* spp.). Ces recommandations concernent également toutes les autres *espèces sensibles* visées dans le *Manuel aquatique* lorsqu'elles font l'objet d'*échanges internationaux*.

## Article 10.8.3.

**Importation, ou transit par le territoire, d'animaux aquatiques et de produits issus d'animaux aquatiques indépendamment de l'usage auquel ils sont destinés et du statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection par l'iridovirus l'iridovirose de la daurade japonaise**

- 1) Quel que soit le statut sanitaire du pays, de la *zone* ou du *compartiment* d'exportation au regard de l'infection par l'iridovirus l'iridovirose de la daurade japonaise, les *Autorités compétentes* ne doivent imposer aucune condition liée à ~~cette maladie un tel iridovirus~~ quand elles autorisent, pour quelque usage que ce soit, l'importation, ou le transit par leur *territoire*, des *produits issus d'animaux aquatiques* énumérés ci-dessous lorsqu'il s'agit d'une espèce visée à l'article 10.8.2. et que ces produits satisfont aux conditions requises à l'article 5.4.1. :
  - a) produits à base de poisson stérilisés par la chaleur (exposés à une température de 121 °C pendant au moins 3,6 minutes ou à toute combinaison de température et de temps ~~équivalente dont l'équivalence a été démontrée en termes d'inactivation de l'iridovirus de la daurade japonaise~~) et présentés en conditionnement hermétique ;
  - b) produits pasteurisés à base de poisson ayant subi un traitement thermique à 90 °C pendant au moins dix minutes ou à toute combinaison de température et de temps dont l'équivalence a été démontrée en termes d'inactivation de l'iridovirus de la daurade japonaise ;
  - c) poissons éviscérés et séchés par un procédé mécanique (c'est-à-dire ayant subi un traitement thermique à 100 °C pendant au moins 30 minutes ou à toute combinaison de température et de temps dont l'équivalence a été démontrée en termes d'inactivation de l'iridovirus de la daurade japonaise) ;
  - d) huile de poisson ;
  - e) farine de poisson ;
  - f) cuir de poisson.
- 2) Lorsque les *Autorités compétentes* autorisent l'importation, ou le transit par leur *territoire*, ~~des animaux aquatiques ou de produits issus d'animaux aquatiques~~ appartenant à une des espèces visées à l'article 10.8.2. autres que ceux énumérés à l'alinéa 1 de l'article 10.8.3., elles doivent imposer le respect des conditions requises aux articles 10.8.7. à 10.8.44-12 en fonction du statut sanitaire du pays, de la *zone* ou du *compartiment* d'exportation au regard de l'infection par l'iridovirus l'iridovirose de la daurade japonaise.
- 3) L'*Autorité compétente* doit procéder à une *analyse des risques* conformément aux recommandations figurant au chapitre 2.1. lorsqu'elle envisage l'importation, ou le transit par son *territoire*, ~~d'animaux aquatiques ou de produits issus d'animaux aquatiques~~ appartenant à une espèce non visée à l'article 10.8.2., mais dont on peut raisonnablement s'attendre à ce qu'ils posent un *risque* en termes de ~~propagation~~ transmission de l'iridovirus l'iridovirose de la daurade japonaise. L'*Autorité compétente* du *pays exportateur* doit être tenue informée du résultat de cette analyse.

## Annexe 18 (suite)

## Article 10.8.4.

**Pays indemne ~~d'iridovirose~~ d'infection par l'iridovirus de la daurade japonaise**

En cas de partage d'une zone avec un ou plusieurs autres pays, un pays ne peut déposer une *auto-déclaration d'absence d'iridovirose d'infection par l'iridovirus* de la daurade japonaise que si tous les secteurs couverts par des étendues d'eaux partagées sont déclarés pays ou zones indemnes de cette ~~maladie~~ *infection* (voir article 10.8.5.).

Comme indiqué à l'article 1.4.6., un pays peut déposer une *auto-déclaration d'absence d'iridovirose d'infection par l'iridovirus* de la daurade japonaise si :

- 1) aucune des *espèces sensibles* visées à l'article 10.8.2. n'est présente et les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins deux ans ;

OU

- 2) l'une quelconque des *espèces sensibles* visées à l'article 10.8.2. est présente, mais les conditions suivantes sont remplies :

- a) ~~la présence d'iridovirose de la daurade japonaise~~ *aucune infection par l'iridovirus de la daurade japonaise n'a pas été observée n'est apparue* depuis au moins dix ans malgré l'existence de conditions propices à son expression clinique (comme indiqué au chapitre correspondant du *Manuel aquatique*), et
- b) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins dix ans ;

OU

- 3) le statut sanitaire au regard de ~~la maladie~~ *l'infection par l'iridovirus de la daurade japonaise* n'était pas inconnu avant la mise en œuvre de la *surveillance ciblée*, les conditions suivantes sont remplies :

- a) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins deux ans, et
- b) ~~une~~ *la surveillance ciblée, comme indiqué telle qu'elle est décrite* au chapitre 1.4., est mise en œuvre depuis au moins deux ans sans que ~~d'iridovirose~~ *l'iridovirus* de la daurade japonaise ait été détecté ;

OU

- 4) ce pays, après avoir déposé une *auto-déclaration d'absence d'infection par l'iridovirus* de la daurade japonaise, a perdu son statut indemne par suite de la détection d'une telle ~~maladie~~ *iridovirus*, mais les conditions suivantes sont remplies :

- a) dès la détection de ~~la maladie~~ *l'iridovirus de la daurade japonaise*, le secteur touché a été déclaré *zone infectée* et une *zone de protection* a été établie, et
- b) les populations ~~infectées de la zone infectée~~ *touchées par l'infection* ont été ~~détruites ou abattues~~ *et éliminées de la zone infectée* par un moyen réduisant autant que possible le ~~risque~~ *la probabilité* de nouvelle ~~propagation~~ *transmission* de ~~l'iridovirus de la daurade japonaise de la maladie~~, et les opérations de *désinfection* appropriées (comme indiqué au chapitre 4.3.) ont été ~~effectuées~~ *réalisées*, et
- c) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* existant antérieurement ont été réexaminées, et sont en place sans discontinuer, avec les modifications éventuellement nécessaires, depuis l'éradication ~~la maladie de~~ *l'infection par l'iridovirus de la daurade japonaise*, et
- d) ~~une~~ *la surveillance ciblée comme indiqué, telle qu'elle est décrite* au chapitre 1.4., est mise en œuvre depuis au moins deux ans sans que ~~d'iridovirose~~ *l'iridovirus* de la daurade japonaise ait été détecté.

Entre-temps, tout ou partie du secteur non touché peut être déclaré *zone indemne*, pour autant que les conditions requises à l'alinéa 3 de l'article 10.8.5. soient remplies.

## Article 10.8.5.

**Compartiment ou zone indemne ~~d'iridovirose~~ d'infection par l'iridovirus de la daurade japonaise**

En cas d'extension au-delà des frontières d'un pays, un *compartiment* ou une *zone* ne peut être déclaré indemne ~~d'iridovirose~~ d'infection par l'iridovirus de la daurade japonaise que si l'ensemble des *Autorités compétentes* concernées confirment que toutes les conditions voulues sont remplies.

Comme indiqué à l'article 1.4.6., un *compartiment* ou une *zone* indemne ~~d'iridovirose~~ d'infection par l'iridovirus de la daurade japonaise situé sur le *territoire* d'un pays ou de plusieurs pays non déclarés indemnes de cette ~~maladie~~ *infection* peut être déclaré indemne par l'*Autorité compétente* ~~de ce~~ du pays ou de l'ensemble des pays concernés si ~~ou par l'ensemble des Autorités compétentes concernées~~ :

- 1) aucune des *espèces sensibles* visées à l'article 10.8.2. n'est présente dans le *compartiment* ou la *zone* et les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins deux ans ;

OU

- 2) l'une quelconque des *espèces sensibles* visées à l'article 10.8.2. est présente dans le *compartiment* ou la *zone*, mais les conditions suivantes sont remplies :
  - a) ~~la présence d'iridovirose~~ aucune infection par l'iridovirus de la daurade japonaise ~~n'a pas été observée~~ n'est apparue depuis au moins dix ans malgré l'existence de conditions propices à son expression clinique (comme indiqué au chapitre correspondant du *Manuel aquatique*), et
  - b) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins dix ans ;

OU

- 3) le statut sanitaire au regard de ~~la maladie~~ l'infection par l'iridovirus de la daurade japonaise n'était pas inconnu avant la mise en œuvre de la *surveillance ciblée*, mais les conditions suivantes sont remplies :
  - a) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins deux ans, et
  - b) ~~une~~ la *surveillance ciblée* comme indiqué, telle qu'elle est décrite au chapitre 1.4., est mise en œuvre dans le *compartiment* ou la *zone* depuis au moins deux ans sans que ~~l'iridovirose~~ l'iridovirus de la daurade japonaise ait été détecté ;

OU

- 4) le pays, après avoir déposé une *auto-déclaration d'absence* ~~d'iridovirose~~ d'infection par l'iridovirus de la daurade japonaise pour une *zone*, a perdu son statut indemne par suite de la détection d'une telle ~~maladie~~ *iridovirus* dans cette *zone*, mais les conditions suivantes sont remplies :
  - a) dès la détection de ~~la maladie~~ l'iridovirus de la daurade japonaise, le secteur touché a été déclaré *zone infectée* et une *zone de protection* a été établie, et
  - b) les populations ~~infectées de la zone infectée~~ touchées par l'*infection* ont été détruites ou abattues et éliminées de ~~la zone infectée~~ par un moyen réduisant autant que possible le ~~risque~~ la *probabilité* de nouvelle ~~propagation~~ transmission de l'iridovirus de la daurade japonaise de la ~~maladie~~, et les opérations de *désinfection* appropriées (comme indiqué au chapitre 4.3.) ont été ~~effectuées~~ réalisées, et
  - c) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* existant antérieurement ont été réexaminées, et sont en place sans discontinuer, avec les modifications éventuellement nécessaires, depuis l'éradication ~~la maladie de~~ l'infection par l'iridovirus de la daurade japonaise, et
  - d) ~~une~~ la *surveillance ciblée* comme indiqué, telle qu'elle est décrite au chapitre 1.4., est mise en œuvre depuis au moins deux ans sans que ~~d'iridovirose~~ l'iridovirus de la daurade japonaise ait été détecté.

## Annexe 18 (suite)

## Article 10.8.6.

**Maintien du statut indemne ~~d'iridovirose~~ d'infection par l'iridovirus de la daurade japonaise**

Un pays, une *zone* ou un *compartiment* déclaré indemne ~~d'iridovirose~~ d'infection par l'iridovirus de la daurade japonaise conformément aux dispositions énoncées aux alinéas 1 ou 2, suivant le cas, des articles 10.8.4. ou 10.8.5. peut conserver son statut indemne au regard de cette infection maladie, sous réserve que les *conditions élémentaires de sécurité biologique* soient constamment maintenues.

Un pays, une *zone* ou un *compartiment* déclaré indemne ~~d'iridovirose~~ d'infection par l'iridovirus de la daurade japonaise conformément aux dispositions énoncées à l'alinéa 3, suivant le cas, des articles 10.8.4. ou 10.8.5. peut interrompre la *surveillance ciblée* tout en conservant son statut indemne au regard de cette infection maladie, sous réserve que soient constamment réunies les conditions propices à l'expression clinique de l'infection par l'iridovirus de la daurade japonaise, comme indiqué au chapitre correspondant du *Manuel aquatique*, ~~soient réunies et que~~ ainsi que les *conditions élémentaires de sécurité biologique*.

Toutefois, dans les *zones* ou *compartiments* déclarés indemnes ~~d'iridovirose de la daurade japonaise~~ se trouvant dans des pays qui ~~en~~ sont infectés, ainsi que dans tous les cas où les conditions ne sont pas propices à l'expression clinique de l'infection par l'iridovirus de la daurade japonaise, la *surveillance ciblée* doit être poursuivie à un niveau défini par le *Service chargé de la santé des animaux aquatiques* en rapport avec la probabilité d'introduction de l'*infection*.

## Article 10.8.7.

**Importation d'animaux aquatiques et ou de produits issus d'animaux aquatiques à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment déclaré indemne ~~d'iridovirose~~ d'infection par l'iridovirus de la daurade japonaise**

Lors d'une importation d'*animaux aquatiques* appartenant à une des espèces visées à l'article 10.8.2., et ou de *produits issus d'animaux aquatiques dérivés de ces espèces*, à partir d'un pays, d'une *zone* ou d'un *compartiment* déclaré indemne ~~d'iridovirose~~ d'infection par l'iridovirus de la daurade japonaise, l'*Autorité compétente* du *pays importateur* doit exiger la présentation d'un *certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques* délivré par l'*Autorité compétente* du *pays exportateur*, ~~ou par un agent certificateur agréé par le pays importateur, et attestant.~~ Le certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques doit attester que le lieu de production des *animaux aquatiques* et ou des *produits issus d'animaux aquatiques* est un pays, une *zone* ou un *compartiment* déclaré indemne ~~d'iridovirose~~ d'infection par l'iridovirus de la daurade japonaise ~~selon les~~ sur la base des procédures définies par les articles 10.8.4. ou 10.8.5., selon le cas, et par l'article 10.8.6.

~~Ce certificat~~ Le certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques doit être conforme au modèle reproduit au chapitre 5.11.

Cet article ne s'applique pas aux *marchandises* produits issus d'animaux aquatiques énumérées à l'alinéa 1 de l'article 10.8.3.

## Article 10.8.8.

**Importation d'animaux aquatiques à des fins d'aquaculture, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne ~~d'iridovirose~~ d'infection par l'iridovirus de la daurade japonaise**

Lors de l'importation, à des fins d'*aquaculture*, d'*animaux aquatiques* appartenant à une des espèces visées à l'article 10.8.2. à partir d'un pays, d'une *zone* ou d'un *compartiment* non déclaré indemne ~~d'iridovirose~~ d'infection par le virus de la daurade japonaise, l'*Autorité compétente* du *pays importateur* doit apprécier le *risque* associé ~~au type de~~ à cette importation conformément au chapitre 2.1. et prendre en considération les mesures de réduction du *risque* figurant aux alinéas 1 et 2 ci-dessous.

- 1) Si l'objectif est le grossissement et la récolte des *animaux aquatiques* importés, il convient d'appliquer les principes suivants :
  - a) la livraison directe et le maintien à vie des *animaux aquatiques* importés dans une installation de *quarantaine*, et
  - b) le traitement de toute l'eau utilisée pour le transport ainsi que de tous les équipements, effluents et déchets afin d'inactiver toute l'eau de transport, de tout l'équipement, de et de tous les effluents et de tous les déchets l'iridovirus de la daurade japonaise conformément aux chapitres 4.3., 4.7. et 5.5.

OU

- 2) Si l'objectif est l'établissement d'une nouvelle population à des fins d'aquaculture, il convient d'appliquer les principes suivants :
- a) dans le pays exportateur :
    - i) identifier les populations sources potentielles et évaluer les données sanitaires des animaux aquatiques qui les composent ;
    - ii) tester les populations sources conformément au chapitre 1.4. et sélectionner une population de géniteurs (F-0) d'animaux aquatiques présentant un statut sanitaire élevé au regard de l'iridovirose l'infection par l'iridovirus de la daurade japonaise ;
  - b) dans le pays importateur :
    - i) placer la population de géniteurs (F-0) importée dans une installation de quarantaine ;
    - ii) tester la population F-0 aux fins de la recherche de l'iridovirus de la daurade japonaise conformément au chapitre 1.4. afin de déterminer si elle constitue une population de géniteurs adéquate ;
    - iii) produire une première génération (F-1) en quarantaine ;
    - iv) élever la population F-1 dans une installation de quarantaine où les conditions sont propices à l'expression clinique de l'iridovirose l'iridovirus de la daurade japonaise ~~(tels qu'ils sont décrits au chapitre 2.3.8. du Manuel aquatique)~~, et prélever des échantillons et tester sa présence chez cette population conformément au chapitre 1.4. du Code aquatique et au chapitre 2.3.8. du Manuel aquatique ;
    - v) si l'iridovirus de la daurade japonaise n'est pas détecté dans la population F-1, cette dernière pourra être reconnue indemne d'infection par l'iridovirus de la daurade japonaise et libérée de sa quarantaine ;
    - vi) si l'iridovirus de la daurade japonaise est détecté dans la population F-1, cette dernière ne sera pas libérée de sa quarantaine et sera tuée puis éliminée dans des conditions de sécurité biologique adéquates.

## Article 10.8.9.

**Importation d'animaux aquatiques et ou de produits issus d'animaux aquatiques à des fins de transformation ultérieure en vue de la consommation humaine, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'iridovirose d'infection par l'iridovirus de la daurade japonaise**

Lors de l'importation, à des fins de transformation ultérieure, d'animaux aquatiques appartenant à une des espèces visées à l'article 10.8.2., ou de produits issus d'animaux aquatiques dérivés de ces espèces, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'iridovirose d'infection par l'iridovirus de la daurade japonaise, l'Autorité compétente du pays importateur doit apprécier le risque associé à ~~ce type de marchandise~~ cette importation et, si la situation le justifie, exiger :

- 1) la livraison directe du chargement, ainsi que son maintien, et son entreposage dans des installations de quarantaine ou biosécurisées d'entreposage jusqu'au moment de sa transformation soit jusqu'à ce qu'il soit transformé en l'un des produits énumérés à l'alinéa 1 de l'article 10.8.3. ou, soit en l'un des produits mentionnés à l'alinéa 1 de l'article 10.8.44-12, soit ou en l'un des autres produits autorisés par l'Autorité compétente, et
- 2) le traitement ~~de l'eau de transport et celui de tous les effluents et déchets résultant des opérations de transformation de l'eau (y compris sous forme de glace) ainsi que de l'ensemble des équipements, conteneurs et matériaux d'emballage utilisés lors du transport~~ dans des conditions permettant d'inactiver l'iridovirus de la daurade japonaise ou de les éliminer de manière à prévenir leur contact avec des espèces sensibles biosécurisée conformément aux chapitres 4.3., 4.7. et 5.5., et
- 3) le traitement de tous les effluents et de tous les déchets dans des conditions permettant d'inactiver l'iridovirus de la daurade japonaise ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3. et 4.7.

Lorsqu'ils l'estiment nécessaire, les États membres peuvent prendre des mesures au niveau national, visant à limiter les risques associés à l'utilisation ~~du type de marchandise~~ des animaux aquatiques ou des produits issus d'animaux aquatiques susvisés à des fins autres que la consommation humaine.

## Article 10.8.10.

**Importation d'animaux aquatiques ou de produits issus d'animaux aquatiques appelés à entrer dans la composition d'aliments pour animaux ou destinés à des fins autres que la consommation humaine, parmi lesquelles figurent l'alimentation animale, les usages agricoles, industriels ou pharmaceutiques et la recherche, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par l'iridovirus de la daurade japonaise**

Lors de l'importation d'animaux aquatiques appartenant à une des espèces visées à l'article 10.8.2., ou de produits issus d'animaux aquatiques dérivés de ces espèces, destinés à des fins autres que la consommation humaine, parmi lesquelles figurent l'alimentation animale, les usages agricoles, industriels ou pharmaceutiques et la recherche, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par l'iridovirus de la daurade japonaise, l'Autorité compétente du pays importateur doit exiger :

## Annexe 18 (suite)

- 1) ~~la livraison directe du chargement, ainsi que son maintien, dans des installations de quarantaine ou d'entreposage jusqu'à ce qu'il soit transformé en l'un des produits énumérés à l'alinéa 1 de l'article 10.8.3. ou en l'un en vue d'y être abattu et transformé en~~ des produits autorisés par l'Autorité compétente, et
- 2) ~~le traitement de l'eau de transport et celui de tous les effluents et déchets résultant des opérations de transformation de manière à inactiver de l'eau (y compris sous forme de glace) ainsi que de l'ensemble des équipements, conteneurs et matériaux d'emballage utilisés lors du transport dans des conditions permettant d'inactiver l'iridovirus de l'iridovirose de la daurade japonaise ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3., 4.7. et 5.5., et~~
- 3) le traitement de tous les effluents et de tous les déchets dans des conditions permettant d'inactiver l'iridovirus de la daurade japonaise ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3. et 4.7.

Cet article ne s'applique pas aux marchandises énumérées à l'alinéa 1 de l'article 10.8.3.

## Article 10.8.11.

**Importation d'animaux aquatiques destinés à des laboratoires ou à des établissements zoologiques à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par l'iridovirus de la daurade japonaise**

Lors d'une importation d'animaux aquatiques appartenant à une des espèces visées à l'article 10.8.2. qui sont destinés à des laboratoires ou à des établissements zoologiques à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par l'iridovirus de la daurade japonaise, l'Autorité compétente du pays importateur doit veiller :

- 1) à leur livraison directe, ainsi qu'à leur maintien à vie, dans des installations de quarantaine agréées par l'Autorité compétente, et
- 2) au traitement de l'eau (y compris sous forme de glace) ainsi que de l'ensemble des équipements, conteneurs et matériaux d'emballage utilisés lors du transport dans des conditions permettant d'inactiver l'iridovirus de la daurade japonaise ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3., 4.7. et 5.5., et
- 3) au traitement de tous les effluents et déchets issus des installations de quarantaine des laboratoires ou des établissements zoologiques dans des conditions permettant d'inactiver l'iridovirus de la daurade japonaise ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3. et 4.7., et
- 4) à l'élimination des cadavres conformément au chapitre 4.7.

## Article 10.8.11.12.

**Importation (ou transit par le territoire) d'animaux aquatiques et de produits issus d'animaux aquatiques pour la vente au détail de marchandises destinées à la consommation humaine, indépendamment du statut sanitaire du pays, d'une zone ou d'un compartiment d'exportation non déclaré indemne au regard de l'infection par l'iridovirus de la daurade japonaise**

- 1) Quel que soit le statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'iridovirose l'infection par l'iridovirus de la daurade japonaise, les Autorités compétentes ne doivent imposer aucune condition liée à ~~cette maladie un tel iridovirus~~ quand elles autorisent l'importation (ou le transit par leur territoire) de filets ou de darnes / pavés de poisson congelés ou réfrigérés qui ont été préparés et emballés pour la vente au détail lorsqu'ils satisfont aux conditions requises à l'article 5.4.2.

Certaines hypothèses ont été posées concernant l'appréciation de la sécurité sanitaire des produits issus d'animaux aquatiques susvisés. Les États membres doivent donc se référer à ces hypothèses, figurant à l'article 5.4.2., et estimer si ces dernières s'appliquent à leur situation.

Lorsqu'ils l'estiment nécessaire, les États membres peuvent prendre des mesures au niveau national, visant à limiter les risques associés à l'utilisation ~~du type de marchandise des produits issus d'animaux aquatiques~~ susvisés à des fins autres que la consommation humaine.

- 2) Lors d'une importation ~~d'animaux aquatiques et de produits issus d'animaux aquatiques~~ appartenant à une des espèces visées à l'article 10.8.2., à l'exclusion de ceux mentionnés à l'alinéa 1 qui précède, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un *compartiment* non déclaré indemne ~~d'iridovirose~~ d'infection par l'iridovirus de la daurade japonaise, l'*Autorité compétente* du pays importateur doit apprécier le *risque* associé ~~au type de marchandise~~ susvisé à cette importation et appliquer des mesures appropriées visant à réduire ce *risque*.
-



## CHAPITRE 10.9.

## INFECTION PAR LE VIRUS DE LA VIRÉMIE PRINTANIÈRE DE LA CARPE

## Article 10.9.1.

Aux fins de l'application du *Code aquatique*, l'expression « infection par le virus de la virémie printanière de la carpe » désigne une *infection* causée le virus de la virémie printanière de la carpe. Il s'agit d'un agent pathogène que les tentatives taxonomiques ont classé parmi appartenant au le genre *Vesiculovirus* et à de la famille des Rhabdoviridae.

Le *Manuel aquatique* contient des informations sur les méthodes de *diagnostic*.

## Article 10.9.2.

**Champ d'application**

Les recommandations de ce chapitre s'appliquent à la carpe commune (*Cyprinus carpio carpio*) et à la carpe koï (*Cyprinus carpio koï*), au carassin (*Carassius carassius*), au silure glane (également connu sous le nom de poisson-chat) (*Silurus glanis*), à la carpe argentée (*Hypophthalmichthys molitrix*), à la carpe à grosse tête (*Aristichthys nobilis*), à la carpe herbivore ou amour blanc (*Ctenopharyngodon idella*), au cyprin doré (*Carassius auratus*), à l'ide mélanote (*Leuciscus idus*) et à la tanche (*Tinca tinca*). Ces recommandations concernent également toutes les autres espèces sensibles visées dans le *Manuel aquatique* lorsqu'elles font l'objet d'échanges internationaux.

## Article 10.9.3.

**Importation, ou transit par le territoire, d'animaux aquatiques et de produits issus d'animaux aquatiques indépendamment de l'usage auquel ils sont destinés et du statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection par le virus de la virémie printanière de la carpe**

- 1) Quel que soit le statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection par le virus de la virémie printanière de la carpe, les *Autorités compétentes* ne doivent imposer aucune condition liée à un tel virus à cette maladie quand elles autorisent, pour quelque usage que ce soit, l'importation, ou le transit par leur territoire, des produits issus d'animaux aquatiques énumérés ci-dessous lorsqu'il s'agit d'une espèce visée à l'article 10.9.2. et que ces produits satisfont aux conditions requises à l'article 5.4.1. :
  - a) produits à base de poisson stérilisés par la chaleur (c'est-à-dire exposés à une température de 121 °C pendant au moins 3,6 minutes ou à toute combinaison de température et de temps équivalente dont l'équivalence a été démontrée en termes d'inactivation du virus de la virémie printanière de la carpe) et présentés dans un conditionnement hermétique ;
  - b) produits pasteurisés à base de poisson ayant subi un traitement thermique à 90 °C pendant au moins dix minutes ou à toute combinaison de température et de temps dont l'équivalence a été démontrée en termes d'inactivation du virus de la virémie printanière de la carpe ;
  - c) poissons éviscérés et séchés par un procédé mécanique (c'est-à-dire ayant subi un traitement thermique à 100 °C pendant au moins 30 minutes ou à toute combinaison de température et de temps dont l'équivalence a été démontrée en termes d'inactivation du virus de la virémie printanière de la carpe) ;
  - d) huile de poisson ;
  - e) farine de poisson.
- 2) Lorsque les *Autorités compétentes* autorisent l'importation, ou le transit par leur territoire, des animaux aquatiques ou de produits issus d'animaux aquatiques appartenant à une des espèces visées à l'article 10.9.2. autres que ceux énumérés à l'alinéa 1 de l'article 10.9.3., les *Autorités compétentes* doivent imposer le respect des conditions requises aux articles 10.9.7. à 10.9.14-12. en fonction du statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection par le virus de la virémie printanière de la carpe.
- 3) L'*Autorité compétente* doit procéder à une analyse des risques conformément aux recommandations figurant au chapitre 2.1. lorsqu'elle envisage l'importation, ou le transit par son territoire, d'animaux aquatiques ou de produits issus d'animaux aquatiques appartenant à une espèce non visée à l'article 10.9.2., mais dont on peut raisonnablement s'attendre à ce qu'ils posent un risque en termes de propagation transmission du virus de la virémie printanière de la carpe. L'*Autorité compétente* du pays exportateur doit être tenue informée du résultat de cette analyse.

Annexe 19 (suite)

## Article 10.9.4.

**Pays indemne d'infection par le virus de la virémie printanière de la carpe**

En cas de partage d'une zone avec un ou plusieurs autres pays, un pays ne peut déposer une *auto-déclaration d'absence d'infection par le virus de la virémie printanière de la carpe* que si tous les secteurs couverts par des étendues d'eaux partagées sont déclarés pays ou zones indemnes de cette ~~maladie~~ infection (voir article 10.9.5.).

Comme indiqué à l'article 1.4.6., un pays peut déposer une *auto-déclaration d'absence d'infection par le virus de la virémie printanière de la carpe* si :

- 1) aucune des *espèces sensibles* visées à l'article 10.9.2. n'est présente et les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins deux ans ;

OU

- 2) l'une quelconque des *espèces sensibles* visées à l'article 10.9.2. est présente, mais les conditions suivantes sont remplies :

- a) ~~la présence de la maladie n'a pas été observée~~ aucune infection par le virus de la virémie printanière de la carpe n'est apparue depuis au moins dix ans malgré l'existence de conditions propices à son expression clinique (comme indiqué au chapitre correspondant du *Manuel aquatique*), et
- b) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins dix ans ;

OU

- 3) le statut sanitaire au regard de ~~la maladie~~ l'infection par le virus de la virémie printanière de la carpe n'était pas inconnu avant la mise en œuvre de la *surveillance ciblée*, mais les conditions suivantes sont remplies :

- a) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins deux ans, et
- b) ~~une~~ la surveillance ciblée comme indiqué, telle qu'elle est décrite au chapitre 1.4., est mise en œuvre depuis au moins deux ans sans que le virus de la virémie printanière de la carpe ait été détecté ;

OU

- 4) ce pays, après avoir déposé une *auto-déclaration d'absence d'infection par le virus de la virémie printanière de la carpe* a perdu son statut indemne par suite de la détection d'une telle ~~maladie~~ infection, mais les conditions suivantes sont remplies :

- a) dès la détection ~~de la maladie~~ du virus de la virémie printanière de la carpe, le secteur touché a été déclaré *zone infectée* et une *zone de protection* a été établie, et
- b) les populations ~~infectées de la zone infectée~~ touchées par l'infection ont été ~~détruites ou abattues et~~ éliminées ~~de la zone infectée~~ par un moyen réduisant autant que possible le ~~risque~~ la probabilité de nouvelle ~~propagation~~ transmission du virus de la virémie printanière de la carpe de la maladie, et les opérations de ~~désinfection~~ désinfection appropriées (comme indiqué au chapitre 4.3.) ont été ~~effectuées~~ réalisées, et
- c) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* existant antérieurement ont été réexaminées, et sont en place sans discontinuer, avec les modifications éventuellement nécessaires, depuis l'éradication de ~~la maladie~~ l'infection par le virus de la virémie printanière de la carpe, et
- d) ~~une~~ la surveillance ciblée comme indiqué, telle qu'elle est décrite au chapitre 1.4., est mise en œuvre depuis au moins deux ans sans que le virus de la virémie printanière de la carpe ait été détecté.

Entre-temps, tout ou partie du secteur non touché peut être déclaré *zone indemne* de la *maladie*, pour autant que les conditions requises à l'alinéa 3 de l'article 10.9.5. soient remplies.

## Article 10.9.5.

**Compartiment ou zone indemne d'infection par le virus de la virémie printanière de la carpe**

En cas d'extension au-delà des frontières d'un pays, un *compartiment* ou une *zone* ne peut être déclaré indemne ~~de~~ d'infection par le virus de la virémie printanière de la carpe que si l'ensemble des *Autorités compétentes* concernées confirment que toutes les conditions voulues sont remplies.

Comme indiqué à l'article 1.4.6., un *compartiment* ou une *zone* indemne ~~de~~ d'infection par le virus de la virémie printanière de la carpe situé sur le *territoire* d'un pays ou de plusieurs pays non déclarés indemnes de cette ~~maladie~~ infection peut être déclaré indemne par l'*Autorité compétente* ~~de ce~~ du pays ou de l'ensemble des pays concernés si ~~ou~~ par l'ensemble des *Autorités compétentes* concernées :

- 1) aucune des *espèces sensibles* visées à l'article 10.9.2. n'est présente dans le *compartiment* ou la *zone* et les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins deux ans ;

OU

- 2) l'une quelconque des *espèces sensibles* visées à l'article 10.9.2. est présente, mais les conditions suivantes sont remplies :

- a) ~~la présence de la maladie n'a pas été observée de~~ aucune infection par le virus de la virémie printanière de la carpe n'est apparue depuis au moins dix ans malgré l'existence de conditions propices à son expression clinique (comme indiqué au chapitre correspondant du *Manuel aquatique*), et
- b) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins dix ans ;

OU

- 3) le statut sanitaire au regard de l'infection par le virus de la virémie printanière de la carpe ~~la maladie~~ n'était pas inconnu avant la mise en œuvre de la *surveillance ciblée*, mais les conditions suivantes sont remplies :

- a) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins deux ans, et
- b) ~~une~~ la surveillance ciblée ~~comme indiqué, telle qu'elle est décrite~~ au chapitre 1.4., est mise en œuvre depuis au moins deux ans sans que le virus de la virémie printanière de la carpe ait été détecté ;

OU

- 4) le pays, après avoir déposé une *auto-déclaration d'absence d'infection par le virus de la virémie printanière de la carpe* pour une *zone*, a perdu son statut indemne par suite de la détection d'une telle ~~maladie~~ virus dans cette *zone*, mais les conditions suivantes sont remplies :

- a) dès la détection ~~de la maladie du virus de la virémie printanière de la carpe~~, le secteur touché a été déclaré *zone infectée* et une *zone de protection* a été établie, et
- b) les populations ~~infectées de la zone infectée~~ touchées par l'infection ont été ~~détruites ou abattues et~~ éliminées ~~de la zone infectée~~ par un moyen réduisant autant que possible ~~le risque~~ la probabilité de nouvelle ~~propagation~~ transmission du virus de la virémie printanière de la carpe de la maladie, et les opérations de *désinfection* appropriées (comme indiqué au chapitre 4.3.) ont été ~~effectuées~~ réalisées, et
- c) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* existant antérieurement ont été réexaminées, et sont en place sans discontinuer, avec les modifications éventuellement nécessaires, depuis l'éradication de ~~la maladie~~ l'infection par le virus de la virémie printanière de la carpe, et
- d) ~~une~~ la surveillance ciblée ~~comme indiqué, telle qu'elle est décrite~~ au chapitre 1.4., est mise en œuvre depuis au moins deux ans sans que le virus de la virémie printanière de la carpe ait été détecté.

## Annexe 19 (suite)

## Article 10.9.6.

**Maintien du statut indemne d'infection par le virus de la virémie printanière de la carpe**

Un pays, une zone ou un compartiment déclaré indemne d'infection par le virus de la virémie printanière de la carpe conformément aux dispositions énoncées aux alinéas 1 ou 2, suivant le cas, des articles 10.9.4. ou 10.9.5. peut conserver son statut indemne de cette infection maladie, sous réserve que les conditions élémentaires de sécurité biologique soient constamment maintenues.

Une zone ou un compartiment déclaré indemne d'infection par le virus de la virémie printanière de la carpe conformément aux dispositions énoncées à l'alinéa 3, suivant le cas, des articles 10.9.4. ou 10.9.5. peut interrompre la surveillance ciblée tout en conservant son statut indemne de cette infection maladie, sous réserve que soient constamment réunies les conditions propices à l'expression clinique de l'infection par le virus de la virémie printanière de la carpe, comme indiqué au chapitre correspondant du *Manuel aquatique*, ~~soient réunies ainsi~~ que les conditions élémentaires de sécurité biologique.

Toutefois, dans les zones ou compartiments déclarés indemnes de virémie printanière de la carpe se trouvant dans des pays qui ~~en~~ sont infectés, ainsi que dans tous les cas où les conditions ne sont pas propices à l'expression clinique de l'infection par le virus de la virémie printanière de la carpe, la surveillance ciblée doit être poursuivie à un niveau défini par le *Service chargé de la santé des animaux aquatiques* en rapport avec la probabilité d'introduction de *l'infection*.

## Article 10.9.7.

**Importation d'animaux aquatiques et ou de produits issus d'animaux aquatiques à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment déclaré indemne d'infection par le virus de la virémie printanière de la carpe**

Lors d'une importation d'*animaux aquatiques* appartenant à une des espèces visées à l'article 10.9.2., ~~et ou~~ de produits issus d'*animaux aquatiques dérivés de ces espèces*, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment déclaré indemne d'infection par le virus de la virémie printanière de la carpe, l'*Autorité compétente* du pays importateur doit exiger la présentation d'un certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques délivré par l'*Autorité compétente* du pays exportateur, ~~ou par un agent certificateur agréé par le pays importateur, et attestant. Le certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques doit attester~~ que le lieu de production des *animaux aquatiques* ~~et ou~~ des produits issus d'*animaux aquatiques* est un pays, une zone ou un compartiment déclaré indemne d'infection par le virus de la virémie printanière de la carpe ~~selon les~~ sur la base des procédures définies par les articles 10.9.4. ou 10.9.5., selon le cas, et par l'article 10.9.6.

~~Ce certificat~~ Le certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques doit être conforme au modèle reproduit au chapitre 5.11.

Cet article ne s'applique pas aux ~~marchandises~~ produits issus d'animaux aquatiques énumérées à l'alinéa 1 de l'article 10.9.3.

## Article 10.9.8.

**Importation d'animaux aquatiques à des fins d'aquaculture, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par le virus de la virémie printanière de la carpe**

Lors de l'importation, à des fins d'aquaculture, d'*animaux aquatiques* appartenant à une des espèces visées à l'article 10.9.2. à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par le virus de la virémie printanière de la carpe, l'*Autorité compétente* du pays importateur doit apprécier le risque associé ~~au type de~~ marchandise susvisé à cette importation conformément au chapitre 2.1. et prendre en considération les mesures de réduction du risque figurant aux alinéas 1 et 2 ci-dessous.

- 1) Si l'objectif est le grossissement et la récolte des *animaux aquatiques* importés, il convient d'appliquer les principes suivants :
  - a) la livraison directe et le maintien à vie des *animaux aquatiques* importés dans une installation de *quarantaine*, et
  - b) le traitement de toute l'eau utilisée pour le transport ainsi que de tous les équipements, effluents et déchets afin d'inactiver ~~toute l'eau de transport, de tout l'équipement, de et de tous les effluents et de tous les déchets~~ le virus de la virémie printanière de la carpe conformément aux chapitres 4.3., 4.7. et 5.5.

OU

- 2) Si l'objectif est l'établissement d'une nouvelle population à des fins d'aquaculture, il convient d'appliquer les principes suivants :
- a) dans le *pays exportateur* :
    - i) identifier les populations sources potentielles et évaluer les données sanitaires des *animaux aquatiques* qui les composent ;
    - ii) tester les populations sources conformément au chapitre 1.4. et sélectionner une population de géniteurs (F-0) d'*animaux aquatiques* présentant un statut sanitaire élevé au regard de l'infection par le virus de la virémie printanière de la carpe ;
  - b) dans le *pays importateur* :
    - i) placer la population de géniteurs (F-0) importée dans une installation de *quarantaine* ;
    - ii) tester la population F-0 aux fins de la recherche du virus de la virémie printanière de la carpe conformément au chapitre 1.4. afin de déterminer si elle constitue une population de géniteurs adéquate ;
    - iii) produire une première génération (F-1) en *quarantaine* ;
    - iv) élever la population F-1 dans une installation de *quarantaine* où les conditions sont propices à l'expression clinique du virus de la virémie printanière de la carpe (tels qu'ils sont décrits au chapitre 2.3.9. du Manuel aquatique), et prélever des échantillons et tester sa présence chez cette population conformément au chapitre 1.4. du Code aquatique et au chapitre 2.3.9. du Manuel aquatique ;
    - v) si le virus de la virémie printanière de la carpe n'est pas détecté dans la population F-1, cette dernière pourra être reconnue indemne d'infection par le virus de la virémie printanière de la carpe et libérée de sa *quarantaine* ;
    - vi) si le virus de la virémie printanière de la carpe est détecté dans la population F-1, cette dernière ne sera pas libérée de sa *quarantaine* et sera tuée puis éliminée dans des conditions de sécurité biologique adéquates.

## Article 10.9.9.

**Importation d'animaux aquatiques et ou de produits issus d'animaux aquatiques à des fins de transformation ultérieure en vue de la consommation humaine, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par le virus de la virémie printanière de la carpe**

Lors de l'importation, à des fins de transformation ultérieure en vue de la consommation humaine, d'*animaux aquatiques* appartenant à une des espèces visées à l'article 10.9.2. ou de produits issus d'animaux aquatiques dérivés de ces espèces, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par le virus de la virémie printanière de la carpe, l'*Autorité compétente* du pays importateur doit apprécier le *risque* associé à ce type de merchandise cette importation et, si la situation le justifie, exiger :

- 1) la livraison directe du chargement, ainsi que son maintien, et son entreposage dans des installations de *quarantaine* ou biosécurisées d'entreposage jusqu'au moment de sa transformation soit jusqu'à ce qu'il soit transformé en l'un des produits énumérés à l'alinéa 1 de l'article 10.9.3. ou, soit en l'un des produits mentionnés à l'alinéa 1 de l'article 10.9.4.12, soit ou en l'un des autres produits autorisés par l'Autorité compétente, et
- 2) le traitement de l'eau de transport et celui de tous les effluents et déchets résultant des opérations de transformation de l'eau (y compris sous forme de glace) ainsi que de l'ensemble des équipements, conteneurs et matériaux d'emballage utilisés lors du transport dans des conditions permettant d'inactiver le virus de la virémie printanière de la carpe ou de les éliminer de manière à prévenir leur contact avec des espèces sensibles biosécurisée conformément aux chapitres 4.3., 4.7. et 5.5., et
- 3) le traitement de tous les effluents et de tous les déchets dans des conditions permettant d'inactiver le virus de la virémie printanière de la carpe ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3. et 4.7.

Lorsqu'ils l'estiment nécessaire, les États membres peuvent prendre des mesures au niveau national, visant à limiter les *risques* associés à l'utilisation du type de marchandise des animaux aquatiques ou des produits issus d'animaux aquatiques susvisés à des fins autres que la consommation humaine.

## Article 10.9.10.

**Importation d'animaux aquatiques ou de produits issus d'animaux aquatiques appelés à entrer dans la composition d'aliments pour animaux ou destinés à des fins autres que la consommation humaine, parmi lesquelles figurent l'alimentation animale, les usages agricoles, industriels ou pharmaceutiques et la recherche, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par le virus de la virémie printanière de la carpe**

Lors de l'importation d'*animaux aquatiques* appartenant à une des espèces visées à l'article 10.9.2. ou de produits issus d'animaux aquatiques dérivés de ces espèces, destinés à des fins autres que la consommation humaine, parmi lesquelles figurent l'alimentation animale, les usages agricoles, industriels ou pharmaceutiques et la recherche, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par le virus de la virémie printanière de la carpe, l'*Autorité compétente* du pays importateur doit exiger :

## Annexe 19 (suite)

- 1) la livraison directe du chargement, ainsi que son maintien, dans des installations de quarantaine ou d'entreposage jusqu'à ce qu'il soit transformé en l'un des produits énumérés à l'alinéa 1 de l'article 10.9.3. ou en l'un en vue d'y être abattu et transformé en des produits autorisés par l'Autorité compétente, et
- 2) ~~le traitement de l'eau de transport et celui de tous les effluents et déchets résultant des opérations de transformation de manière à inactiver de l'eau (y compris sous forme de glace) ainsi que de l'ensemble des équipements, conteneurs et matériaux d'emballage utilisés lors du transport dans des conditions permettant d'inactiver le virus de la virémie printanière de la carpe ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3., 4.7. et 5.5., et~~
- 3) le traitement de tous les effluents et de tous les déchets dans des conditions permettant d'inactiver le virus de la virémie printanière de la carpe ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3. et 4.7.

Cet article ne s'applique pas aux merchandises énumérées à l'alinéa 1 de l'article 10.9.3.

## Article 10.9.11.

**Importation d'animaux aquatiques destinés à des laboratoires ou à des établissements zoologiques à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par le virus de la virémie printanière de la carpe**

Lors d'une importation d'animaux aquatiques appartenant à une des espèces visées à l'article 10.9.2. qui sont destinés à des laboratoires ou à des établissements zoologiques à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par le virus de la virémie printanière de la carpe, l'Autorité compétente du pays importateur doit veiller :

- 1) à leur livraison directe, ainsi qu'à leur maintien à vie, dans des installations de quarantaine agréées par l'Autorité compétente, et
- 2) au traitement de l'eau (y compris sous forme de glace) ainsi que de l'ensemble des équipements, conteneurs et matériaux d'emballage utilisés lors du transport dans des conditions permettant d'inactiver le virus de la virémie printanière de la carpe ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3., 4.7. et 5.5., et
- 3) au traitement de tous les effluents et déchets issus des installations de quarantaine des laboratoires ou des établissements zoologiques dans des conditions permettant d'inactiver le virus de la virémie printanière de la carpe ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3. et 4.7., et
- 4) à l'élimination des cadavres conformément au chapitre 4.7.

## Article 10.9.11.2.

**Importation (ou transit par le territoire) d'animaux aquatiques et de produits issus d'animaux aquatiques pour la vente au détail de marchandises destinées à la consommation humaine, indépendamment du statut sanitaire du , à partir d'un pays, d'une de la zone ou d'un du compartiment d'exportation non déclaré indemne au regard de l'infection par le virus de la virémie printanière de la carpe**

- 1) Quel que soit le statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de ~~la~~ l'infection par le virus de la virémie printanière de la carpe, les *Autorités compétentes* ne doivent imposer aucune condition liée à ~~cette maladie à un tel virus~~ quand elles autorisent l'importation (ou le transit par leur territoire) de filets ou de darnes ou pavés de poisson congelés ou réfrigérés qui ont été préparés et emballés pour la vente au détail lorsqu'ils satisfont aux conditions requises à l'article 5.4.2.

Certaines hypothèses ont été posées concernant l'appréciation de la sécurité sanitaire des *produits issus d'animaux aquatiques* susvisés. Les États membres doivent donc se référer à ces hypothèses, figurant à l'article 5.4.2., et estimer si ces dernières s'appliquent à leur situation.

Lorsqu'ils l'estiment nécessaire, les États membres peuvent prendre des mesures au niveau national, visant à limiter les *risques* associés à l'utilisation ~~du type de marchandise des produits issus d'animaux aquatiques~~ susvisés à des fins autres que la consommation humaine.

- 2) Lors d'une importation ~~d'animaux aquatiques et de produits issus d'animaux aquatiques~~ appartenant à une des espèces visées à l'article 10.9.2., à l'exclusion de ceux mentionnés à l'alinéa 1 qui précède, à partir d'un pays, d'une *zone* ou d'un *compartiment* non déclaré indemne ~~de d'infection par le virus de la~~ virémie printanière de la carpe, l'*Autorité compétente* du *pays importateur* doit apprécier le *risque* associé ~~au type de marchandise susvisé à~~ cette importation et appliquer des mesures appropriées visant à réduire ce *risque*.
-



## CHAPITRE 10.10.

## INFECTION PAR LE VIRUS DE LA SEPTICÉMIE HÉMORRAGIQUE VIRALE

## Article 10.10.1.

Aux fins de l'application du *Code aquatique*, l'expression « infection par le virus de la septicémie hémorragique virale » désigne une *infection* causée par le virus de la septicémie hémorragique virale (appelé aussi virus d'Egtved). Il s'agit d'un agent pathogène appartenant au genre *Novirhabdovirus* et à la famille des Rhabdoviridae.

Le *Manuel aquatique* contient des informations sur les méthodes de *diagnostic*.

## Article 10.10.2.

**Champ d'application**

Les recommandations de ce chapitre s'appliquent à la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*), à la truite brune (*Salmo trutta*), à l'ombre commun (*Thymallus thymallus*), au corégone (*Coregonus* spp.), au brochet (*Esox lucius*), au turbot (*Scophthalmus maximus*), au hareng (*Clupea* spp.), au saumon du Pacifique (*Oncorhynchus* spp.), à la morue franche (*Gadus morhua*), à la morue du Pacifique (*G. macrocephalus*), au haddock (*G. aeglefinus*) et à la motelle (*Onos mustelus*). Ces recommandations concernent également toutes les autres espèces sensibles visées dans le *Manuel aquatique* lorsqu'elles font l'objet d'échanges internationaux.

## Article 10.10.3.

**Importation, ou transit par le territoire, d'animaux aquatiques et de produits issus d'animaux aquatiques indépendamment de l'usage auquel ils sont destinés et du statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection par le virus de la septicémie hémorragique virale**

- 1) Quel que soit le statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection par le virus de la septicémie hémorragique virale, les *Autorités compétentes* ne doivent imposer aucune condition liée à ~~cette maladie à un tel virus~~ quand elles autorisent, pour quelque usage que ce soit, l'importation, ou le transit par leur territoire, des produits issus d'animaux aquatiques énumérés ci-dessous lorsqu'il s'agit d'une espèce visée à l'article 10.10.2. et que ces produits satisfont aux conditions requises à l'article 5.4.1. :
  - a) produits à base de poisson stérilisés par la chaleur (c'est-à-dire exposés à une température de 121 °C pendant au moins 3,6 minutes ou à toute combinaison de température et de temps équivalente dont l'équivalence a été démontrée en termes d'inactivation du virus de la septicémie hémorragique virale) et présentés dans un conditionnement hermétique ;
  - b) produits pasteurisés à base de poisson ayant subi un traitement thermique à 90 °C pendant au moins dix minutes ou à toute combinaison de température et de temps dont l'équivalence a été démontrée en termes d'inactivation du virus de la septicémie hémorragique virale ;
  - c) poissons éviscérés et séchés par un procédé mécanique (c'est-à-dire ayant subi un traitement thermique à 100 °C pendant au moins 30 minutes ou à toute combinaison de température et de temps dont l'équivalence a été démontrée en termes d'inactivation du virus de la septicémie hémorragique virale) ;
  - d) poissons éviscérés et séchés dans des conditions naturelles (c'est-à-dire à l'air ou au soleil) ;
  - e) huile de poisson ;
  - f) farine de poisson ;
  - g) cuir élaboré à partir de peau de poisson.
- 2) Lorsque les *Autorités compétentes* autorisent l'importation, ou le transit par leur territoire, ~~des animaux aquatiques~~ ou de produits issus d'animaux aquatiques appartenant à une des espèces visées à l'article 10.10.2. autres que ceux énumérés à l'alinéa 1 de l'article 10.10.3., les *Autorités compétentes* doivent imposer le respect des conditions requises aux articles 10.10.7. à 10.10.42-13, en fonction du statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection par le virus de la septicémie hémorragique virale.

Annexe 20 (suite)

- 3) L'*Autorité compétente* doit procéder à une *analyse des risques* conformément aux recommandations figurant au chapitre 2.1. lorsqu'elle envisage l'importation, ou le transit par son *territoire*, ~~d'animaux aquatiques ou de produits issus d'animaux aquatiques~~ appartenant à une espèce non visée à l'article 10.10.2., mais dont on peut raisonnablement s'attendre à ce qu'ils posent un *risque* en termes de ~~propagation~~ transmission du virus de la septicémie hémorragique virale. L'*Autorité compétente* du *pays exportateur* doit être tenue informée du résultat de cette analyse

Article 10.10.4.

**Pays indemne d'infection par le virus de la septicémie hémorragique virale**

En cas de partage d'une *zone* avec un ou plusieurs autres pays, un pays ne peut déposer une *auto-déclaration d'absence de septicémie hémorragique virale* d'infection par le virus de la septicémie hémorragique virale si tous les secteurs couverts par des étendues d'eaux partagées sont déclarés pays ou *zones* indemnes de cette *infection maladie* (voir article 10.10.5.).

Comme indiqué à l'article 1.4.6., un pays peut déposer une *auto-déclaration d'absence d'infection par le virus de la septicémie hémorragique virale* si :

- 1) un pays dans lequel les espèces visées à l'article 10.10.2. sont présentes, mais où aucune infection par le virus de la septicémie hémorragique virale n'a pas été observée n'est apparue depuis au moins dix ans malgré l'existence de conditions propices à son expression clinique, comme indiqué au chapitre correspondant du *Manuel aquatique*, peut déposer une *auto-déclaration d'absence* de cette *maladie infection* si les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer sur son *territoire* depuis au moins dix ans ;

OU

- 2) le statut sanitaire au regard de ~~la maladie~~ *l'infection par le virus de la septicémie hémorragique virale* n'était pas inconnu avant la mise en œuvre de la *surveillance ciblée*, mais les conditions suivantes sont remplies :
- a) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins deux ans, et
- b) ~~une la surveillance ciblée comme indiqué, telle qu'elle est décrite~~ au chapitre 1.4. est mise en œuvre depuis au moins deux ans sans que le *virus de la septicémie hémorragique virale* ait été détecté ;

OU

- 3) ce pays, après avoir déposé une *auto-déclaration d'absence d'infection par le virus de la septicémie hémorragique virale*, a perdu son statut indemne par suite de la détection d'une telle *maladie virus*, mais les conditions suivantes sont remplies :
- a) dès la détection ~~de la maladie du virus de la septicémie hémorragique virale~~, le secteur touché a été déclaré *zone infectée* et une *zone de protection* a été établie, et
- b) les populations ~~infectées de la zone infectée touchées par l'infection~~ ont été ~~détruites ou abattues et~~ éliminées ~~de la zone infectée~~ par un moyen réduisant autant que possible le ~~risque la probabilité~~ de nouvelle ~~propagation~~ *transmission du virus de la septicémie hémorragique virale de la maladie*, et les opérations de *désinfection* appropriées (comme indiqué au chapitre 4.3.) ont été ~~effectuées~~ réalisées, et
- c) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* existant antérieurement ont été réexaminées, et sont en place sans discontinuer, avec les modifications éventuellement nécessaires, depuis l'éradication ~~la maladie de~~ *l'infection par le virus de la septicémie hémorragique virale*, et
- d) ~~une la surveillance ciblée comme indiqué, telle qu'elle est décrite~~ au chapitre 1.4. est mise en œuvre depuis au moins deux ans sans que le *virus de la septicémie hémorragique virale* ait été détecté.

Entre-temps, tout ou partie du secteur non touché peut être déclaré *zone indemne*, pour autant que les conditions requises à l'alinéa 2 de l'article 10.10.5. soient réunies.

Article 10.10.5.

**Compartiment ou zone indemne d'infection par le virus de la septicémie hémorragique virale**

En cas d'extension au-delà des frontières d'un pays, un *compartiment* ou une *zone* ne peut être déclaré indemne d'infection par le virus de la septicémie hémorragique virale que si toutes les *Autorités compétentes* confirment que les conditions voulues sont remplies.

Comme indiqué à l'article 1.4.6., un *compartiment* ou une *zone* indemne d'infection par le virus de la septicémie hémorragique virale situé sur le *territoire* d'un pays ou de plusieurs pays non déclarés indemnes de cette ~~maladie~~ infection peut être déclaré indemne par l'*Autorité compétente* ~~de ce~~ du pays ou de l'ensemble des pays concernés si ~~ou~~ par l'*ensemble des Autorités compétentes* concernées :

- 1) un *compartiment* ou une *zone* où les espèces visées à l'article 10.10.2. sont présentes, mais où ~~la septicémie hémorragique virale~~ aucune infection par le virus de la septicémie hémorragique virale n'a pas été observée n'est apparue depuis au moins dix ans malgré l'existence de conditions propices à son expression clinique, comme indiqué au chapitre correspondant du *Manuel aquatique*, peut être déclaré indemne de cette infection ~~la maladie~~ si les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins dix ans ;

OU

- 2) le statut sanitaire au regard de ~~la maladie~~ l'infection par le virus de la septicémie hémorragique virale ~~n'était pas~~ inconnu avant la mise en œuvre de la *surveillance ciblée*, mais les conditions suivantes sont remplies :
  - a) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins deux ans, et
  - b) ~~une~~ la surveillance ciblée ~~comme indiqué, telle qu'elle est décrite~~ au chapitre 1.4. est mise en œuvre depuis au moins deux ans sans que le virus de la septicémie hémorragique virale ait été détecté ;

OU

- 3) le pays, après avoir déposé une *auto-déclaration d'absence d'infection par le virus de la septicémie hémorragique virale* pour une *zone*, a perdu son statut indemne par suite de la détection d'une telle ~~maladie~~ virus dans cette *zone*, mais les conditions suivantes sont remplies :
  - a) dès la détection du ~~la maladie~~ virus de la septicémie hémorragique virale, le secteur touché a été déclaré *zone infectée* et une *zone de protection* a été établie, et
  - b) les populations ~~infectées de la zone infectée touchées par l'infection~~ ont été ~~détruites ou abattues et~~ éliminées ~~de la zone infectée~~ par un moyen réduisant autant que possible le ~~risque~~ la probabilité de nouvelle ~~propagation~~ transmission du virus de la septicémie hémorragique virale ~~de la maladie~~, et les opérations de *désinfection* appropriées (comme indiqué au chapitre 4.3.) ont été ~~effectuées~~ réalisées, et
  - c) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* existant antérieurement ont été réexaminées, et sont en place sans discontinuer, avec les modifications éventuellement nécessaires, depuis l'éradication de ~~la maladie~~ l'infection par le virus de la septicémie hémorragique virale, et
  - d) ~~une~~ la surveillance ciblée ~~comme indiqué, telle qu'elle est décrite~~ au chapitre 1.4. est mise en œuvre depuis au moins deux ans sans que le virus de la septicémie hémorragique virale ait été détecté.

Article 10.10.6.

#### Maintien du statut indemne d'infection par le virus de la septicémie hémorragique virale

Un pays, une *zone* ou un *compartiment* déclaré indemne d'infection par le virus de la septicémie hémorragique virale conformément aux dispositions énoncées aux alinéas 1, suivant le cas, des articles 10.10.4. ou 10.10.5. peut conserver son statut indemne de cette infection ~~maladie~~, sous réserve que les *conditions élémentaires de sécurité biologique* soient constamment maintenues.

Un pays, une *zone* ou un *compartiment* déclaré indemne d'infection par le virus de la septicémie hémorragique virale conformément aux dispositions énoncées à l'alinéa 2, suivant le cas, des articles 10.10.4. ou 10.10.5. peut interrompre la *surveillance ciblée* tout en conservant son statut indemne de cette infection ~~maladie~~, sous réserve que soient constamment réunies les conditions propices à l'expression clinique de l'infection par le virus de la septicémie hémorragique virale, comme indiqué au chapitre correspondant du *Manuel aquatique*, ~~soient réunies et ainsi que~~ les *conditions élémentaires de sécurité biologique*.

Toutefois, dans les *zones* ou *compartiments* déclarés indemnes ~~de septicémie hémorragique~~ se trouvant dans des pays qui ~~en~~ sont infectés, ainsi que dans tous les cas où les conditions ne sont pas propices à l'expression clinique de l'infection par le virus de la septicémie hémorragique virale, la *surveillance ciblée* doit être poursuivie à un niveau défini par le *Service chargé de la santé des animaux aquatiques* en rapport avec la probabilité d'introduction de *l'infection*.

## Annexe 20 (suite)

## Article 10.10.7.

**Importation d'animaux aquatiques et ou de produits issus d'animaux aquatiques à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment déclaré indemne d'infection par le virus de la septicémie hémorragique virale**

Lors d'une importation d'*animaux aquatiques* appartenant à une des espèces visées à l'article 10.10.2., ~~ou et~~ de *produits issus d'animaux aquatiques dérivés de ces espèces*, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment déclaré indemne de septicémie hémorragique virale, l'Autorité compétente du pays importateur doit exiger la présentation d'un *certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques* délivré par l'Autorité compétente du pays exportateur, ~~ou par un agent certificateur agréé par le pays importateur, et attestant.~~ Le *certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques* doit attester que le lieu de production des *animaux aquatiques* ~~et ou~~ des *produits issus d'animaux aquatiques* est un pays, une zone ou un compartiment déclaré indemne ~~de~~ d'infection par le virus de la septicémie hémorragique virale selon les sur la base des procédures définies par les articles 10.10.4. ou 10.10.5., selon le cas, et par l'article 10.10.6.

~~Ce certificat~~ Le *certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques* doit être conforme au modèle reproduit au chapitre 5.11.

Cet article ne s'applique pas aux ~~marchandises~~ *produits issus d'animaux aquatiques* énumérées à l'alinéa 1 de l'article 10.10.3.

## Article 10.10.8.

**Importation d'animaux aquatiques à des fins d'aquaculture, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par le virus de la septicémie hémorragique virale**

Lors de l'importation, à des fins d'aquaculture, d'*animaux aquatiques* appartenant à une des espèces visées à l'article 10.10.2. à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne ~~de~~ d'infection par le virus de la septicémie hémorragique virale, l'Autorité compétente du pays importateur doit apprécier le *risque* associé ~~au type de~~ à cette importation conformément au chapitre 2.1. et prendre en considération les mesures de réduction du *risque* figurant aux alinéas 1 et 2 ci-dessous.

- 1) Si l'objectif est le grossissement et la récolte des *animaux aquatiques* importés, il convient d'appliquer les principes suivants :
  - a) la livraison directe et le maintien à vie des *animaux aquatiques* importés dans une installation de *quarantaine*, et
  - b) le traitement ~~de toute l'eau utilisée pour le transport ainsi que de tous les équipements, effluents et déchets~~ afin d'inactiver ~~toute l'eau de transport, de tout l'équipement, de et de tous les effluents et de tous les déchets~~ le virus de la septicémie hémorragique virale conformément aux chapitres 4.3., 4.7. et 5.5.

OU

- 2) Si l'objectif est l'établissement d'une nouvelle population à des fins d'aquaculture, il convient d'appliquer les principes suivants :
  - a) dans le *pays exportateur* :
    - i) identifier les populations sources potentielles et évaluer les données sanitaires des *animaux aquatiques* qui les composent ;
    - ii) tester les populations sources conformément au chapitre 1.4. et sélectionner une population de géniteurs (F-0) d'*animaux aquatiques* présentant un statut sanitaire élevé au regard ~~de la~~ de l'infection par le virus de la septicémie hémorragique virale ;
  - b) dans le *pays importateur* :
    - i) placer la population de géniteurs (F-0) importée dans une installation de *quarantaine* ;
    - ii) tester la population F-0 aux fins de la recherche du virus de la septicémie hémorragique virale conformément au chapitre 1.4. afin de déterminer si elle constitue une population de géniteurs adéquate ;
    - iii) produire une première génération (F-1) en *quarantaine* ;
    - iv) élever la population F-1 dans une installation de *quarantaine* où les conditions sont propices à l'expression clinique du virus de la septicémie hémorragique virale (tels qu'ils sont décrits au chapitre 2.3.10. du Manuel aquatique), et prélever des échantillons et tester sa présence chez cette population conformément au chapitre 1.4. du Code aquatique et au chapitre 2.3.10. du Manuel aquatique ;
    - v) si le virus de la septicémie hémorragique virale n'est pas détecté dans la population F-1, cette dernière pourra être reconnue indemne d'infection par le virus de la septicémie hémorragique virale et libérée de sa *quarantaine* ;

- vi) si le virus de la septicémie hémorragique virale est détecté dans la population F-1, cette dernière ne sera pas libérée de sa *quarantaine* et sera tuée puis éliminée dans des conditions de sécurité biologique adéquates.

Article 10.10.9.

**Importation d'animaux aquatiques et ou de produits issus d'animaux aquatiques à des fins de transformation ultérieure en vue de la consommation humaine, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par le virus de la septicémie hémorragique virale**

Lors de l'importation, à des fins de transformation ultérieure en vue de la consommation humaine, d'*animaux aquatiques* appartenant à une des espèces visées à l'article 10.10.2., ou et de produits issus d'animaux aquatiques dérivés de ces espèces, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un *compartiment* non déclaré indemne d'infection par le virus de la septicémie hémorragique virale, l'*Autorité compétente* du pays importateur doit apprécier le *risque* associé à ce type de *merchandise* cette importation et, si la situation le justifie, exiger :

- 1) la livraison directe du chargement, ainsi que son maintien, et son entreposage dans des installations de *quarantaine* ou biosécurisées d'entreposage jusqu'au moment de sa transformation soit jusqu'à ce qu'il soit transformé en l'un des produits énumérés à l'alinéa 1 de l'article 10.10.3. ou, soit en l'un des produits mentionnés à l'alinéa 1 de l'article 10.10.4.12., soit ou en l'un des autres produits autorisés par l'*Autorité compétente*, et
- 2) le traitement de l'eau de transport et celui de tous les effluents et déchets résultant des opérations de transformation de l'eau (y compris sous forme de glace) ainsi que de l'ensemble des équipements, *conteneurs* et matériaux d'emballage utilisés lors du transport dans des conditions permettant d'inactiver le virus de la septicémie hémorragique virale ou de les éliminer de manière à prévenir leur contact avec des espèces sensibles biosécurisée conformément aux chapitres 4.3., 4.7. et 5.5., et
- 3) le traitement de tous les effluents et de tous les déchets dans des conditions permettant d'inactiver le virus de la septicémie hémorragique virale ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3. et 4.7.

Lorsqu'ils l'estiment nécessaire, les États membres peuvent prendre des mesures au niveau national, visant à limiter les *risques* associés à l'utilisation du type de *merchandise* des *animaux aquatiques* ou des *produits issus d'animaux aquatiques* susvisés à des fins autres que la consommation humaine.

Article 10.10.10.

**Importation d'animaux aquatiques ou de produits issus d'animaux aquatiques appelés à entrer dans la composition d'aliments pour animaux ou destinés à des fins autres que la consommation humaine, parmi lesquelles figurent l'alimentation animale, les usages agricoles, industriels ou pharmaceutiques et la recherche, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par le virus de la septicémie hémorragique virale**

Lors de l'importation d'*animaux aquatiques* appartenant à une des espèces visées à l'article 10.10.2., ou de produits issus d'animaux aquatiques dérivés de ces espèces, destinés à des fins autres que la consommation humaine, parmi lesquelles figurent l'alimentation animale, les usages agricoles, industriels ou pharmaceutiques et la recherche, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un *compartiment* non déclaré indemne d'infection par le virus de la septicémie hémorragique virale, l'*Autorité compétente* du pays importateur doit exiger :

- 1) la livraison directe du chargement, ainsi que son maintien, dans des installations de *quarantaine* ou d'entreposage jusqu'à ce qu'il soit transformé en l'un des produits énumérés à l'alinéa 1 de l'article 10.10.3. ou en l'un en vue d'être abattu et transformé en des produits autorisés par l'*Autorité compétente*, et
- 2) le traitement de l'eau de transport et celui de tous les effluents et déchets résultant des opérations de transformation de manière à inactiver de l'eau (y compris sous forme de glace) ainsi que de l'ensemble des équipements, *conteneurs* et matériaux d'emballage utilisés lors du transport dans des conditions permettant d'inactiver le virus de la septicémie hémorragique virale ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3., 4.7. et 5.5., et
- 3) le traitement de tous les effluents et de tous les déchets dans des conditions permettant d'inactiver le virus de la septicémie hémorragique virale ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3. et 4.7.

Cet article ne s'applique pas aux *merchandises* énumérées à l'alinéa 1 de l'article 10.10.3.

Article 10.10.11.

**Importation d'animaux aquatiques destinés à des laboratoires ou à des établissements zoologiques à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par le virus de la septicémie hémorragique virale**

Lors d'une importation d'*animaux aquatiques* appartenant à une des espèces visées à l'article 10.10.2. qui sont destinés à des laboratoires ou à des établissements zoologiques à partir d'un pays, d'une zone ou d'un *compartiment* non déclaré indemne d'infection par le virus de la septicémie hémorragique virale, l'*Autorité compétente* du pays importateur doit veiller :

## Annexe 20 (suite)

- 1) à leur livraison directe, ainsi qu'à leur maintien à vie, dans des installations de quarantaine agréées par l'Autorité compétente, et
- 2) au traitement de l'eau (y compris sous forme de glace) ainsi que de l'ensemble des équipements, conteneurs et matériaux d'emballage utilisés lors du transport dans des conditions permettant d'inactiver le virus de la septicémie hémorragique virale ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3., 4.7. et 5.5., et
- 3) au traitement de tous les effluents et déchets issus des installations de quarantaine des laboratoires ou des établissements zoologiques dans des conditions permettant d'inactiver le virus de la septicémie hémorragique virale ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3. et 4.7., et
- 4) à l'élimination des cadavres conformément au chapitre 4.7.

Article 10.10.11-12.

**Importation (ou transit par le territoire) d'animaux aquatiques et de produits issus d'animaux aquatiques pour la vente au détail de marchandises destinées à la consommation humaine, indépendamment du statut sanitaire du , à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment d'exportation non déclaré indemne au regard de l'infection par le virus de la septicémie hémorragique virale**

- 1) Quel que soit le statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de la de l'infection par le virus de la septicémie hémorragique virale, les *Autorités compétentes* ne doivent imposer aucune condition liée à cette maladie à un tel virus quand elles autorisent l'importation (ou le transit par leur territoire) de filets ou de darnes ou pavés de poisson congelés ou surgelés qui ont été préparés et emballés pour la vente au détail lorsqu'ils satisfont aux conditions requises à l'article 5.4.2.

Certaines hypothèses ont été posées concernant l'appréciation de la sécurité sanitaire des produits issus d'animaux aquatiques susvisés. Les États membres doivent donc se référer à ces hypothèses, figurant à l'article 5.4.2., et estimer si ces dernières s'appliquent à leur situation.

Lorsqu'ils l'estiment nécessaire, les États membres peuvent prendre des mesures au niveau national, visant à limiter les risques associés à l'utilisation du type de marchandise des produits issus d'animaux aquatiques susvisés à des fins autres que la consommation humaine.

- 2) Lors d'une importation d'animaux aquatiques et de produits issus d'animaux aquatiques appartenant à une des espèces visées à l'article 10.10.2., à l'exclusion de ceux mentionnés à l'alinéa 1 qui précède, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne de d'infection par le virus de la septicémie hémorragique virale, l'Autorité compétente du pays importateur doit apprécier le risque associé au type de marchandise susvisé à cette importation et appliquer des mesures appropriées visant à réduire ce risque.

Article 10.10.12-13.

**Importation d'œufs désinfectés destinés à l'aquaculture à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par le virus de la septicémie hémorragique virale**

- 1) L'Autorité compétente du pays importateur, lorsqu'elle autorise l'importation d'œufs désinfectés destinés à son aquaculture d'une des espèces visées à l'article 10.10.2. à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne de la d'infection par le virus de la septicémie hémorragique virale, doit au moins apprécier le risque associé :
  - a) au statut sanitaire au regard du de l'infection par le virus de la septicémie hémorragique virale de l'eau utilisée pour la désinfection des œufs ;
  - b) à la prévalence de l'infection par le virus de la septicémie hémorragique virale chez les géniteurs (dans le liquide ovarien et la laitance), et
  - c) à la température et au pH de l'eau utilisée lors de la conduite des opérations de désinfection.
- 2) L'Autorité compétente du pays importateur, si elle arrive à la conclusion que l'importation peut être acceptée, doit alors appliquer les mesures suivantes afin de réduire les risques encourus :
  - a) les œufs doivent être désinfectés préalablement à leur importation selon les recommandations contenues au chapitre 4.4. ou celles requises par l'Autorité compétente du pays importateur, et
  - b) il est nécessaire que les œufs désinfectés et destinés à l'importation n'entrent pas en contact avec du matériel susceptible de détériorer leur statut sanitaire.

Lorsqu'elle l'estime nécessaire, l'Autorité compétente peut prendre des mesures au plan national telles que le renouvellement de l'opération de désinfection des œufs dès l'arrivée dans le pays importateur.

- 3) L'*Autorité compétente* du *pays importateur*, lorsqu'elle autorise l'importation d'œufs désinfectés destinés à son *aquaculture* d'une des espèces visées à l'article 10.10.2. à partir d'un pays, d'une *zone* ou d'un *compartiment* non déclaré indemne ~~de la~~ d'infection par le virus de la septicémie hémorragique virale, doit exiger qu'ils soient accompagnés d'un *certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques* délivré par l'*Autorité compétente* du *pays exportateur*, ~~ou par un agent certificateur agréé par le pays importateur~~, et attestant que les mesures désignées à l'alinéa 2 de l'article 10.10.12. ont été appliquées.
-



## Articles X.X.8., X.X.9., X.X.1. et X.X.11. servant de modèle

### Article X.X.8.

- 2) Si l'objectif est l'établissement d'une nouvelle population à des fins d'*aquaculture*, il convient d'appliquer les principes suivants :
- a) dans le *pays exportateur* :
    - i) identifier les populations sources potentielles et évaluer les données sanitaires des *animaux aquatiques* qui les composent ;
    - ii) tester les populations sources conformément au chapitre 1.4. et sélectionner une population de géniteurs (F-0) d'*animaux aquatiques* présentant un statut sanitaire élevé au regard de l'infection par l'agent pathogène X ;
  - b) dans le *pays importateur* :
    - i) placer la population de géniteurs (F-0) importée dans une installation de *quarantaine* ;
    - ii) tester la population F-0 aux fins de la recherche de l'agent pathogène X conformément au chapitre 1.4. afin de déterminer si elle constitue une population de géniteurs adéquate ;
    - iii) produire une première génération (F-1) en *quarantaine* ;
    - iv) élever la population F-1 dans une installation de *quarantaine* où les conditions sont propices à l'expression clinique l'agent pathogène X ~~(tels qu'ils sont décrits au chapitre X.X.X. du Manuel aquatique)~~, et prélever des échantillons et tester sa présence chez cette population conformément au chapitre 1.4. du Code aquatique et au chapitre X.X.X. du Manuel aquatique ;
    - v) si l'agent pathogène X n'est pas détecté dans la population F-1, cette dernière pourra être reconnue indemne d'infection par l'agent pathogène X et libérée de sa *quarantaine* ;
    - vi) si l'agent pathogène X est détecté dans la population F-1, cette dernière ne sera pas libérée de sa *quarantaine* et sera tuée puis éliminée dans des conditions de sécurité biologique adéquates.

### Article X.X.9.

#### **Importation d'animaux aquatiques et ou de produits issus d'animaux aquatiques à des fins de transformation ultérieure en vue de la consommation humaine, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par l'agent pathogène X**

Lors de l'importation, à des fins de transformation ultérieure en vue de la consommation humaine, d'*animaux aquatiques* appartenant à une des espèces visées à l'article X.X.2., ou et de produits issus d'animaux aquatiques dérivés de ces espèces, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un *compartiment* non déclaré indemne d'infection par l'agent pathogène X, l'*Autorité compétente* du *pays importateur* doit apprécier le *risque* associé à ~~ce type de marchandise~~ cette importation et, si la situation le justifie, exiger :

- 1) la livraison directe du chargement, ainsi que son maintien, et son entreposage dans des installations de *quarantaine* ou biosécurisées d'entreposage jusqu'au moment de sa transformation soit jusqu'à ce qu'il soit transformé en l'un des produits énumérés à l'alinéa 1 de l'article X.X.3. ou, soit en l'un des produits mentionnés à l'alinéa 1 de l'article X.X.4-12, soit ou en l'un des autres produits autorisés par l'*Autorité compétente*, et
- 2) le traitement ~~de l'eau de transport et celui de tous les effluents et déchets résultant des opérations de transformation de l'eau (y compris sous forme de glace) ainsi que de l'ensemble des équipements, conteneurs et matériaux d'emballage utilisés lors du transport~~ dans des conditions permettant d'inactiver l'agent pathogène X ou de les éliminer de manière à prévenir leur contact avec des espèces sensibles biosécurisée conformément aux chapitres 4.3., 4.7. et 5.5., et

## Annexe 21 (suite)

- 3) le traitement de tous les effluents et de tous les déchets dans des conditions permettant d'inactiver l'agent pathogène X ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3. et 4.7.

Lorsqu'ils l'estiment nécessaire, les États membres peuvent prendre des mesures au niveau national, visant à limiter les risques associés à l'utilisation ~~du type de marchandise~~ des animaux aquatiques ou des produits issus d'animaux aquatiques susvisés à des fins autres que la consommation humaine.

## Article X.X.10.

**Importation d'animaux aquatiques ou de produits issus d'animaux aquatiques appelés à entrer dans la composition d'aliments pour animaux ou destinés à des fins autres que la consommation humaine, parmi lesquelles figurent l'alimentation animale, les usages agricoles, industriels ou pharmaceutiques et la recherche, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par l'agent pathogène X**

Lors de l'importation d'animaux aquatiques appartenant à une des espèces visées à l'article X.X.2., ou de produits issus d'animaux aquatiques dérivés de ces espèces, destinés à des fins autres que la consommation humaine, parmi lesquelles figurent l'alimentation animale, les usages agricoles, industriels ou pharmaceutiques et la recherche, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par l'agent pathogène X, l'Autorité compétente du pays importateur doit exiger :

- 1) la livraison directe du chargement, ainsi que son maintien, dans des installations de quarantaine ou d'entreposage jusqu'à ce qu'il soit transformé en l'un des produits énumérés à l'alinéa 1 de l'article X.X.3. ou en l'un en vue d'y être abattu et transformé en des produits autorisés par l'Autorité compétente, et
- 2) ~~le traitement de l'eau de transport et celui de tous les effluents et déchets résultant des opérations de transformation de manière à inactiver de l'eau (y compris sous forme de glace) ainsi que de l'ensemble des équipements, conteneurs et matériaux d'emballage utilisés lors du transport dans des conditions permettant d'inactiver l'agent pathogène X ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3., 4.7. et 5.5., et~~
- 3) le traitement de tous les effluents et de tous les déchets dans des conditions permettant d'inactiver l'agent pathogène X ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3. et 4.7.

Cet article ne s'applique pas aux marchandises énumérées à l'alinéa 1 de l'article X.X.3.

## Article X.X.11.

**Importation d'animaux aquatiques destinés à des laboratoires ou à des établissements zoologiques à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par l'agent pathogène X**

Lors d'une importation d'animaux aquatiques appartenant à une des espèces visées à l'article X.X.2. qui sont destinés à des laboratoires ou à des établissements zoologiques à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par l'agent pathogène X, l'Autorité compétente du pays importateur doit veiller.:

- 1) à leur livraison directe, ainsi qu'à leur maintien à vie, dans des installations de quarantaine agréées par l'Autorité compétente, et
- 2) au traitement de l'eau (y compris sous forme de glace) ainsi que de l'ensemble des équipements, conteneurs et matériaux d'emballage utilisés lors du transport dans des conditions permettant d'inactiver l'agent pathogène X ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3., 4.7. et 5.5., et
- 3) au traitement de tous les effluents et déchets issus des installations de quarantaine des laboratoires ou des établissements zoologiques dans des conditions permettant d'inactiver l'agent pathogène X ou de les éliminer de manière biosécurisée conformément aux chapitres 4.3. et 4.7., et
- 4) à l'élimination des cadavres conformément au chapitre 4.7.

## CHAPTER 2.2.7.

## INFECTION WITH WHITE SPOT SYNDROME VIRUS DISEASE

### 1. Scope

For the purpose of this chapter, Infection with disease (WSD) is considered to be infection with white spot syndrome virus (WSSV) means infection with the pathogenic agent white spot syndrome virus (WSSV), Family Nimaviridae, Genus Whispovirus.

### 2. Disease information

#### 2.1. Agent factors

Various WSSV isolates with small genetic polymorphisms have been identified (variants). It should be realised, however, that as the Nimaviridae is a newly recognised family, the species concept will be subject to change after existing and new isolates have been studied in more detail.

##### 2.1.1. Aetiological agent, agent strains

WSSV was assigned by the International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) as the only member of the genus *Whispovirus* within the *Nimaviridae* family. Virions of WSSV are ovoid or ellipsoid to bacilliform in shape, have a regular symmetry, and measure 80–120 nm in diameter and 250–380 nm in length. Most notable is the thread- or A flagella-like extension (appendage) may be observed at one end of the virion. Today, although various geographical isolates with genotypic variability have been identified, they are all classified as a single species (white spot syndrome virus) within the genus *Whispovirus* (Lo *et al.*, 2012).

##### 2.1.2. Survival outside the host

The agent is viable for at least 30 days at 30°C in seawater under laboratory conditions (Momoyama *et al.*, 1998); and is viable in ponds for at least 3–4 days (Nakano *et al.*, 1998). Laboratory emulations of drainable and non-drainable ponds suggest that the virus is no longer infective after 21 days of sun-drying or after 40 days in waterlogged pond sediment (Satheesh Kumar *et al.*, 2013).

##### 2.1.3. Stability of the agent (effective inactivation methods)

The agent is inactivated in <120 minutes at 50°C and <1 minute at 60°C (Nakano *et al.*, 1998).

In laboratory studies, WSSV was inactivated under following conditions:

**Heat:** 55°C for 90 minutes, 70°C for 5 minutes (Chang *et al.*, 1998); 50°C for 60 minutes; 60°C for 1 minute; 70°C for 0.2 minutes (Nakano *et al.*, 1998).

**Desiccation:** WSSV adsorbed onto the filter paper and allowed to dry subsequently was inactivated in 1 hour at 30°C and in 3 hours at 26°C (Maeda *et al.*, 1998, Nakano *et al.*, 1998).

**pH:** pH 3 for 60 minutes; pH 12 for 10 minutes (Chang *et al.*, 1998, Balasubramanian *et al.*, 2006).

**Ultraviolet light:** Total dose of  $9.30 \times 10^5$   $\mu\text{Ws}/\text{cm}^2$  (Chang *et al.*, 1998).

**Ozone:** Total residual oxidants concentration of  $0.5 \mu\text{g ml}^{-1}$  for 10 minutes (Chang *et al.*, 1998).

**Sodium hypochlorite:** Total free chlorine concentration of 100 ppm for 10 minutes (Chang *et al.*, 1998).

**Benzalkonium chloride:** 100 ppm for 10 minutes (Balasubramanian *et al.*, 2006).

**Iodophore:** Total free iodine concentration of 100 ppm for 10 minutes (Chang *et al.*, 1998).

Annexe 22 (suite)**2.1.4. Life cycle**

*In-vitro* studies with primary cell culture and *in-vivo* studies with postlarvae (PL) show that the replication cycle is approximately 20 hours at 25°C (Chang *et al.*, 1996; Chen *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2000).

**2.2. Host factors**

WSSV has an extremely wide host range. The virus can infect a wide range of aquatic crustaceans especially decapod, including marine, brackish and freshwater prawns, crabs, crayfish and lobsters (Maeda *et al.*, 2000).

**2.2.1. Susceptible host species**

Of all of the species that have been tested to date, no decapod (order Decapoda) crustacean from marine and brackish or freshwater sources has been reported to be refractory resistant to infection with WSSV (Flegel, 1997; Lightner, 1996; Lo & Kou, 1998; Maeda *et al.*, 2000; Stentiford *et al.*, 2009).

**2.2.2. Susceptible stages of the host**

All life stages are potentially susceptible, from eggs to broodstock (Lightner, 1996; Venegas *et al.*, 1999). WSSV genetic material has been detected in reproductive organs (Lo *et al.*, 1997), but susceptibility of the gametes to WSSV infection has not been determined definitively.

**2.2.3. Species or subpopulation predilection (probability of detection)**

The best life stages of crustaceans for detection of infection with WSSV are late PL stages, juveniles and adults. Probability of detection can be increased by exposure to stressful conditions (e.g. eye-stalk ablation, spawning, moulting, changes in salinity, temperature or pH, and during plankton blooms).

**2.2.4. Target organs and infected tissue**

The major targets of infection with WSSV are tissues of ectodermal and mesodermal embryonic origin, especially the cuticular epithelium and subcuticular connective tissues (Momoyama *et al.*, 1994; Wongteerasupaya *et al.*, 1995). Although WSSV infects the underlying connective tissue in the shrimp hepatopancreas and midgut, the tubular epithelial cells of these two organs are of endodermal origin, and they do not become infected.

**2.2.5. Persistent infection with lifelong carriers**

Many decapod species have been shown to be subclinically infected with WSSV and are thought to be carriers of disease Persistent infection occurs commonly and lifelong infection has been shown (Lo & Kou, 1998). Viral loads during persistent infection can be extremely low and are very hard to detect even by sensitive methods such as real-time and nested PCR.

**2.2.6. Vectors**

The virus can be transmitted from host to host and does not need a biological vector.

**2.2.7. Known or suspected wild aquatic animal carriers**

Wild decapods known to be resevoirs of infection with WSSV include *Mysis* sp. (Huang *et al.*, 1995a), *Acetes* sp., *Alpheus* sp., *Callinassa* sp., *Exopalaemon* sp., *Helice* sp., *Hemigrapsus* sp., *Macrophthalmus* sp., *Macrophthel* sp., *Metaplex* sp., *Orithyia* sp., *Palaemonoidea* sp., *Scylla* sp., *Sesarma* sp., *Stomatopoda* sp. and (He & Zhou, 1996; Lei *et al.*, 2002). These species can be easily infected by WSSV and may express the disease under suitable environmental conditions. However, non-decapodal crustaceans, such as copepods (Huang *et al.*, 1995a), rotifers (Yan *et al.*, 2004), *Artemia salina* (Chang *et al.*, 2002), *Balanus* sp. (Lei *et al.*, 2002), and *Tachypleidus* sp. (He & Zhou, 1996) may be apparently healthy carrier animals become wild aquatic animal carriers by latent infection without disease. Other marine molluscs, polychaete worms (Vijayan *et al.*, 2005), as well as non-crustacean aquatic arthropods such as sea slaters (*Isopoda*) and Euphydradae insect larvae can mechanically carry the virus without evidence of infection (Lo & Kou, 1998).

## 2.3. Disease pattern

Infection with WSSV sometimes causes clinical disease ~~and sometimes not~~ (Tsai *et al.*, 1999), depending on factors as yet poorly understood but related to species tolerance and environmental triggers. With an appropriate infection dose to allow sufficient time before mortality, animals susceptible to disease show large numbers of virions circulating in the haemolymph (Lo *et al.*, 1997), but this may also occur for tolerant species that show no mortality. Thus, high viral loads *per se* do not cause disease or mortality for all susceptible species.

### 2.3.1. Transmission mechanisms

Infection with WSSV can be transmitted ~~vertically (trans-ovum)~~, horizontally by consumption of infected tissue (e.g. cannibalism, predation, etc.), and by water-borne routes. Transmission of infection with WSSV can occur from apparently healthy animals in the absence of disease. Dead and moribund animals can be a source of disease transmission (Lo & Kou, 1998).

True vertical transmission (intra-ovum) of WSSV to the progeny has not been demonstrated.

### 2.3.2. Prevalence

Prevalence of infection with WSSV is highly variable, from <1% in infected wild populations to up to 100% in captive populations (Lo & Kou, 1998).

### 2.3.3. Geographical distribution

~~WSD~~ Infection with WSSV has been identified from crustaceans in China (People's Rep. of), Japan, Korea (Rep. of), South-East Asia, South Asia, the Indian Continent, the Mediterranean (Stentiford & Lightner, 2011), the Middle East, and the Americas. ~~WSD-free~~ Zones and compartments free from infection with WSSV are known within these regions (Lo *et al.*, 2012).

### 2.3.4. Mortality and morbidity

All penaeid shrimp species are highly susceptible to infection with WSSV, often resulting in high mortality. Crabs, crayfish, freshwater prawns, spiny lobsters and clawed lobsters are susceptible to infection with WSSV, but morbidity and mortality as a consequence of infection are highly variable (Lo & Kou, 1998). High level infections with WSSV are known in some decapods in the absence of clinical disease.

### 2.3.5. Environmental factors

Disease outbreaks may be induced by stressors, such as rapid changes in salinity. Water temperature has a profound effect on disease expression, with average water temperatures of between 18 and 30°C being conducive to ~~WSD~~ WSSV outbreaks (Song *et al.*, 1996; Vidal *et al.*, 2001). Under experimental challenge conditions, WSSV-induced mortality in shrimp is reduced at temperatures above 32°C (Vidal *et al.*, 2001).

## 2.4. Control and prevention

Although the underlying mechanism remains unknown, laboratory experiments have shown that 'vaccinated' shrimp and crayfish have better survival rates after WSSV challenge. It was first shown that *Penaeus japonicus* shrimp that survived natural and experimental WSSV infections displayed resistance to subsequent challenge with WSSV (Venegas *et al.*, 2000). Later studies showed that intramuscular injection of inactivated WSSV virions or recombinant structural protein, (VP28), provided shrimp with some protection against experimental WSSV infection. Furthermore, shrimp fed with food pellets coated with inactivated bacteria over-expressing VP28 showed better survival rates after WSSV challenge (Witteveldt *et al.*, 2004). However, although these results seemed promising, the protection was effective only when the shrimp were infected with a low dosage of WSSV. Also, the effect usually lasted for only a few days, or in the case of crayfish, for about 20 days. Another potential means of protecting shrimp against infection with WSSV ~~infection~~ is to use RNA interference (RNAi). WSSV gene-specific double-stranded (ds) RNAs produced strong anti-WSSV activity, protecting the shrimp against infection with WSSV ~~infection~~, but the same study showed that long dsRNA induced both sequence-dependent and independent anti-viral responses in shrimp (Robalino *et al.*, 2005). A more recent study ~~even~~ showed that even oral administration of bacterially expressed VP28 dsRNA could protect shrimp against infection with WSSV ~~infection~~ (Sarathi *et al.*, 2008). To date, however, although dsRNA technology continues to be explored, there are still no field trial data for either the vaccination or the RNAi approach.

Annexe 22 (suite)**2.4.1. Vaccination**

No consistently effective vaccination methods have been developed for infection with WSSV.

**2.4.2. Chemotherapy**

~~No scientifically confirmed reports for infection with WSSV. No published or validated methods.~~

**2.4.3. Immunostimulation**

Several reports have shown that beta-glucan, vitamin C, seaweed extracts (fucoidan) and other immunostimulants may improve resistance to infection with WSSV-WSD (Chang *et al.*, 2003; Chotigeat *et al.*, 2004).

**2.4.4. Resistance breeding**

~~No significant improvements. Progress in breeding *P. vannamei* for resistance to infections with WSSV have has been reported for infections with WSSV (Cuéllar-Anjel *et al.*, 2012; Huang *et al.*, 2012).~~

**2.4.5. Restocking with resistant species**

Not applicable for infection with WSSV-WSD.

**2.4.6. Blocking agents**

There are no efficient blocking agents that can be recommended at this time. rVP28 has an effect, but it cannot yet be used as a practical blocking agent.

**2.4.7. Disinfection of eggs and larvae**

For transovum transmission, disinfection of egg is likely to be effective (Lo & Kou, 1998), but this has not yet been confirmed in formal scientific trials.

**2.4.8. General husbandry practices**

A number of husbandry practices have been used successfully to manage infection with WSSV-WSD, such as avoiding stocking in the cold season, use of specific pathogen free (SPF) or polymerase chain reaction (PCR)-negative seed stocks, ~~and~~ use of biosecure water and culture systems (Withyachumnarkul, 1999) ~~and~~ polyculture of shrimp and fish (He *et al.*, unpublished data).

**3. Sampling****3.1. Selection of individual specimens**

Samples of moribund shrimp or shrimp that show clinical signs (see Section 4.1.1) or exhibit behavioural changes (Section 4.1.2) should be selected for ~~WSSV~~ detection of infection with WSSV.

**3.2. Preservation of samples for submission**

See Chapter 2.2.0 *General information* (for diseases of crustaceans) for guidance on preservation of samples for the intended test method.

**3.3. Pooling of samples**

~~Samples taken for molecular or antibody-based test methods for WSD may be combined as pooled samples of no more than five specimens per pooled sample of juveniles or subadults. However, for eggs, larvae and PL, pooling of larger numbers (e.g. 150 or more eggs or larvae or 50 to 150 PL depending on their size/age) may be necessary to obtain sufficient sample material. See also chapter 2.2.0.~~

The effect of pooling on diagnostic sensitivity has not been evaluated, therefore larger life stages should be processed and tested individually. However, small life stages, especially PL or specimens up to 0.5 g, can be pooled to obtain enough material for molecular testing.

### 3.4. Best organs or tissues

Tissue tropism analysis from both experimentally infected shrimp and wild-captured brooders shows that tissues originating from the ectoderm and mesoderm, especially the cuticular epithelium and subcuticular connective tissues, as well as other target tissues (e.g. antennal gland, haematopoietic organ, etc.), are the main target tissues for infection with WSSV. Samples of or from the pleopods, gills, haemolymph, stomach or abdominal muscle are recommended for submission (Lo *et al.*, 1997).

For non-destructive non-lethal sampling and screening by PCR, it is recommended to submit (a small piece of) gill, (a small aliquot of) haemolymph or (a small piece of) pleopod are suitable tissues. There is also some evidence to suggest that an ablated eyestalk would be a good alternative, provided that the compound eye is removed prior to submission.

Please see section 4.3.1.2.4.1 for details of the sample procedure.

### 3.5. Samples/tissues that are not suitable

Although WSSV infects the underlying connective tissue in the shrimp hepatopancreas and midgut, the columnar epithelial cells of these two organs are of endodermal embryonic origin (Lo *et al.*, 1997), and they are not appropriate tissues for detection. The compound eye may contain a PCR inhibitor (Lo *et al.*, 1997) and it is therefore not suitable for PCR-based diagnosis.

## 4. Diagnostic methods

### 4.1. Field diagnostic methods

#### 4.1.1. Clinical signs

White spots embedded within the exoskeleton are the most commonly observed clinical sign. In most shrimp, these spots range from barely visible to 3 mm in diameter, and they sometimes coalesce into larger plates. However, it should be noted that environmental stress factors, such as high alkalinity, or bacterial disease can also cause white spots on the carapace of shrimp, and that moribund shrimp with infection with WSSV WSD may in fact have few, if any, white spots. Therefore, the appearance of white spots is absolutely not a good reliable diagnostic sign of infection with WSSV infection. Furthermore, other crustaceans, such as most crayfish, are often reported to show no sign of white spots when infected with WSSV. High degrees of colour variation with a predominance of reddish or pinkish discoloured shrimp are seen in diseased populations.

WSSV infections can be subclinical or manifest as clinical disease. Penaeid shrimp in aquaculture will generally show clinical signs associated with high morbidity and mortality. Some animals may die without showing any clinical signs. Non-penaeid species (e.g. crab, lobster) generally have subclinical infections under natural conditions.

#### 4.1.2. Behavioural changes

The affected animals can show lethargy, decreased or absent feed consumption and abnormal swimming behaviour – slow swimming, swimming on side, swimming near water surface and gathering around edges of rearing units (Corbel *et al.*, 2001, Sahul Hameed *et al.*, 1998, 2001). The presence of white spots does not always mean that the condition is terminal. For instance, under non-stressful conditions, infected shrimp that have white spots may survive indefinitely. A very high mortality rate in the shrimp population can be expected within a few days of the onset of behavioural signs. However, if the shrimp also appear lethargic, if their colour changes to pink or reddish-brown, if they gather around the edges of ponds/tanks at the water surface, or if there is a rapid reduction in food consumption, then a very high mortality rate in the shrimp population can be expected within a few hours to a few days of the onset of these signs.

## 4.2. Clinical methods

### 4.2.1. Gross pathology

See In addition to the clinical and behavioural signs in Section 4.1.1 and 4.1.2 above, the following gross pathology has been reported in clinically affected penaeid shrimp: loosened attachment of the carapace with underlying cuticular epithelium (Sánchez-Paz, 2010) such that the carapace can be easily removed (Wen-Bin Zhan, 1998); empty gastro-intestinal tract due to anorexia (Escobedo-Bonilla, 2008); delayed clotting of haemolymph (Heidarieh, 2013); excessive fouling of gills (Wu *et al.*, 2013) and exoskeleton.

### 4.2.2. Clinical chemistry

Haemolymph withdrawn from WSSV-infected shrimp always has a delayed (or sometimes completely absent) clotting reaction.

### 4.2.3. Microscopic pathology

#### 4.2.3.1. Wet mounts

Demonstration of hypertrophied nuclei in squash preparations of the gills and/or cuticular epithelium, which may be stained or unstained.

##### 4.2.3.1.1 T-E staining

A T-E staining solution may be prepared from Trypan blue 0.6%, Eosin Y 0.2%, NaCl 0.5%, phenol 0.5%, and glycerol 20% (Huang & Yu, 1995).and used as follows:

- i) Place a piece of lesion tissue (e.g. a piece of gill or stomach epithelium without the cuticle) on a slide and mince with a scalpel.
- ii) Add 1–2 drops of the T-E staining solution to the minced tissue, mix and allow to stain for 3–5 minutes.
- iii) Lay a cover glass over the stained tissue and cover with several pieces of absorbent paper. Use a thumb to squash the mince into a single layer of cells.

If the sample was taken from a heavily infected shrimp, it should be easy to see the hypertrophied nuclei and intranuclear eosinophilic or vacuolation-like inclusion bodies under a 400–1000× light microscope.

#### 4.2.3.2. Smears

Demonstration of aggregates of WSSV virions in unstained smear preparations of haemolymph by dark-field microscopy.

NOTE: This is the simplest of the microscopic techniques and is recommended for people with limited expertise in diagnosing infection with WSSV. The aggregates appear as small reflective spots of 0.5 µm in diameter (Momoyama *et al.*, 1995).

#### 4.2.3.3. Fixed sections

Histological changes commonly reported with WSSV infection in susceptible species include: hypertrophied nuclei with marginated chromatin material in virus-infected cells; eosinophilic to pale basophilic (with haematoxylin & eosin stain) stained intranuclear viral inclusions within hypertrophied nuclei and multifocal necrosis associated with pyknotic and karyorrhectic nuclei in affected tissues of ectodermal and mesodermal origin. The infection with infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus, another DNA virus, produces similar inclusions that need to be differentiated from those of WSSV. Histological demonstration of pathognomonic inclusion bodies in target tissues.

#### 4.2.3.4. In-situ hybridisation

Use of WSSV-specific DNA probes with histological sections to demonstrate the presence of WSSV nuclei acid in infected cells.

#### 4.2.3.5. Immunohistochemistry

Use of WSSV-specific antibodies with histological sections or wet mounts to demonstrate the presence of WSSV antigen in infected cells.

#### 4.2.4. Electron microscopy/cytopathology

Demonstration of the virus in tissue sections or in semi-purified negatively stained virus preparations (e.g. from haemolymph). See Section 2.1.1 for virion morphology.

### 4.3. Agent detection and identification methods

#### 4.3.1. Direct detection methods

Not reported.

##### 4.3.1.1. Microscopic methods

See Section 4.2.3 above.

##### 4.3.1.1.1. Wet mounts

See Section 4.2.4 above.

##### 4.3.1.1.2. Smears

See Section 4.2.5 above.

##### 4.3.1.1.3. Fixed sections

See Section 4.2.3 above.

##### 4.3.1.2. Agent isolation and identification

##### 4.3.1.2.1. Bioassay method

If SPF shrimp are available, the following bioassay method is based on Nunan *et al.* (1998) and Durand *et al.* (2000), is suitable for WSSV diagnosis.

- i) For bioassay, remove the pleopods from shrimp suspected of being infected with WSSV infection and homogenise in TN buffer (0.02 M Tris/HCl, 0.4 M NaCl, pH 7.4).
- ii) Following centrifugation at 1000 **g** for 10 minutes, dilute the supernatant fluid 1/10 with 2% NaCl and filter (0.2 µm filter)
- iii) Inject 0.2 ml of inoculum into the dorso-lateral aspect of the fourth abdominal segment of indicator shrimp (e.g. SPF *P. vannamei* at the juvenile stage), injecting between the tergal plates into the muscle of the third abdominal segment.
- iv) Examine moribund shrimp grossly or by using the methods described above. If at 3–5 days after inoculation there are still no moribund shrimp and all test results are negative, then it is safe to conclude that the bioassay results are negative.

##### 4.3.1.2.2. Cell culture/artificial media

WSSV can be isolated from primary cultures of lymphoid or ovary cells, However, it is NOT recommended to use cell culture as a routine isolation method because of: 1) the high risk of contamination, and, 2) the composition of the medium varies depending on the tissue type, host species and experimental purpose; that is, to date there is no standard or recognised medium that can be recommended. As primary cell culture is so difficult to initiate and maintain for virus isolation purposes, bioassay should be the primary means for virus propagation.

Annexe 22 (suite)4.3.1.2.3. *Antibody-based antigen detection methods*

Both polyclonal and monoclonal antibodies raised against either the virus or a recombinant viral structural protein have been used in various immunological assays including western blot analysis, immunodot assay, indirect fluorescent antibody test (IFAT), immunohistochemistry (IHC) or enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) to detect WSSV (Huang *et al.*, 1995a; Poulos *et al.*, 2001; Sithigorngul *et al.*, 2006; Yoganandhan *et al.*, 2004). Antibody-based methods can be fast, convenient and applicable to field use, but as they have only about the same sensitivity as 1-step PCR, they are recommended only to confirm acute infection with WSSV-WSD.

4.3.1.2.4. *Molecular techniques*4.3.1.2.4.1 *Polymerase chain reaction (PCR)*

The PCR protocol described here is from Lo *et al.* 1996a and b, and uses sampling methods from Lo *et al.* 1997. It is recommended for all situations where infection with WSSV diagnosis is required. A positive result in the first step of this standard protocol implies a serious infection with WSSV-infection, whereas, when a positive result is obtained in the second amplification step only, a latent or carrier-state infection is indicated. Alternative PCR assays have also been developed (e.g. Numan & Lightner, 2011), but before use they should first be compared with the protocol described here.

PCR commercial kits are available for WSSV detection diagnosis and are acceptable provided they have been validated as fit for such purpose. Please consult the OIE Register for kits that have been certified by the OIE (<http://www.oie.int/en/our-scientific-expertise/certification-of-diagnostic-tests/the-register-of-diagnostic-tests/>).

*DNA extraction*

- i) Collect 100–200 mg shrimp tissue (pleopod of live juvenile to subadult shrimp, postlarvae 11 upwards [PL11 up] with removed heads, or whole PL10, or use 100 µl haemolymph) in a 1.5 ml microfuge tube with 600 µl lysis solution (100 mM NaCl, 10 mM Tris/HCl, pH 8, 25 mM EDTA [ethylene diamine tetra-acetic acid], 0.5% SLS [sodium N-laurylsarcosinate] or 2% SDS [sodium dodecyl sulphate], and 0.5 mg ml<sup>-1</sup> proteinase K added just before use). For non-destructive screening, pleopods can be removed using red-hot forceps. For this procedure, the animal should be wrapped in a wet towel such that only the organ to be excised is left exposed.
  - ii) Using a disposable stick, homogenise the tissue in the tube thoroughly.
  - iii) After homogenisation, incubate at 65°C for 1 hour.
  - iv) Add 5 M NaCl to a final concentration of 0.7 M. Next, slowly add 1/10 volume of N-cetyl N,N,N-trimethylammonium bromide (CTAB)/NaCl solution (10% CTAB in 0.7 M NaCl) and mix thoroughly.
- NOTE: In addition to the CTAB extraction method described here, commercial extraction kits are often used as part of normal surveillance activities.
- v) Incubate at 65°C for 10 minutes, and then, at room temperature, add an equal volume of chloroform/isoamyl alcohol (24/1) and mix gently. Centrifuge at 13,000 g for 5 minutes and then transfer the aqueous solution (upper layer) to a fresh 1.5 ml tube and add an equal volume of phenol.
  - vi) Mix gently and centrifuge at 13,000 g for 5 minutes. Collect the upper layer solution and repeat the phenol extraction process once or twice.
  - vii) Transfer the final upper layer to a new tube, mix gently with two volumes of chloroform/isoamyl alcohol (24/1) and centrifuge at 13,000 g for 5 minutes.
  - viii) Transfer the upper layer to a new tube and precipitate DNA by adding two volumes of 95% or absolute ethanol followed by standing at –20°C for 30 minutes or –80°C for 15 minutes.
  - ix) Centrifuge at 13,000 g for 30 minutes and discard the ethanol. Wash the DNA pellet with 70% ethanol, dry and resuspend in 100 µl sterilised double-distilled water at 65°C for 15 minutes.
  - x) Use 1 µl of this DNA solution for one PCR.

Note: the following nested PCR procedures are well established and provide reliable diagnostic results under the specified conditions. Care should be taken, however, to ensure that DNA samples are prepared from the recommended organs, and that the PCR temperature is accurately applied (particularly for annealing, the recommended temperature is 62°C). To prevent the possibility of false positive results, it is important to adhere to the specified procedures, especially when they are used to test new candidate hosts such as *Cherax quadricarinatus* (Claydon *et al.*, 2004), as well as *Procambarus clarkii* (red swamp crayfish) and *Procambarus zonangulus* (Southern white river crayfish). For diagnosed incidences of infection with WSSV in a new host or in a previously free zone, DNA sequencing should be used to confirm the positive results.

#### First-step PCR

- i) Add 1 µl DNA template solution (containing about 0.1–0.3 µg DNA) to a PCR tube containing 100 µl of reaction mixture (10 mM Tris/HCl, pH 8.8, 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.1% Triton X-100, 200 µM of each dNTP, 100 pmol of each primer, 2 units of heat-stable DNA polymerase).
- ii) The outer primer sequences are 146F1, 5'-ACT-ACT-AAC-TTC-AGC-CTA-TCTAG-3' and 146R1, 5'-TAA-TGC-GGG-TGT-AAT-GTT-CTT-ACG-A-3'.
- iii) The PCR profile is one cycle of 94°C for 4 minutes, 55°C for 1 minute, and 72°C for 2 minutes, followed by 39 cycles of 94°C for 1 minute, 55°C for 1 minute, and 72°C for 2 minutes and a final 5-minute extension at 72°C. The WSSV-specific amplicon from this reaction is 1447 bp. The sensitivity is approximately 20,000 copies of a plasmid template.

#### Second step of the (nested) PCR

This second step is necessary for the detection of infection with WSSV in shrimp at the carrier stage.

- i) Add 10 µl of the first-step PCR product to 90 µl of a PCR cocktail with the same composition as above except that it contains the second (inner) primer pair: 146F2 (5'-GTA-ACT-GCC-CCT-TCC-ATC-TCC-A-3') and 146R2 (5'-TAC-GGC-AGC-TGC-TGC-ACC-TTG-T-3').
- ii) Use the same PCR amplification protocol as above. The WSSV-specific amplicon from this reaction is 941 bp. The overall sensitivity of both steps is approximately 20 copies of a WSSV plasmid template.
- iii) To visualise, electrophorese 10 µl PCR products on 1% agarose gels containing ethidium bromide at a concentration of 0.5 µg ml<sup>-1</sup>.
- iv) Decapod-specific primers (143F 5'-TGC-CTT-ATC-AGCTNT-CGA-TTG-TAG-3' and 145R 5'-TTC-AGN-TTT-GCA-ACC-ATA-CTT-CCC-3' yielding an 848 bp amplicon; N represents G, A, T, or C) should be used in control reactions to verify the quality of the extracted DNA and the integrity of the PCR. In the penaeid shrimp *P. aztecus*, the PCR product generated by this decapod-specific primer pair corresponds to nucleotide sequence 352–1200 of the 18s rRNA. The decapod 18s RNA sequence is highly conserved and produces a similar sized PCR product in almost all decapods. A positive control (WSSV DNA template) and negative controls (no template and shrimp DNA template) should be included in every assay.

#### 4.3.1.2.4.2 DNA sequencing of PCR products

For confirmation of suspected new host of WSSV, the DNA fragment amplified-The amplicon from the two-step nested diagnostic PCR should be sequenced. The cloning and sequencing protocols described here are according to Claydon *et al.* (2004).

Note: to save time and money, it is acceptable to sequence the PCR amplicon directly. If a positive result is obtained, then go to step iv below. In the event that only band[s] of unexpected size are obtained, then the sample should be tested again using the cloning and sequencing procedures described below.

- i) Excise the DNA fragments selected for further analysis from the agarose gels and purify them using any of the commercially available PCR clean up kits.
- ii) Faint Ligate amplicons can be cloned into vector plasmids and clone prior to sequencing if required the construct. Amplify and purify the recombinant plasmid for DNA sequencing.

Annexe 22 (suite)

- iii) Use suitable primers to amplify sequence the inserted amplicon, and then subject the amplified product to DNA sequencing.
- iv) Compare the sequences obtained with available databases using the Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) to determine approximate phylogenetic affiliations.

4.3.1.2.4.3 *Taqman real-time PCR method*

The protocol described here is from Durand & Lightner (2002). This detection method is highly specific to WSSV, is extremely sensitive (four copies) and has a wide dynamic range (seven logs).

*Construction of positive control vector and preparation of standard curve*

The DNA fragment of 69 bp amplified by the forward and reverse primers (indicated below) is cloned in pGEM-T easy or other suitable vectors, and then confirmed by sequencing. The plasmid DNA is purified by any commercial plasmid extraction kits and the concentration is determined by using a spectrophotometer or other methods. The gene copy number is determined according to the molar mass derived from the plasmid DNA containing the 69 bp insert. The plasmid DNAs are then serially diluted tenfold to generate standard curves ranging from  $10^2$ - $10^1$  to  $10^7$  copies.

*DNA extraction*

DNA extraction should be performed according to the above protocol described for PCR (4.3.1.2.4.1) or by using a commercial kit. The concentration of purified DNA can be determined by spectrophotometer or by other methods.

*Real-time PCR*

The TaqMan assay is carried out using the TaqMan Universal PCR Master Mix, which contains AmpliTaq Gold DNA polymerase, AmpErase UNG, dNTPs with dUTP and optimised buffer components (PE Applied Biosystems, Foster City, CA, USA<sup>1</sup>). Primer sequences are WSS1011F: 5'-TGG-TCC-CGT-CCT-CAT-CTC-AG-3', WSS1079R: 5'-GCT-GCC-TTG-CCG-GAA-ATT-A-3', Taqman Probe: 5'-AGC-CAT-GAA-GAA-TGC-CGT-CTA-TCA-CAC-A-3'.

- i) Add a sample of 10–50 ng of DNA to set up a 25 µl reaction mixture containing 0.3 µM of each primer and 0.15 µM of TaqMan probe.
- ii) The PCR profile is one cycle of 50°C for 2 minutes for AmpErase uracil-N-glycosylase (UNG) and 95°C for 10 minutes for activation of AmpliTaq, followed by 40 cycles of 95°C for 15 seconds and 60°C for 1 minute.
- iii) To determine the WSSV copy number of the extracted DNA samples, the samples are subjected to PCR reaction alongside the serially diluted plasmid DNA standard. After reaction, the software accompanying the PCR system automatically determines the Ct value for each PCR sample. Based on the Ct values, the software calculates the standard curve for standard dilution and determines the WSSV copy number for the DNA samples by extrapolating values from the standard curve.

4.3.1.2.4.4. *In-situ hybridisation (ISH) method*

The protocol described here is based on that developed by Nunan & Lightner (1997).

- i) Fix moribund shrimp with Davidson's AFA fixative for 24–48 hours.
- ii) Embed the tissues in paraffin and cut into 5 µm sections. Place sections on to positively charged microscope slides.
- iii) Heat the slide on a hot plate at 65°C for 30 minutes.
- iv) Deparaffinise, rehydrate and then treat for 2–30 minutes (depending on tissue type) with 100 µg ml<sup>-1</sup> proteinase K in Tris/NaCl/EDTA (TNE) buffer at 37°C.

<sup>1</sup> Reference to specific commercial products as examples does not imply their endorsement by the OIE. This applies to all commercial products referred to in this *Aquatic Manual*.

Annexe 22 (suite)

- v) Post-fix the slides by chilling in pre-cooled 0.4% formaldehyde for 5 minutes at 4°C and wash the slides in 2 × standard saline citrate (SSC; 1 × SSC = 150 mM NaCl, 15 mM tri-sodium citrate, pH 7.0) at room temperature.
- vi) Pre-hybridise the slides with pre-hybridisation solution (50% formamide, 0.2% Ficoll 400, 0.2% polyvinylpyrrolidone, 0.2% bovine serum albumin, 5 × SSC, 1 mM EDTA, 50 mM Tris/HCl, pH 8) for 30 minutes at 42°C.
- vii) Follow with hybridisation with the 1447 bp WSSV-specific PCR amplicon (or with any other WSSV-specific PCR amplicon; see Section 4.3.1.2.3.1 “First-step PCR” above) that has been labelled with digoxigenin. It is recommended that the probe be labelled by incorporating DIG-dNTP by the PCR method. Optimum concentration should be determined by testing and adjusting until a high specific signal is obtained against a low background.
- viii) For hybridisation, boil the probe for 10 minutes and immediately place on ice. Dilute the probe to 30–50 ng ml<sup>-1</sup> in pre-hybridisation solution and apply 500 µl to each slide.
- ix) Put the slide on a hotplate at 85–95°C for 6–10 minutes (make sure that it does not reach boiling point), quench slides on ice for 5 minutes and then transfer to a humid chamber for 16–20 hours at 42°C.
- x) After hybridisation, wash the slides twice for 15 minutes each time with 2 × SSC at room temperature, twice for 5 minutes with 1 × SSC at 37°C, and twice for 5 minutes with 0.5 × SSC at 37°C.
- xi) For hybridisation detection, wash slides with maleic acid buffer (100 mM maleic acid, 150 mM NaCl, pH 7.5) for 5 minutes at room temperature.
- xii) Block the slides with blocking solution (2% normal goat serum and 0.3% Triton X-100 in maleic acid buffer) for 30 minutes at 37°C.
- xiii) Add 250 µl anti-DIG alkaline phosphatase (AP)-conjugated antibody solution (1 µl ml<sup>-1</sup> anti-DIG/AP-Fab fragment in maleic acid buffer containing 1% normal goat serum and 0.3% Triton X-100) to each slide, and incubate at 37°C for 30 minutes.
- xiv) Wash the slides twice with maleic acid buffer for 10 minutes each and once with detection buffer (100 mM Tris/HCl, 100 mM NaCl, pH 9.5) at room temperature.
- xv) Add 500 µl development solution (prepare immediately before use by adding 45 µl NBT salt solution [75 mg ml<sup>-1</sup> in 70% dimethylformamide], 35 µl 5-bromo-4-chloro-3-indoyl phosphate, toluidinum salt [X-phosphate] solution [50 mg ml<sup>-1</sup> in dimethylformamide] and 1 ml 10% PVA to 9 ml of detection buffer) to each slide and incubate in the dark in a humid chamber for 1–3 hours.
- xvi) Stop the reaction by washing the slides in TE buffer (10 mM Tris/HCl, 1 mM EDTA, pH 8.0) for 15 minutes at room temperature. Wash the slides in distilled water for ten dips, counterstain the slides in 0.5% aqueous Bismarck Brown Y for approximately 5 minutes and then rinse with water. Wet mount using aqueous mounting media for observation immediately or dehydrate the slides and mount with mounting media for long-term preservation.
- xvii) Mount the slides with cover-slips and examine with a bright field microscope. Positive hybridisation appears as a dark blue to black precipitate against the yellow to brown counterstain.

#### 4.3.1.2.4.5. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) method

The protocol described here is from Kono *et al.* (2004). The LAMP method is sensitive and rapid, and it amplifies the target nucleic acids under isothermal conditions, therefore needing no sophisticated machine for thermal cycling.

#### DNA extraction

DNA extraction could be performed according to the above protocol described for PCR (4.3.1.2.4.1) or by other suitable methods or by commercial kits.

Annexe 22 (suite)*LAMP reaction*

- i) Add DNA to a tube to set up a 25 µl reaction mixture (20 mM Tris/HCl, pH 8.8, 10 mM KCl, 8 mM MgSO<sub>4</sub>, 10 mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0.1% Tween 20, 0.8M Betaine, 1.4 mM of each dNTP, 40 pmol of WSSV-FIP and -BIP primers, 5 pmol of WSSV-F3 and -B3 primers).
- ii) The primer sequences are WSSV-FIP: 5'-GGG-TCG-TCG-AAT-GTT-GCC-CAT-TTT-GCC-TAC- GCA-CCA-ATC-TGT-G-3', WSSV-BIP: 5'-AAA-GGA-CAA-TCC-CTC-TCC-TGC-GTT-TTA-GAA-CGG-AAG-AAA-CTG-CC-TT-3', WSSV-F3: ACG-GAC-GGA-GGA-CCC-AAA-TCG-A-3', WSSV-B3: 5'-GCC-TCT-GCA-ACA-TCC-TTT-CC-3'.
- iii) Heat the mixture at 50°C for 5 minutes and at 95°C for 5 minutes, then chill on ice, and add 1 µl (8 U) of *Bst* DNA polymerase.
- iv) Incubate the mixture at 65°C for 60 minutes, and then terminate the reaction at 80°C for 10 minutes.
- v) To visualise, electrophorese 2 µl LAMP reaction products on 2% agarose gels containing ethidium bromide at a concentration of 0.5 µg ml<sup>-1</sup>. This reaction produces WSSV-specific LAMP products with multiple bands of various sizes from approximately 200 bp to the loading well.

*Reliable LAMP commercial kits may be an alternative for WSSV diagnosis.*

4.3.1.2.5. *Agent purification*

The WSSV virion can be purified as described previously with slight modifications (Xie *et al.*, 2005). Briefly, collect five or six moribund crayfish or shrimp (20–25 g each) at 3 days to 1 week post-infection. Homogenise all tissues excluding the hepatopancreas for 2 minutes using a mechanical homogeniser in 1200 ml TNE buffer (50 mM Tris/HCl, 400 mM NaCl, 5 mM EDTA, pH 8.5) containing protease inhibitors (1 mM phenylmethylsulfonyl fluoride, 1 mM benzamidine, and 1 mM Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub>). Centrifuge at 3500 *g* for 5 minutes. Save the supernatant and rehomogenise the pellet in 1200 ml TNE buffer. Filter the pooled supernatant through a nylon net (400 mesh) and centrifuge at 30,000 *g* for 30 minutes. Discard the supernatant and carefully rinse out the upper loose layer (pink) of the pellet using a Pasteur pipette. Resuspend the lower compact layer (grey) in 10 ml TM buffer (50 mM Tris/HCl, 10 mM MgCl<sub>2</sub>, pH 7.5). Pool the crude virus suspension and centrifuge at 3000 *g* for 5 minutes. Centrifuge the supernatant again at 30,000 *g* for 20 minutes. Remove the supernatant and pink loose layer and resuspend the white pellet in 1.2 ml TM buffer containing 0.1% NaN<sub>3</sub>. Transfer to a 1.5-ml Eppendorf tube. Centrifuge the suspension three to five times at 650 *g* for 5 minutes each time to remove pink impurities. Finally, store the milk-like pure virus suspension at 4°C until use.

**4.3.2. Serological methods**

None developed.

## 5. Rating of tests against purpose of use

The methods currently available for targeted surveillance and diagnosis of infection with WSSV are listed in Table 5.1. The designations used in the Table indicate: a = the method is the recommended method for reasons of availability, utility, and diagnostic specificity and sensitivity; b = the method is a standard method with good diagnostic sensitivity and specificity; c = the method has application in some situations, but cost, accuracy, or other factors severely limits its application; and d = the method is presently not recommended for this purpose. These are somewhat subjective as suitability involves issues of reliability, sensitivity, specificity and utility. Although not all of the tests listed as category A or B have undergone formal standardisation and validation, their routine nature and the fact that they have been used widely without dubious results, makes them acceptable.

*Table 5.1. Methods for targeted surveillance and diagnosis*

Method	Targeted surveillance				Presumptive diagnosis	Confirmatory diagnosis
	Larvae	PLs	Juveniles	Adults		
Gross signs	d	d	c	c	c	d
Bioassay	d	d	d	d	c	b
<u>Direct LM Wet mounts and smears</u>	d	d	c	c	c	e-d
Histopathology	d	c	c	c	a	c
Transmission EM	d	d	d	d	d	a
Antibody-based assays	d	d	c	c	a	b
<i>In-situ</i> DNA probes	d	d	c	c	a	a
<u>Real-time</u> PCR	<u>e-c</u>	b	a	a	a	a
<u>Conventional PCR</u>	<u>d</u>	<u>c</u>	<u>b</u>	<u>b</u>	<u>b</u>	<u>a</u>
Sequence	d	d	d	d	d	a
LAMP	d	d	a	a	a	a

PLs = postlarvae; LM = light microscopy; EM = electron microscopy; PCR = polymerase chain reaction; LAMP = loop-mediated isothermal amplification.

## 6. Test(s) recommended for targeted surveillance to declare freedom from infection with white spot syndrome virus disease

~~Two-step PCR and sequencing are the recommended methods for declaring freedom, only for juveniles and adults and possibly PLs. Two-step PCR negative results are required. Where a two-step PCR positive result cannot be confirmed as infection with WSSV by sequencing, this also counts as a negative result.~~

Real-time PCR is the recommended test for targeted surveillance to declare freedom from infection with white spot disease syndrome virus.

Annexe 22 (suite)**7. Corroborative diagnostic criteria****7.1. Definition of suspect case**

*For juvenile and adult shrimp: gross signs of WSD (See Sections 4.1.1 and 4.1.2 above).*

*For shrimp at any life stage (larva to adult): mortality.*

*For shrimp and crab at any life stage (larva to adult): hypertrophied nuclei in squash preparations of gill and/or cuticular epithelium; unusual aggregates in haemolymph by dark field microscopy; inclusion bodies in histological sections in target tissues.*

Infection with WSSV is suspected if at least one of the following criteria is met:

1. Gross pathology consistent with infection with WSSV
2. Histopathology consistent with infection with WSSV
3. Positive conventional PCR result
4. Positive real-time PCR result
5. Positive LAMP result

**7.2. Definition of confirmed case**

~~Suspect cases should first be checked by PCR or LAMP. If in a previously WSSV-free country/zone/compartiment, where PCR results are positive, they should be confirmed by sequencing. Histopathology, probes and electron microscopy also can be used to confirm the case.~~

Infection with WSSV is considered to be confirmed if one or more of the following criteria are met:

1. Histopathology consistent with WSSV and positive *in-situ* hybridisation test
2. Positive conventional PCR results from and two positive conventional PCRs and conventional PCR targeting a two-different regions of the WSSV genome with sequence analysis consistent with WSSV
3. Positive real-time PCR results and positive conventional PCR targeting a different region of the WSSV genome with sequence analysis consistent with WSSV and conventional PCR targeting a two different regions of the WSSV genome
4. Positive LAMP results and positive conventional PCR targeting a different region of the WSSV genome with sequence analysis consistent with WSSV and conventional PCR targeting a two different regions different region of the WSSV genome

For confirmation of an index case in a previously free zone or country, sequence analysis of conventional PCR amplicons is required.

**8. References**

BALASUBRAMANIAN G., SUDHAKARAN R., SYED MUSTHAQ S., SARATHI M. & SAHUL HAMEED A.S. (2006). Studies on the inactivation of white spot syndrome virus of shrimp by physical and chemical treatments, and seaweed extracts tested in marine and freshwater animal models. *J. Fish Dis.*, **29**, 569–572.

CHANG C.-F., SU M.-S., CHEN H.-Y. & LIAO I.C. (2003). Dietary ~~beta~~  $\beta$ -1,3-glucan effectively improves immunity and survival of *Penaeus monodon* challenged with white spot syndrome virus. *Fish Shellfish Immunol.*, **15**, 297–310.

CHANG P.S., CHEN H.C. & WANG Y.C. (1998). Detection of white spot syndrome associated baculovirus in experimentally infected wild shrimp, crab and lobsters by *in situ* hybridization. *Aquaculture*, **164**, 233–242.

CHANG P.S., LO C.F., WANG Y.C. & KOU G.H. (1996). Identification of white spot syndrome associated baculovirus (WSBV) target organs in the shrimp *Penaeus monodon* by ~~in situ~~ *in situ* hybridization. *Dis. Aquat. Org.*, **27**, 131–139.

CHANG Y.S., LO C.F., PENG S.E., LIU K.F., WANG C.H. & KOU G.H. (2002). White spot syndrome virus (WSSV) PCR-positive *Artemia* cysts yield PCR-negative nauplii that fail to transmit WSSV when fed to shrimp postlarvae. *Dis. Aquat. Org.*, **49**, 1–10.

CHEN I.T., AOKI T., HUANG Y.T., HIRONO I., CHEN T.C., HUANG J.Y., CHANG G.D., LO C.F., WANG H.C. (2011). White spot syndrome virus induces metabolic changes resembling the Warburg effect in shrimp hemocytes in the early stage of infection. *J. Virol.*, **85**, 12919–12928.

CHOTIGEAT W., TONGSUPA S., SUPAMATAYA K. & PHONGDARA A. (2004). Effect of fucoidan on disease resistance of black tiger shrimp. *Aquaculture*, **233**, 23–30.

CLAYDON K., CULLEN B. & OWENS L. (2004). OIE white spot syndrome virus PCR gives false-positive results in *Cherax quadricarinatus*. *Dis. Aquat. Org.*, **62**, 265–268.

CORBEL V., ZUPRIZAL Z., SHI C., HUANG, SUMARTONO, ARCIER J.-M. & BONAMI J.-R. (2001). Experimental infection of European crustaceans with white spot syndrome virus (WSSV). *J. Fish Dis.*, **24**, 377–382.

CUÉLLAR-ANJEL J., WHITE-NOBLE B., SCHOFIELD P., CHAMORRO R. & LIGHTNER D.V. (2012). Report of significant WSSV-r esistance in the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, from a Panamanian breeding program. *Aquaculture*, **368–369**, 36–39.

DURAND S.V. & LIGHTNER D.V. (2002). Quantitative real time PCR for the measurement of white spot syndrome virus in shrimp. *J. Fish Dis.*, **25**, 381–389.

DURAND S.V., TANG K.F.J. & LIGHTNER D.V. (2000). Frozen commodity shrimp: potential avenue for introduction of white spot syndrome virus and yellow head virus. *J. Aquat. Anim. Health*, **12**, 128–135.

ESCOBEDO-BONILLA C. M., ALDAY-SANZ V., WILLE M., SORGELOOS P., PENSART M.B. & NAUWYNCK H.J. (2008). A review on the morphology, molecular characterization, morphogenesis and pathogenesis of white spot syndrome virus. *J. Fish Dis.*, **31**, 1–18.

FLEGEL T.W. (1997). Major viral diseases of the black tiger prawn (*Penaeus monodon*) in Thailand. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, **13**, 433–442.

HE J. & ZHOU H. (1996). Infection route and host species of white spot syndrome baculovirus. *Acta Sci. Natur. Univ. Sunyatseni*, **38**, 65–69.

HEIDARIEH M., SOLTANI M., MOTAMEDISEDEH F. & SHEIKHZADEH N. (2013). Low water temperature retards white spot syndrome virus replication in *Astacus leptodactylus* Crayfish. *Acta Sci. Vet.*, **41**, 1–6.

HUANG J. & YU J. (1995). A new staining method for on-site observation of viral inclusion bodies of penaeid shrimp. (*Chinese J.*) *Mar. Fish. Res.*, **16**, 31–39.

HUANG J., YU J., WANG X.-H., SONG X.-L., MA C.-S., ZHAO F.-Z. & YANG C.-H. (1995a). Survey on the pathogen and route of transmission of baculoviral hypodermal and hematopoietic necrosis in shrimp by ELISA of monoclonal antibody. (*Chinese J.*) *Mar. Fish. Res.*, **16**, 40–50.

HUANG Y., YIN Z., WENG S., HE J. & LI S. (2012). Selective breeding and preliminary commercial performance of *Penaeus vannamei* for resistance to white spot syndrome virus (WSSV). *Aquaculture*, **364–365**, 111–117.

KONO T., SAVAN R., SAKAI M., & ITAMI T. (2004). Detection of white spot syndrome virus in shrimp by loop-mediated isothermal amplification. *J. Virol. Methods*, **115**, 59–65.

LEI Z.-W., HUANG J., SHI C.-Y., ZHANG L.-J. & YU K.-K. (2002). Investigation into the hosts of white spot syndrome virus (WSSV). *Oceanol. Limnol. Sin.*, **33**, 250–258.

LIGHTNER D.V. (1996). A handbook of pathology and diagnostic procedures for diseases of penaeid shrimp. Baton Rouge, Louisiana, USA: World Aquaculture Society, 1996.

Annexe 22 (suite)

- LO C.F., AOKI T., BONAMI J.R., FLEGEL T.W., LEU J.H., LIGHTNER D.V., STENTIFORD G., SÖDERHÅLL K., WALKER P.W., WANG H.C., XUN X., YANG F. & VLAK J.M. (2012). *Nimaviridae*. In: *Virus Taxonomy: Classification and Nomenclature of Viruses: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*, King A.M.Q., Adams M.J., Carstens E.B., & Lefkowitz E.J., eds. Elsevier Academic Press, San Diego, CA. USA, pp: 229–234.
- LO C.F., HO C.H., CHEN C.H., LIU K.F., CHIU Y.L., YEH P.Y., PENG S.E., HSU H.C., LIU H.C., CHANG C.F., SU M.S., WANG C.H. & KOU G.H. (1997). Detection and tissue tropism of white spot syndrome baculovirus (WSBV) in captured brooders of *Penaeus monodon* with a special emphasis on reproductive organs. *Dis. Aquat. Org.*, **30**, 53–72.
- LO C.F., HO C.H., PENG S.E., CHEN C.H., HSU H.C., CHIU Y.L., CHANG C.F., LIU K.F., SU M.S., WANG C.H. & KOU G.H. (1996b). White spot syndrome baculovirus (WSBV) detected in cultured and captured shrimp, ~~erab~~ crabs and other arthropods. *Dis. Aquat. Org.*, **27**, 215–225.
- LO C.F. & KOU G.H. (1998). Virus-associated white spot syndrome of shrimp in Taiwan: a review. *Fish Pathol.*, **33**, 365–371.
- LO C.F., LEU J.H., Ho C.H., CHEN C.H., PENG S.E., CHEN Y.T., CHOU C.M., YEH P.Y., HUANG C.J., CHOU H.Y., WANG C.H. & KOU G.H. (1996a). Detection of baculovirus associated with white spot syndrome (WSBV) in penaeid shrimps using polymerase chain reaction. *Dis. Aquat. Org.*, **25**, 133–141. Annex 28 (contd)
- MAEDA M., ITAMI T., MIZUKI E., TANAKA R., YOSHIZU Y., DOI K., YASUNAGA-AOKI C., TAKAHASHI Y. & KAWARABATA T. (2000). Red swamp crawfish (~~*Procambarus clarkii*~~ *Procambarus clarkii*): an alternative experimental host in the study of white spot syndrome virus. *Acta Virol.*, **44**, 371–374.
- MAEDA M., KASORNCHANDRA J., ITAMI T., SUZUKI N., HENNIG O., KONDO M., ALBALADEJO J.D. & TAKAHASHI Y. (1998). Effect of Various Treatments on White Spot Syndrome Virus (WSSV) from *Penaeus japonicus* (Japan) and *P. monodon* (Thailand). *Fish Pathol.*, **33**, 381–387.
- MOMOYAMA K., HIRAOKA M., INOUE K., KIMURA T. & NAKANO H. (1995). Diagnostic techniques of the rod-shaped nuclear virus infection in the kuruma shrimp, *Penaeus japonicus*. *Fish Pathol.*, **30**, 263–269.
- MOMOYAMA K., HIRAOKA M., NAKANO H., KOUBE H., INOUE K. & OSEKO N. (1994). Mass mortalities of cultured kuruma shrimp, *Penaeus japonicus*, in Japan in 1993: Histopathological study. *Fish Pathol.*, **29**, 141–148.
- MOMOYAMA K., HIRAOKA M., NAKANO H. & SAMESHIMA M. (1998). Cryopreservation of penaeid rod-shaped DNA virus (PRDV) and its survival in sea water at different temperatures. *Fish Pathol.*, **33**, 95–96.
- NAKANO H., HIRAOKA M., SAMESHIMA M., KIMURA T. & MOMOYAMA K. (1998). Inactivation of penaeid rod-shaped DNA virus (PRDV), the causative agent of penaeid acute viraemia (PAV), by chemical and physical treatments. *Fish Pathol.*, **33**, 65–71.
- NUNAN L.M. & LIGHTNER D.V. (1997). Development of a non-radioactive gene probe by PCR for detection of white spot syndrome virus (WSSV). *J. Virol. Methods*, **63**, 193–201.
- NUNAN L.M. & LIGHTNER D.V. (2011). Optimized PCR assay for detection of white spot syndrome virus (WSSV). *J. Virol. Methods*, **171**, 318–321.
- NUNAN L.M., POULOS B.T. & LIGHTNER D.V. (1998). The detection of white spot syndrome virus (WSSV) and yellow head virus (YHV) in imported commodity shrimp. *Aquaculture*, **160**, 19–30.
- POULOS B.T., PANTOJA C.R., BRADLEY-DUNLOP D., AGUILAR J. & LIGHTNER D.V. (2001). Development and application of monoclonal antibodies for the detection of white spot syndrome virus of penaeid shrimp. *Dis. Aquat. Org.*, **47**, 13–23.
- ROBALINO J., BARTLETT T., SHEPARD E., PRIOR S., JARAMILLO G., SCURA E., CHAPMAN R.W., GROSS P.S., BROWDY C.L. & WARR G.W. (2005). Double-stranded RNA induces sequence-specific antiviral silencing in addition to nonspecific immunity in a marine shrimp: convergence of RNA interference and innate immunity in the invertebrate antiviral response? *J Virol.*, **79**, 13561–13571.

SAHUL HAMEED A.S., ANILKUMAR M., STEPHEN RAJ M.L. & JAYARAMAN K. (1998). Studies on the pathogenicity of systemic ectodermal and mesodermal baculovirus and its detection in shrimp by immunological methods. *Aquaculture*, **160**, 31–45.

SAHUL HAMEED A.S., YOGANANDHAN K., SATHISH S., RASHEED M., MURUGAN V. & JAYARAMAN K. (2001). White spot syndrome virus (WSSV) in two species of freshwater crabs (*Paratelphusa hydrodomous* and *P. pulvinata*). *Aquaculture*, **201**, 179–186.

SÁNCHEZ-PAZ A. (2010). White spot syndrome virus: an overview on an emergent concern. *Vet. Res.*, **41**, 43.

SARATHI M., SIMON M.C., VENKATESAN C. & SAHUL HAMEED A.S. (2008). Oral administration of bacterially expressed VP28dsRNA to protect *Penaeus monodon* from white spot syndrome virus. *J. Mar. Biotechnol.*, **10**, 242–249.

SATHEESH KUMAR S., ANANDA BHARATHI R., RAJAN J.J.S., ALAVANDI S.V., POORNIMA M., BALASUBRAMANIAN C.P. & PONNIAH A.G. (2013). Viability of white spot syndrome virus (WSSV) in sediment during sun-drying (drainable pond) and under non-drainable pond conditions indicated by infectivity to shrimp. *Aquaculture*, **402–403**, 119–126.

SITHIGORNGUL W., RUKPRATANPORN S., PECHARABURANIN N., LONGYANT S., CHAVISUTHANGKURA P. & SITHIGORNGUL P. (2006). A simple and rapid immunochromatographic test strip for detection of white spot syndrome virus (WSSV) of shrimp. *Dis. Aquat. Org.*, **72**, 101–106.

SONG X., HUANG J., WANG C., YU J., CHEN B. & YANG C. (1996). Artificial infection of brood shrimp of *Penaeus chinensis* with hypodermal and hematopoietic necrosis baculovirus. *J. Fish. China*, **20**, 374–378.

STENTIFORD G.D., BONAMI J.R. & ALDAY-SANZ V. (2009). A critical review of susceptibility of crustaceans to Taura Syndrome, yellowhead disease and white spot disease and implications of inclusion of these diseases in European legislation. *Aquaculture*, **291**, 1–17.

STENTIFORD G.D. & LIGHTNER D.V. (2011). Cases of white spot disease (WSD) in European shrimp farms. *Aquaculture*, **319**, 302–306.

TSAI M.F., KOU G.H., LIU H.C., LIU K.F., CHANG C.F., PENG S.E., HSU H.C., WANG C.H. & LO C.F. (1999). Long-term presence of white spot syndrome virus (WSSV) in a cultivated shrimp population without disease outbreaks. *Dis. Aquat. Org.*, **38**, 107–114.

VENEGAS C.A., NONAKA L., MUSHIAKE K., NISHIZAWA T. & MUROG K. (2000). Quasi-immune response of *Penaeus japonicus* to penaeid rod-shaped DNA virus (PRDV). *Dis. Aquat. Org.*, **42**, 83–89.

VENEGAS C.A., NONAKA L., MUSHIAKE K., SHIMIZU K., NISHIZAWA T. & MUROGA K. (1999). Pathogenicity of penaeid rod-shaped DNA virus (PRDV) to kuruma prawn in different developmental stages. *Fish Pathol.*, **34**, 19–23.

VIDAL O.M., GRANJA C.B., ARANGUREN F., BROCK J.A. & SALAZAR M. (2001). A profound effect of hyperthermia on survival of *Litopenaeus vannamei* juveniles infected with white spot syndrome virus. *J. World Aquac. Soc.*, **32**, 364–372.

VIJAYAN K.K., STALIN RAJ V., BALASUBRAMANIAN C.P., ALAVANDI S.V., THILLAI SEK HAR V. & SANTIAGO T.C. (2005). Polychaete worms – a vector for white spot syndrome virus (WSSV). *Dis. Aquat. Org.*, **63**, 107–111.

WANG C.H., YANG H.N., TANG C.Y., LU C.H., KOU G.H. & LO C.F. (2000). Ultrastructure of white spot syndrome virus development in primary lymphoid organ cell cultures. *Dis. Aquat. Org.*, **41**, 91–104.

WITHYACHUMNARNKUL B. (1999). Results from black tiger shrimp *Penaeus monodon* culture ponds stocked with postlarvae PCR-positive or -negative for white-spot syndrome virus (WSSV). *Dis. Aquat. Org.*, **39**, 21–27.

WITTEVELDT J., CIFUENTES C.C., VLAK J.M. & VAN HULTEN M.C. (2004). Protection of *Penaeus monodon* against white spot syndrome virus by oral vaccination. *J. Virol.*, **78**, 2057–2061.

Annexe 22 (suite)

WONGTEERASUPAYA C., VICKERS J.E., SRIURAIRATANA S., NASH G.L., AKARAJAMORN A., BOONSAENG V., PANYIM S., TASSANAKAJON A., WITHYACHUMNARNKUL B. & FLEGEL T.W. (1995). A non-occluded, systemic baculovirus that occurs in cells of ectodermal and mesodermal origin and causes high mortality in the black tiger prawn *Penaeus monodon*. *Dis. Aquat. Org.*, **21**, 69–77.

WU W., WU B., YE T., HUANG H., DAI C., YUAN J. & WANG W. (2013). TCTP is a critical factor in shrimp immune response to virus infection. *PLoS One*, **8**, e74460.

XIE X., LI H., XU L. & YANG F. (2005). A simple and efficient method for purification of intact white spot syndrome virus (WSSV) viral particles. *Virus Res.*, **108**, 63–67.

YAN D.C., DONG S.L., HUANG J., YU X.M., FENG M.Y. & LIU X.Y. (2004). White spot syndrome virus (WSSV) detected by PCR in rotifers and rotifer resting eggs from shrimp pond sediments. *Dis. Aquat. Org.*, **59**, 69–73.

YOGANANDHAN K., SYED MUSTHAQ S., NARAYANAN R.B. & SAHUL HAMEED A.S. (2004). Production of polyclonal antiserum against recombinant VP28 protein and its application for the detection of white spot syndrome virus in crustaceans. *J. Fish Dis.*, **27**, 517–522.

ZHAN W.B., WANG Y.H., FRYER J.L., YU K.K., FUKUDA H. & MENG Q.X. (1998). White Spot Syndrome Virus Infection of Cultured Shrimp in China. *J. Aquat. Anim. Health*, **10**, 405–410.

\*  
\* \*

**NB:** There is an OIE Reference Laboratory for infection with white spot syndrome virus disease (see Table at the end of this *Aquatic Manual* or consult the OIE web site for the most up-to-date list: <http://www.oie.int/en/our-scientific-expertise/reference-laboratories/list-of-laboratories/> ). Please contact the OIE Reference Laboratories for any further information on for infection with white spot syndrome virus disease

**NB: FIRST ADOPTED IN 1997. MOST RECENT UPDATES ADOPTED IN 2012.**

## CHAPTER 2.3.1.

## INFECTION WITH EPIZOOTIC HAEMATOPOIETIC NECROSIS VIRUS

---

### 1. Scope

For the purpose of this chapter, Infection with epizootic haematopoietic necrosis virus means is considered to be systemic clinical or subclinical infection of finfish with the pathogenic agent epizootic haematopoietic necrosis virus (EHNV) of the Genus *Ranavirus* of the and Family Iridoviridae.

### 2. Disease information

#### 2.1. Agent factors

##### 2.1.1. Aetiological agent, agent strains

EHNV is a member of the genus *Ranavirus* in the Family Iridoviridae with the type species Frog virus 3 (FV3) (Chinchar *et al.*, 2005). Other species include Bohle virus (BIV), European catfish virus (ECV), European sheatfish virus (ESV) and Santee-Cooper ranavirus. Caution should be taken when speaking of ECV and ESV as two separate viruses because the scientific literature (Hyatt *et al.*, 2000) indicates they are isolates of the same virus. There are many other tentative species in this Genus. *Ranaviruses* have been isolated from healthy or diseased frogs, salamanders and reptiles in America, Europe and Australia (Chinchar., 2002; Drury *et al.*, 2002; Fijan *et al.*, 1991; Hyatt *et al.*, 2002; Speare & Smith, 1992; Whittington *et al.*, 2010; Wolf *et al.*, 1968; Zupanovic *et al.*, 1998). *Ranaviruses* have large (150–180 nm), icosahedral virions, a double-stranded DNA genome 150–170 kb, and replicate in both the nucleus and cytoplasm with cytoplasmic assembly (Chinchar *et al.*, 2005). They possess common antigens that can be detected by several techniques.

Since the recognition of disease due to EHNV in Australia in 1986, similar systemic necrotising iridovirus syndromes have been reported in farmed fish. These include catfish (*Ictalurus melas*) in France (ECV) (Pozet *et al.*, 1992), sheatfish (*Silurus glanis*) in Germany (ESV) (Ahne *et al.*, 1989; 1990), turbot (*Scophthalmus maximus*) in Denmark (Bloch & Larsen, 2009) and others in Finland (Ariel *et al.*, 1999).

EHNV and ECV are distinct viruses that can be differentiated using genomic analysis (Ahne *et al.*, 1998; Holopainen *et al.*, 2009; Hyatt *et al.*, 2000; Mao *et al.*, 1996; 1997; Marsh *et al.*, 2002). This enables epidemiological separation of disease events in finfish in Australia (EHNV) and Europe (ECV), and differentiation of these from ranavirus occurrences in frogs (FV3 and BIV). However, many ranavirus isolates have not been characterised to this level.

##### 2.1.2. Survival outside the host

EHNV is extremely resistant to drying and, in water, can survive for months (Langdon, 1989). It can persist in frozen fish tissues for more than 2 years (Langdon, 1989) and frozen fish carcasses for at least a year (Whittington *et al.*, 1996). For these reasons, it is presumed that EHNV would persist for months to years on a fish farm in water and sediment, as well as on plants and equipment.

##### 2.1.3. Stability of the agent (effective inactivation methods)

EHNV is susceptible to 70% ethanol, 200 mg litre<sup>-1</sup> sodium hypochlorite or heating to 60°C for 15 minutes (Langdon, 1989). Data for the inactivation of an amphibian ranavirus may also be relevant: 150 mg/litre chlorhexidine and 200 mg/litre potassium peroxymonosulphate were effective after 1 minute contact time (Bryan *et al.*, 2009). If it is first dried, EHNV in cell culture supernatant is resistant to heating (Whittington *et al.*, 2010).

Annexe 23 (suite)**2.1.4. Life cycle**

The route of infection is unknown but fish are susceptible experimentally following bath exposure. The virus infects a range of cell types including hepatocytes, haematopoietic cells and endothelial cells in many organs (Reddacliff & Whittington, 1996). Virus is shed into water from infected tissues and carcasses as they disintegrate.

**2.2. Host factors****2.2.1. Susceptible host species**

Natural EHNV infections are known from only two teleost species, redfin perch (*Perca fluviatilis*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) (Langdon, 1989; Langdon *et al.*, 1986; 1987; 1988), however, a number of other finfish species are susceptible to EHNV experimentally. Individuals of the following species have died after bath inoculation: Species that fulfil the criteria for listing as susceptible to infection with EHNV according to Chapter 1.5. of the Aquatic Animal Health Code (Aquatic Code) include: black bullhead (*Ameiurus melas*), crimson spotted rainbow fish (*Melanotaenia fluviatilis*), eastern mosquito fish (*Gambusia holbrooki*), European perch (*Perca fluviatilis*), macquarie perch (*Macquaria australasica*), mosquito fish (*Gambusia affinis*), mountain galaxias (*Galaxias olidus*), northern pike (*Esox lucius*), pike-perch (*Sander lucioperca*), rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and silver perch (*Bidyanus bidyanus*).

Macquarie perch (*Macquaria australasica*), silver perch (*Bidyanus bidyanus*), mosquito fish (*Gambusia affinis*) and mountain galaxias (*Galaxias olidus*). Some species, for example goldfish (*Carassius auratus*) and common carp (*Cyprinus carpio*), are resistant (Langdon, 1989). European studies have shown that black bullhead (*Ameiurus melas*) and pike (*Esox lucius*) are susceptible to EHNV by bath exposure (Bang Jensen *et al.*, 2009; Gobbo *et al.*, 2010).

**2.2.2. Species with incomplete evidence for susceptibility**

Species for which there is incomplete evidence for susceptibility according to Chapter 1.5. of the Aquatic Code include: none known.

**2.2.3. Susceptible stages of the host**

Susceptible stages of the host are all age classes of rainbow trout and ~~redfin-~~European perch.

**2.2.4. Species or subpopulation predilection (probability of detection)**

Clinical signs are usually more obvious in fingerlings and juvenile fish than adults of both rainbow trout and ~~redfin-~~European perch.

**2.2.5. Target organs and infected tissue**

Target organs and tissues infected with the virus are: liver, kidney, spleen and other parenchymal tissues. It is not known if EHNV can be detected in gonadal tissues, ovarian fluid or milt or whether these tissues are suitable for surveillance of broodstock.

## 2.2.65. Persistent infection with lifelong carriers

### 2.2.65.1. Rainbow trout

The high case fatality rate and low prevalence of infection with EHNV infection in natural infections in rainbow trout means that the recruitment rate of carriers is likely to be very low (<2%) (Whittington et al., 1994). ~~Persistent infection with very small numbers of infectious virions was detected in one clinically healthy rainbow trout fingerling 63 days after intraperitoneal inoculation (Whittington & Reddacliff, 1995), but the significance of this observation is unclear because of the artificial route of infection.~~ EHNV has been detected in grower-growout fish, but as histopathological lesions consistent with infection with EHNV were also present there was active infection rather than a carrier state (Whittington et al., 1999). ~~Too few broodstock samples have been examined to be certain that broodstock are not infected (Whittington et al., 1994).~~ Anti-EHNV serum antibodies were not detected in 0+ fingerlings during or after an outbreak but were detected in a low proportion of 1+ to 2+ grower-growout fish, hence, it is uncertain whether these were survivors of the outbreak (Whittington et al., 1994; Whittington et al., 1999). There are data for European stocks of rainbow trout in experimental infections where potential carriers were identified (Ariel & Bang Jensen, 2009).

### 2.2.65.2. Redfin-European perch

This species is extremely susceptible to infection with EHNV and it seems unlikely that it is a suitable ~~reservoir host in Australia (Whittington & Reddacliff, 1995). However, there is some conflicting evidence.~~ EHNV, or a related ranavirus, was isolated from 2 of 40 apparently healthy adult redfin-European perch during epizootics in juveniles in Victoria, Australia (Langdon & Humphrey, 1987), but as the incubation period extends for up to 28 days (Whittington & Reddacliff, 1995), these fish may have been in the preclinical phase. Several ranavirus isolates have been obtained from redfin-European perch in Victoria at times when there was no obvious epizootic, and some apparently healthy redfin-European perch in Victoria had serum antibodies against EHNV or a related virus (Whittington & Hyatt, unpublished data). ~~Furthermore, there are data for European stocks of redfin-European perch in experimental infections where the virulence of EHNV appeared to be lower than in Australia (Ariel & Bang Jensen, 2009).~~

### 2.2.65.3. Murray cod

~~This species may be a suitable carrier as infection without disease has occurred after bath inoculation (Langdon, 1989).~~

### 2.2.65.4. Rainbow trout and Atlantic salmon

~~These species may be a suitable carrier as infection without disease has occurred after intraperitoneal or bath inoculation (Langdon, 1989).~~

### 2.2.65.5. Pike

~~This species may be a suitable carrier based on limited trials with fry (Bang Jensen et al., 2009).~~

## 2.2.76. Vectors

~~Since EHNV is a resistant virus, it may be transferred on nets, boats and other equipment, or in fish used for bait by recreational fishers. Birds are potential mechanical vectors for EHNV, it being carried in the gut, on feathers, feet and the bill. Piscivorous birds feed on affected juvenile redfin perch and the gastrointestinal contents of these birds may contain EHNV (Whittington et al., 1994). However, the virus is likely to may be inactivated at typical avian body temperatures (40–44°C). Nevertheless, the spread of EHNV by regurgitation of ingested material within a few hours of feeding is possible (Whittington et al., 1994).~~

## 2.2.87. Known or suspected wild aquatic animal carriers

None known.

## Annexe 23 (suite)

## 2.3. Disease pattern

### 2.3.1. Transmission mechanisms

*Rainbow trout*: EHN<sub>V</sub> has spread between rainbow trout farms by transfer of infected fingerlings and probably transport water (Langdon *et al.*, 1988; Whittington *et al.*, 1994; 1999). ~~It is assumed that consignments of fish contain a low proportion of individuals with progressive subclinical or clinical infection, rather than carrier fish.~~ The low prevalence of infection in rainbow trout means that active infection can easily go unrecognised in a population and be spread by trading fish. There are no data on possible vertical transmission of EHN<sub>V</sub> on or within ova, and disinfection protocols for ova have not been evaluated. EHN<sub>V</sub> has not yet been isolated from ovarian tissues or from broodstock. Annual recurrence in farmed rainbow trout may be due to reinfection of successive batches of fish from wild ~~redfin-European~~ perch present in the same catchment.

~~Redfin-European perch~~: The occurrence of infection with EHN<sub>V</sub> in ~~redfin-European~~ perch in widely separated river systems and impoundments, and its upstream progression, indicates that EHN<sub>V</sub> is spread by means other than water; mechanisms include translocation of live fish or bait by recreational fishers. ~~Redfin-European~~ perch migrations in Australia are uncertain (see also Section 2.2.6 Vectors).

### 2.3.2. Prevalence

*Rainbow trout*: ~~the clinical~~ disease is generally difficult to ~~identify-detect~~ with very low mortality rates and infection with EHN<sub>V</sub> may be present on a farm without causing suspicion. During outbreaks, EHN<sub>V</sub> has been detected by virus isolation in 60–80% of moribund or dead fish, but in only 0–4% of in-contact, clinically healthy fish. The 99% confidence limits for the prevalence of subclinical infection are 0–8% (Whittington *et al.*, 1994; 1999). The virus could not be found at all in surviving cohorts after an outbreak. Anti-EHN<sub>V</sub> antibodies were detected in ~~grower-growout~~ fish at low prevalence (0.7%, 95% confidence limits 0.02% to 3.7%).

~~Redfin-European perch~~: the disease is recognised by epizootic mortality in fish of any age affecting a very large proportion of the population with dramatic population decline (Langdon *et al.*, 1986; 1987; Whittington *et al.*, 1996). Typically, fingerling and juvenile fish are affected in endemic areas, but in newly infected areas adults are also affected. When the disease is first recognised in an area there is a dramatic population decline (Langdon *et al.*, 1986; 1987; Whittington *et al.*, 1996).

The studies above were conducted prior to the availability of real-time PCR assays, which may have greater diagnostic sensitivity and reveal higher prevalence in subclinically infected populations.

### 2.3.3. Geographical distribution

*Rainbow trout*: infection with EHN<sub>V</sub> is known only from fish farms located in the Murrumbidgee and Shoalhaven river catchments in New South Wales, Australia (Whittington *et al.*, 2010). ~~However, some farms within this region have remained free of the disease (Whittington *et al.*, 1999).~~

~~Redfin-European perch~~: infection with EHN<sub>V</sub> is endemic in south-eastern Australia, but there is a discontinuous distribution (Whittington *et al.*, 2010). The ~~disease-infection~~ occurs in many small and large impoundments in Victoria and since 1986 has spread progressively upstream in the Murrumbidgee river catchment through New South Wales and the Australian Capital Territory. Similar spread has been observed in the Murray River in South Australia (Whittington *et al.*, 1996).

### 2.3.4. Mortality and morbidity

*Rainbow trout*: It appears that under natural conditions EHN<sub>V</sub> is poorly infective but has a high case fatality rate. Infection with EHN<sub>V</sub> may be present on a farm without causing suspicion because the mortality rate may not rise above the usual background rate. Infection with EHN<sub>V</sub> has most often been reported in young fingerlings <125 mm fork length with daily mortality of less than 0.2% and total mortality of up to 4%. However, rainbow trout of all ages may be susceptible, although infection has not yet been seen in broodstock (Whittington *et al.*, 1994; 1999). There is a low direct economic impact because of the low mortality rate. ~~In keeping with the natural pattern of disease, rainbow trout were resistant to bath exposure in  $10^{2.2}$  TCID<sub>50</sub> (50% tissue culture infective dose) ml<sup>-1</sup> (Whittington & Reddacliff, 1995), while only 1 of 7 became infected after bath inoculation for 1 hour in  $10^3$  TCID<sub>50</sub> ml<sup>-1</sup> (Langdon *et al.*, 1988).~~ Differences in susceptibility between European and Australian stocks of rainbow trout may exist (Ariel & Bang Jensen, 2009).

~~Redfin-European perch~~: There is a very high rate of infection and mortality in natural outbreaks that, over time, leads to loss in wild fish populations (Langdon *et al.*, 1986; 1987; Whittington *et al.*, 1996). Experimental bath inoculation with as few as 0.08 TCID<sub>50</sub> ml<sup>-1</sup> was lethal, and doses too low to be detected by virus isolation in BF-2 cells were fatal by intraperitoneal inoculation (Whittington & Reddacliff, 1995). Differences in susceptibility between European and Australian stocks of ~~redfin-European perch~~ may exist (Ariel & Bang Jensen, 2009).

### 2.3.5. Environmental factors

~~Natural~~ *Rainbow trout*: Outbreaks appear to be related to poor husbandry, particularly overcrowding, inadequate water flow and fouling of tanks with feed. ~~Water quality parameters are suboptimal, and intercurrent diseases, including skin diseases caused by protozoa and fungi, and systemic bacterial infection are common.~~ Damage to skin may provide a route of entry for EHN. Outbreaks have been seen on farms at water temperatures ranging from 11 to 20°C (Whittington *et al.*, 1994; 1999). The incubation period after intraperitoneal inoculation was 3–10 days at 19–21°C compared with 14–32 days at 8–10°C (Whittington & Reddacliff, 1995).

~~Redfin-European perch~~: Natural epizootics of infection with EHN affecting juvenile and adult ~~redfin-European perch~~ occur mostly in summer (Langdon *et al.*, 1986; 1987; Whittington *et al.*, 1994). It has been assumed that the disease in juvenile fish is related to the annual appearance of large numbers of non-immune young fish and their subsequent exposure to the virus while schooling in shallow waters; adults are uncommonly involved in these outbreaks. It is possible that environmental temperature is the trigger for outbreaks as juvenile fish feed in warm shallow waters on planktonic fauna, whereas adults feed on benthic invertebrates and larger prey in deeper cooler water (Whittington & Reddacliff, 1995). Experimentally the incubation period ranged from 10 to 28 days at 12–18°C compared with 10–11 days at 19–21°C, and adult perch were refractory to infection at temperatures below 12°C (Whittington & Reddacliff, 1995). European stocks of ~~redfin-European perch~~ also displayed temperature-dependent susceptibility (Ariel & Bang Jensen, 2009).

## 2.4. Control and prevention

### 2.4.1. Vaccination

None available.

### 2.4.2. Chemotherapy

None available.

### 2.4.3. Immunostimulation

Not tested.

### 2.4.4. Resistance breeding

There has been no formal breeding programme for resistant strains of susceptible species. However, experimental trials using a bath exposure have shown that European perch from water bodies in New South Wales, Australia with previous EHN infections showed lower mortality compared with European perch from neighbouring and distant water bodies in Australia that have no previous history of EHN (Becker *et al.*, 2016). ~~Not tested.~~

### 2.4.5. Restocking with resistant species

Not tested.

### 2.4.6. Blocking agents

Not tested.

Annexe 23 (suite)**2.4.7. Disinfection of eggs and larvae**

Not tested.

**2.4.8. General husbandry practices**

Disease control in rainbow trout at the farm level relies on reducing the impact of infection by maintaining low stocking rates and adequate water quality. ~~The mechanism of protection may be through maintenance of healthy integument.~~

Investigations on one rainbow trout farm indicated that ponds with high stocking rates and low water flow, and thus poorer water quality, may result in higher levels of clinical disease compared with ponds on the same farm with lower stocking rates and higher water flow (Whittington *et al.*, 1994). ~~Disease control in rainbow trout at the farm level relies on reducing the impact of infection by maintaining low stocking rates and adequate water quality. The mechanism of protection may be through maintenance of healthy integument (Whittington *et al.*, 1994).~~

**3. Sampling****3.1. Selection of individual specimens**

A simple method for preparation of fish tissues for cell culture and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) has been validated (Whittington & Steiner, 1993).

Bath large fish for 30 seconds in 70% ethanol; bath fingerlings for 5 seconds in 70% ethanol then rinse in sterile water. Dissect fish aseptically in a Class II biosafety cabinet.

*Large fish (>60 mm fork length):* remove 0.1 g liver, kidney, spleen ( $\pm$  other organs in specific situations) and place in sterile 1.5 ml tubes. Tubes suitable for use with pestles for grinding tissues (see below) are available, but standard 1.5 ml tubes may be suitable. In some situations liver, kidney and spleen may be pooled in a single tube (see Section 3.3).

*Medium fish (30–60 mm fork length):* scrape all viscera into the tube.

*Small fish (<30 mm fork length):* remove head and tail, place rest of fish into the tube.

**3.2. Preservation of samples for submission**

For cell culture and ELISA, freeze tubes containing tissues at  $-20^{\circ}\text{C}$  to  $-80^{\circ}\text{C}$  until needed.

For light microscopic examination, fix tissues in 10% neutral buffered formalin.

**3.3. Pooling of samples**

The effect of pooling tissues from multiple fish on the sensitivity of diagnostic tests has not been evaluated. ~~However, tissues for virus isolation are commonly pooled in lots of 5 or 10 individual fish per test.~~

**3.4. Best organs or tissues**

Liver, anterior kidney, spleen.

**3.5. Samples/tissues that are not suitable**

Inappropriate tissues include gonads, gonadal fluids, milt and ova, since there is no evidence of reproductive tract infection.

## **4. Diagnostic methods**

### **4.1. Field diagnostic methods**

#### **4.1.1. Clinical signs**

There are no specific clinical signs. Fish are found dead. There may be clinical evidence of poor husbandry practices, such as overcrowding and suboptimal water quality manifesting as skin, fin and gill lesions (Reddacliff & Whittington, 1996).

#### **4.1.2. Behavioural changes**

Moribund fish may have loss of equilibrium, flared opercula and may be dark in colour (Reddacliff & Whittington, 1996).

### **4.2. Clinical methods**

#### **4.2.1. Gross pathology**

There may be no gross lesions or nonspecific lesions on the skin, fins and gill. A small proportion of fish may have enlargement of kidney, liver or spleen. There may be focal white to yellow lesions in the liver corresponding to areas of necrosis (Reddacliff & Whittington, 1996).

#### **4.2.2. Clinical chemistry**

Not applicable.

#### **4.2.3. Microscopic pathology**

Acute focal, multifocal or locally extensive coagulative or liquefactive necrosis of liver, haematopoietic kidney and spleen are commonly seen in routine haematoxylin and eosin (H&E)-stained sections of formalin-fixed material. A small number of basophilic intracytoplasmic inclusion bodies may be seen, particularly in areas immediately surrounding necrotic areas in the liver and kidney. Necrotic lesions may also be seen in heart, pancreas, gastrointestinal tract, gill and pseudobranch (Reddacliff & Whittington, 1996).

#### **4.2.4. Wet mounts**

Not applicable.

#### **4.2.5. Smears**

Not tested.

#### **4.2.6. Electron microscopy/cytopathology**

Affected tissues (e.g. kidney liver and spleen) contain cells exhibiting necrosis. Cells contain conspicuous cytoplasmic inclusions that are rarefied areas of the cytoplasm in which the viruses are assembled. Within the cytoplasm, aggregates (paracrystalline arrays) of large (175 nm  $\pm$  6 nm) nonenveloped icosahedral viruses are apparent; single viruses are also present. Complete viruses (containing electron-dense cores) bud/egress from the infected cells through the plasma membrane. The nuclei of infected cells are frequently located peripherally and are distorted in shape.

### 4.3. Agent detection and identification methods

#### 4.3.1. Direct detection methods

##### 4.3.1.1. Microscopic methods

*Light microscopy:* routine methods can be used for tissue fixation, such as in 10% buffered neutral formalin, paraffin embedding, preparation of 10 µm sections and staining with H&E to demonstrate tissue necrosis and basophilic intracytoplasmic inclusion bodies. These inclusion bodies are indicative but not confirmatory for infection with EHNV. Formalin-fixed paraffin-embedded sections can also be stained using an immunoperoxidase method (see below) to identify EHNV antigen associated with necrotic lesions.

*Electron microscopy:* Ultrathin routine sectioning methods can be used for preparation of tissues and cell cultures (Eaton *et al.*, 1991) to demonstrate tissue necrosis, presence of viruses and virus inclusion bodies. Tissues and cells fixed with an alternative fixation and embedding regime can be used for antigen detection (Hyatt, 1991).

*Negative contrast electron microscopy:* supernatants from dounce homogenised tissues (10% [w/v]) and cell cultures can be used to detect viruses. Ranaviruses have a definitive appearance. They vary in diameter (150–180 nm) and have a limiting cell-derived (plasma membrane) envelope that surrounds a capsid of skewed symmetry. Underlying the capsid is a *de novo* membrane that itself surrounds a core containing the double-stranded (ds) DNA and minor proteins. These preparations can also be used to confirm ranavirus antigenicity (Eaton *et al.*, 1991).

##### 4.3.1.1.1. Wet mounts

Not applicable.

##### 4.3.1.1.2. Smears

Not applicable.

##### 4.3.1.1.3. Fixed sections

See Section 4.3.1.1 on microscopic methods.

#### 4.3.1.2. Agent isolation and identification

##### 4.3.1.2.1. Cell culture/artificial media

###### *Preparation of fish tissues for virus isolation and ELISA*

A simple method for preparation of fish tissues for cell culture and ELISA has been validated (Whittington & Steiner, 1993) (see sampling Section 3.1).

- i) Freeze tubes containing tissues at –80°C until needed.
- ii) Add 0.5 ml of homogenising medium (minimal essential medium Eagle, with Earle's salts with glutamine) [MEM] with 200 International Units [IU] ml<sup>-1</sup> penicillin, 200 µg ml<sup>-1</sup> streptomycin and 4 µg ml<sup>-1</sup> amphotericin B) to each tube. Grind tissue to a fine mulch with a sterile fitted pestle.
- iii) Add another 0.5 ml of homogenising medium to each tube and mix with a pestle.
- iv) Add three sterile glass beads to each tube (3 mm diameter) and close the lid of the tube.
- v) Vortex the suspension vigorously for 20–30 seconds and place at 4°C for 2 hours.
- vi) Vortex the suspension again as above and centrifuge for 10 minutes at 2500 **g** in a benchtop microcentrifuge.
- vii) Transfer the supernatant, now called clarified tissue homogenate, to a fresh sterile tube. Homogenates may be frozen at –80°C until required for virus isolation and ELISA.

*Cell culture/artificial media*

~~Cell culture is the gold standard test but is costly and time consuming.~~ EHNV grows well in many fish cell lines including BF-2 (bluegill fry ATCC CCL 91), FHM (fathead minnow; ATCC CCL 42), EPC (epithelioma papulosum cyprini [Cinkova *et al.*, 2010]), and CHSE-214 (Chinook salmon embryo cell line; ATCC CRL 1681) at temperatures ranging from 15 to 22°C (Crane *et al.*, 2005). Incubation temperatures of 20°C or 24°C result in higher titres than 15°C; 22°C and BF-2 EPC or CHSE-214 cells are recommended to maximise titres, which might be important for the detection of low numbers of viruses in fish tissues (Ariel *et al.*, 2009). BF-2 cells are preferred by the OIE Reference Laboratory with an incubation temperature of 22°C ~~both before and after inoculation with virus has been recommended for many years.~~ The procedure for BF-2 cells is provided below. A procedure for CHSE-214 cells is provided under immunoperoxidase staining below (Section 4.3.1.2.2). The identity of viruses in cell culture is determined by immunostaining, ELISA, immuno-electron microscopy, polymerase chain reaction (PCR) or other methods.

*Samples:* tissue homogenates.

*Cell culture technical procedure:* cells are cultured (in flasks, tubes or multi-well plates) with growth medium (MEM + 10% fetal calf serum [FCS] with 100 IU ml<sup>-1</sup> penicillin, 100 µg ml<sup>-1</sup> streptomycin and 2 µg ml<sup>-1</sup> amphotericin B). The cells are incubated until almost confluent at 22°C, which can take up to 4 days depending on the seeding rate. Medium is changed to a maintenance medium (MEM with 2% FCS and 100 IU ml<sup>-1</sup> penicillin, 100 µg ml<sup>-1</sup> streptomycin and 2 µg ml<sup>-1</sup> amphotericin B) on the day of inoculation. A 1/10 dilution using homogenising medium is made of single or pooled homogenates. Each culture is inoculated with 100 µl of sample per ml of culture medium. This represents a final 1/100 dilution of a 0.1 mg ml<sup>-1</sup> tissue homogenate. A further 1/10 dilution is made representing a final 1/1000 dilution, and two cultures are inoculated. No adsorption step is used. As an alternative, two to three cultures can be inoculated directly with 10 µl undiluted homogenate per ml of culture medium. Note that a high rate of cell toxicity or contamination often accompanies the use of a large undiluted inoculum. The cultures are incubated at 22°C in an incubator for 6 days. Cultures are read at day 3 and day 6. Cultures are passed at least once to detect samples with low levels of virus. On day 6, the primary cultures (P1) are frozen overnight at -20°C, thawed, gently mixed and then the culture supernatant is inoculated onto fresh cells as before (P2), i.e. 100 µl P1 supernatant per ml culture medium. Remaining P1 supernatants are transferred to sterile 5 ml tubes and placed at 4°C for testing by ELISA or PCR or another means to confirm the cause of cytopathic effect (CPE) as EHNV. P2 is incubated as above, and a third pass is conducted if necessary.

*Interpretation of results*

CPE is well developed and consists of focal lysis surrounded by rounded granular cells. This change extends rapidly to involve the entire monolayer, which detaches and disintegrates.

*4.3.1.2.2. Antibody-based antigen detection methods*

It should be noted that polyclonal antibodies used in all related methods (immunoperoxidase, antigen-capture ELISA and immunoelectron microscopy) cross-react with all known ranaviruses except Santee Cooper ranaviruses (Ahne *et al.*, 1998; Cinkova *et al.*, 2010; Hedrick *et al.*, 1992; Hyatt *et al.*, 2000).

*4.3.1.2.2.1. Detection of EHNV using immunoperoxidase staining of infected cell cultures*

*Principle of the test:* EHNV replicates within cultured cells. The addition of a mild detergent permeabilises the cells allowing an affinity purified rabbit antibody to bind to intracellular viral proteins. EHNV is detected by a biotinylated anti-species antibody and a streptavidin-peroxidase conjugate. The addition of a substrate results in 'brick-red' staining in areas labelled with antibodies.

*Samples:* tissue homogenates.

*Operating characteristics:* when performed as described in this protocol, the staining is conspicuous and specific. However, the test has not been validated with respect to sensitivity or reproducibility.

*Preparation of cells:* the procedure described below is for CHSE-214 cells. Other recommended cell lines can also be used.

Annexe 23 (suite)

- i) CHSE-214, 24-well plates are seeded the day before use with 250,000 cells/well (or 4 million cells in 40 ml of growth medium per plate) in 1.5 ml of growth medium (Earle's MEM with non-essential amino acids [EMEM], 10% FCS, 10 mM N-2-hydroxyethyl-piperazine-N-2-ethanesulfonic acid [HEPES], 2 mM glutamine, 100 IU penicillin and 100 µg streptomycin) and incubated in 5% CO<sub>2</sub> at 22°C overnight. (NOTE: cultures must be nearly confluent and have healthy dividing cells prior to use.)
- ii) Discard the medium, inoculate each well with 150 µl of a 10% suspension of ground tissue (e.g. liver, kidney or spleen), incubate for 1 hour (22°C) then add 1.5 ml of fresh maintenance medium (as for growth medium except 2% FCS) and return to the incubator (22°C).
- iii) Observe cultures for CPE. If no CPE occurs by day 10, pass the cultures on to fresh CHSE cells by collecting the cells and medium and adding 150 µl to the cells of the fresh plate; note that cells are not freeze-thawed. There is no need to discard the existing medium, just return the new plate to the incubator (22°C). Again, observe daily for CPE.
- iv) Fix cells (add 50 µl for 96-well plate cultures with 200 µl culture medium/well or 400 µl (for 24-well plate cultures with 1.6 ml culture medium/well) of a 20% formalin solution to each well), without discarding the culture medium when CPE is first observed. After incubation (22°C) for 1 hour at room temperature (RT), the medium/formalin mixture is discarded and the wells are rinsed twice with PBS-A (phosphate buffered saline, Ca<sup>++</sup> and Mg<sup>++</sup> free) to remove the formalin. More PBS-A is added if the plates are to be stored at 4°C.

*Protocol*

- i) Dilute primary anti-EHNV antibody and normal serum to working strength as described below (fixation protocol for immunocytochemistry) for the relevant agent in 1% skim milk (SM) solution (PBS-A [SM]) to the volume required for the test.
- ii) Remove PBS-A from wells (with fixed cell cultures) and wash wells twice with 0.05% (v/v) PBS/Tween 20 (PBST). Add 50 µl of primary antibody solutions to each well in a 96-well plate well or 200 µl in a 24-well plate well. Incubate on a plate shaker at 100–200 rpm at RT (22–24°C) for 15–30 minutes or without shaking at 37°C for 1 hour.
- iii) Dilute biotinylated anti-species serum (secondary antibody) in 0.1% SM solution as described in the fixation protocol (below) for the relevant agent to the volume required for the test.
- iv) Remove primary antibody solution and wash wells three times with PBST. Add secondary antibody to all wells. Incubate on a plate shaker at 100–200 rpm at RT for 15–30 minutes or without shaking at 37°C for 1 hour.
- v) Dilute streptavidin–peroxidase conjugate in 0.1% SM solution for the relevant agent to the volume required for the test.
- vi) Remove secondary antibody from wells and wash wells three times with PBST. Add conjugate to each well. Incubate on a plate shaker at 100–200 rpm at RT for 15–30 minutes or without shaking at 37°C for 1 hour.
- vii) Prepare stock substrate of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) solution: dissolve one AEC tablet (20 mg) in 2.5 ml of dimethyl formamide.
- viii) Remove conjugate from wells. Wash (three times) with PBST.
- ix) Dilute dissolved AEC stock in 47.5 ml of acetate buffer (4.1 ml anhydrous sodium acetate in 1 litre of deionised water; the pH is adjusted to 5.0 with glacial acetic acid). Just before use, add 25 µl 30% hydrogen peroxide to AEC solution then add to each well. Incubate at RT for 20 minutes.
- x) Remove substrate solution and wash wells twice with deionised water to stop reaction.
- xi) To visualise all cells counterstain with Mayer's haematoxylin (50 µl/well or 200 µl/well) for 1 minute and rinse with deionised water.
- xii) Add 50 µl Scott's tap water and rinse with deionised water and air dry.

Annexe 23 (suite)*Interpretation of the results*

*Positive reaction:* granular-like, focal, brick-red staining of cells indicates presence of virus identified by the diagnostic antibody.

*Negative reaction:* no red staining apparent – all cells should be stained pale blue due to counterstain.

*Background staining:* nongranular, nonfocal, more generalised, pale, pinkish staining may occur throughout the culture. This background staining could be caused by any number of reasons, e.g. nonspecific antibody reaction with nonviral components, inefficient washing, and expiration of other reagents.

*Reagents for immunocytochemistry tests**20% Formaldehyde (PBS-A) saline*

Formalin (36–38% formaldehyde)	54 ml
Distilled water	36 ml
10 × PBS-A	10 ml

*10 × PBS-A*

To make up 1 litre of 10 × PBS-A use:

NaCl	80.0 g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	11.5 g
KCl	2.0 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	2.0 g
Distilled water	1.0 litre

NOTE: some salts are supplied with extra water groups. If using these reagents adjust the masses to ensure the appropriate mass of salt is added, e.g. for Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O add 15 g instead of 11.5 g (156 mw/120 mw × 11.5 g = 14.95 g) to remove the effect of the water molecules.

*4.3.1.2.2.2 Detection of EHNV using antigen-capture ELISA*

Antigen-capture ELISA has been validated to detect EHNV in cell cultures and directly in fish tissue homogenates. The analytical sensitivity is 10<sup>3</sup> to 10<sup>4</sup> TCID<sub>50</sub> ml<sup>-1</sup>. Specificity approaches 100% and sensitivity for direct detection in fish tissues is 60% relative to the gold standard of virus isolation in BF-2 cells (Hyatt *et al.*, 1991; Whittington & Steiner, 1993) and unpublished data). ELISA is useful for both diagnosis and certification. Neutralisation tests cannot be used to identify EHNV because neutralising antibodies are not produced following immunisation of mammals or fish. Mouse monoclonal antibodies produced against EHNV are directed against major capsid protein (MCP) epitopes and are non-neutralising (unpublished data). Rabbit-anti-EHNV antibodies have been developed for use in antigen-capture ELISA, immunoperoxidase staining and immunoelectron microscopy (Hengstberger *et al.*, 1993; Hyatt *et al.*, 1991; Reddacliff & Whittington, 1996). Reagents and protocols are available from the reference laboratory.

*Samples:* tissue homogenate samples prepared using a validated the protocol (see below), and cell cultures.

*Principle of the test:* EHNV particles are captured from the sample by an affinity purified rabbit antibody that is coated to the plate. EHNV is detected by a second antibody and a peroxidase-labelled conjugate using the chromogen ABTS (2,2'-azino-di-[3-ethyl-benzthiazoline]-6-sulphonic acid). The enzyme is inactivated after 20 minutes and the resulting optical density (OD) is compared with standards.

*Operating characteristics:* the protocol is based on published procedures (Hyatt *et al.*, 1991; Steiner *et al.*, 1991; Whittington, 1992; Whittington & Steiner, 1993). When performed as described in this protocol, the operating characteristics of the test are as given in Table 4.1. The precision of the assay is <10% coefficient of variation, measured as variation in the OD of the controls between plates and over time, when the recommended normalisation procedure is followed.

Annexe 23 (suite)**Table 4.1.** EHNV ELISA operating characteristics compared with the ~~gold standard of cell culture virus isolation~~ in BF-2 cells

Sample	Positive-negative cut-off**	Sensitivity %	Specificity %
Tissues of fish*	OD 0.5	60	>99
Tissue culture supernatants with cytopathic effect (BF2 cells)	OD 0.3	>99	>99

\*~~Redfin~~—European perch and rainbow trout only. Higher background OD occurs with golden perch. There are no data for other species.

\*\* these cut-offs are determined by the OIE Reference Laboratory for EHNV and will vary with the batch of control antigen. Values above are for batch 86/8774-4-5-01.

*Test components and preparation of reagents*

- i) Flat bottom microtitre plates are required.
- ii) Affinity purified rabbit anti-EHNV immunoglobulin and sheep anti-EHNV antiserum reagents are supplied in freeze-dried form. Reconstitute using 1 ml of purified water and allow the vial to stand at RT for 2 minutes. Mix the vial very gently. These reagents are stable when stored at  $-20^{\circ}\text{C}$  for at least 4 years. For routine use in ELISA, it is recommended that working stocks of both antibodies be prepared as a 1/10 dilution in Tris saline glycerol merthiolate (TSGM; formula at end of this section). These are stable at  $-20^{\circ}\text{C}$  for at least 5 years and do not solidify at this temperature.
- iii) The peroxidase labelled anti-sheep immunoglobulin conjugate (commercial reagent, KPL #14-23-06; 0.5 mg) is supplied as a freeze-dried powder. This reagent has displayed remarkable consistency in activity between different lots over a period of 15 years. The product should be reconstituted in sterile 50% glycerol water, dispensed in 150  $\mu\text{l}$  aliquots and stored at  $-20^{\circ}\text{C}$  as undiluted stock. A working stock is prepared by adding 900  $\mu\text{l}$  of TSGM to 100  $\mu\text{l}$  of undiluted stock. The working stock is also stored at  $-20^{\circ}\text{C}$  and is stable for at least 1 year. New batches of this conjugate should be titrated against an older batch using standard protocols.
- iv) EHNV control antigen, heat-inactivated, is supplied as freeze-dried powder. Reconstitute in 1 ml sterile water and store in small aliquots at  $-20^{\circ}\text{C}$ . Prepare dilutions using PBSTG (PBS + Tween + gelatin) on the same day the test is performed. Control EHNV antigen dilutions (A, B, D and F) cover the range of the signal response of the assay and enable a normalisation procedure to be undertaken.

*Equipment*

An automatic plate washer is recommended although plates can be washed by hand. The assay is sensitive to plate washing conditions. If the OD of the controls is unexpectedly low, and the conjugate and other reagents are within date, the plate washer should be adjusted so that washing pressure during filling of wells and aspiration of wells is minimised.

An automatic plate reader is recommended although plates can be read by eye.

Precision calibrated pipettes (e.g. Gilson) should be used to prepare dilutions of all reagents and to load reagents into microtitre plate wells.

*Protocol*

- i) Coat a 96-well ELISA plate (100  $\mu\text{l}$ /well) with affinity purified rabbit-anti-EHNV diluted 1/12,800 in borate coating buffer. Incubate overnight at  $4^{\circ}\text{C}$ .
- ii) Wash plate five times with wash buffer (Milli-Q [MQ] purified water plus 0.05% Tween 20). Note that distilled and deionised water can also be used in this and all other steps.
- iii) Prepare a blocking solution: warm the solutions in a microwave oven or water bath to dissolve the gelatin, then cool to RT.
- iv) Block remaining binding sites using blocking solution (100  $\mu\text{l}$ /well) (1% [w/v] gelatin in PBSTG diluent [PBS, 0.05% [v/v] Tween 20, 0.1% [w/v] gelatin]). Incubate at RT for 30 minutes.

Annexe 23 (suite)

- v) Wash plate five times as above.
- vi) Work in a Class II biological safety cabinet. Dilute the control antigen (see below) in PBSTG and add to the lower right-hand corner of the plate. Add tissue homogenate samples or culture supernatant samples and control antigens at 100 µl/well. All samples and controls are added to duplicate wells. Incubate for 90 minutes at RT.

The control antigens are dilutions of a heat killed cell culture supernatant of EHNV 86/8774. The controls are expected to give the following OD, although there will be some variation from laboratory to laboratory and ±10% variation should therefore be allowed:

Control	Dilution in PBS*	OD (405 nm)*
A	1/5	>2.0
B	1/40	1.90
D	1/200	0.68
F	1/3000	0.16

\*These dilutions and OD values are determined by the OIE Reference Laboratory for infection with EHNV and will vary with the batch of control antigen. The values above are for batch 86/8774-4-5-01. The positive-negative cut-off for clarified tissue homogenate samples from ~~redfin~~ European perch and rainbow trout in this ELISA is approximated by the OD value of control D on each plate.

- vii) Wash the plate by hand to avoid contamination of the plate washer. Work in a Class II cabinet. Aspirate wells using a multichannel pipette. Rinse the plate twice.
- viii) Wash the plate five times on the plate washer, as above.
- ix) Add the second antibody sheep-anti-EHNV diluted 1/32,000 in PBSTG (100 µl/well). Incubate for 90 minutes at RT.
- x) Wash the plate five times on the plate washer.
- xi) Add the conjugate diluted 1/1500 in PBSTG (100 µl/well). Incubate for 90 minutes at RT.
- xii) Wash the plate five times on the plate washer.
- xiii) Add ABTS substrate (22 ml ABTS + 10 µl H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (100 µl/well) and place the plate on a plate shaker. Time this step from the moment substrate is added to the first wells of plate 1. Incubate for 20 minutes.
- xiv) Immediately add ABTS stop solution (50 µl/well), shake the plate briefly and read OD at 405 nm. Calculate mean ELISA OD of duplicate wells. Calculate the coefficient of variation of the duplicates: samples with CV >15% should be retested if the mean OD lies near the positive-negative cut-off.

*Normalisation of data and decision limit quality control*

If it is desired to normalise data from plate to plate and over time, or to undertake decision limit quality control, the following procedure can be followed. Run control antigens in ELISA on at least five occasions over a period of 3 weeks (a total of 20 separate ELISA plates). Calculate the mean OD for each control antigen. Then, for each plate subsequently used, calculate a plate correction factor (PCF) as follows:

PCF = (mean OD control A/actual OD + mean OD control B/actual OD + mean OD control D/actual OD + mean OD control F/actual OD)/4. Multiply the actual mean OD of each sample by the PCF for that plate and report these values.

PCF is allowed to vary between 0.8 and 1.2, which approximates to a coefficient of variation of 10%. Values outside this range suggest that a plate needs to be retested. Plots of PCF over time provide a ready means for monitoring the stability of reagents, procedural variations and operator errors. This QC method has been validated for antigen capture ELISA.

Annexe 23 (suite)*Buffers and other reagents**Borate coating buffer*

Boric acid	6.18 g
Disodium tetraborate ( $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ )	9.54 g
NaCl	4.38 g
MQ water to	1 litre
Autoclave	

*10 x phosphate buffered saline*

NaCl	80.00 g
KCl	2.00 g
$\text{Na}_2\text{HPO}_4$	11.50 g
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	2.00 g
MQ water to	900 ml

Adjust pH to 7.2 with HCl or NaOH; make up to 1 litre

Autoclave

For working strength dilute 1/10 and recheck pH.

For storage of powder in jars, make up twice the above quantity of powder; store; to make up add 1.8 litres MQW, pH, make up to 2 litres.

*ABTS**Citrate phosphate buffer*

Citric acid	21.00 g
$\text{Na}_2\text{HPO}_4$	14.00 g

MQ water to 800 ml; adjust pH to 4.2; make up to 1 litre

ABTS 0.55 g

Citrate phosphate buffer to 1 litre

Dispense in 22-ml aliquots and freeze.

Immediately prior to use add 10  $\mu\text{l}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  per 22-ml aliquot.

*ABTS stop solution (0.01%  $\text{NaN}_3$  in 0.1 M citric acid)*

Citric acid	10.5 g
MQW to	500 ml

Add 50 mg sodium azide or 1 ml of 5% solution.

*KPL Conjugate #14-23-06<sup>2</sup>**TSGM cryoprotectant*

10 x Tris/saline, pH 7.4	50 ml
Glycerol	250 ml
Sterile purified water to	500 ml
Autoclave	
Add 10% Merthiolate	1 ml

Store in dark bottle at 4°C.

*10 x Tris/saline (250 mM Tris, 1.5 M NaCl)*

Tris	15.14 g
NaCl	43.83 g
Sterile purified water	500 ml
pH adjust to	7.4

2 Reagent Supplier: Bio-Mediq DPC Australia, P.O. Box 106, Doncaster, Victoria 3108, Australia; Tel.: (+61-3) 9840 2767; Fax: (+61-3) 9840 2767. Visit: [www.kpl.com](http://www.kpl.com) for links to worldwide network distributors. Reference to specific commercial products as examples does not imply their endorsement by the OIE. This applies to all commercial products referred to in this *Aquatic Manual*.

#### 4.3.1.2.2.3. Immunoelectron microscopy

##### *Gold-labelling of sections containing tissues or cell cultures*

*Principle of the test:* cell cultures, tissues and/or tissue homogenates can be used for examination by electron microscopy. Conventional electron microscopy (examination of ultra-thin sections) will generate data on virus structure and morphogenesis. Negative contrast electron microscopy will produce images that can be used to examine the particulate structure of the virus. The use of ranavirus-specific antibodies and conjugated gold with these preparations permits both ultrastructure and antigenicity to be examined (Hyatt, 1991). These collective data enable classification to the genus Ranavirus.

##### *Cell cultures and tissues*

- i) Fix tissues or cell cultures as described in Drury *et al.*, 2002. Briefly, 2.5% (v/v) buffered glutaraldehyde (cacodylate or phosphate) is used to fix cells for 40 minutes. Following primary fixation the cells are rinsed in the same buffer (3 × 20 minutes), post-fixed in 1% (w/v) buffered osmium tetroxide (1 hour), washed (3 × 5 minutes) in double-distilled/reverse osmosis (RO) water, dehydrated through graded alcohol (70–100%) and infiltrated and embedded in an epoxy resin (e.g. Spurr's or epon). For gold labelling of ultra-thin resin sections, attention must be given to fixation and embedding regimes. For example, cells should be fixed in 0.25% (v/v) glutaraldehyde with 2–4% paraformaldehyde. No secondary fixation is used and the cells are infiltrated and embedded in an acrylic resin such as LR White.
- ii) Following fixation and embedding, cut and transfer ultrathin sections onto filmed nickel grids.
- iii) Cut sections from the appropriate blocks.
- iv) Block in 2% (w/v) skim milk powder in PBS-A (10 minutes).
- v) Block free aldehydes with 0.1 M glycine in PBS-A (20 minutes).
- vi) Wash in PBS-A (3 × 1 minutes). This is an optional step used only if there is an excess of free aldehydes (a high background may be indicative of this).
- vii) If protein A-gold is not being used then block in normal species serum – this serum should be homologous to that complexed to gold. Recommended dilution is approximately 1/40 (10 minutes).
- viii) Incubate in primary antibody. If incubation details are unknown then perform initial reactions with 1/100 to 1/2700 dilutions (with three-fold dilutions). Dilute antibodies in 1% (v/v) cold water fish gelatin in PBS-A, (60 minutes, RT).
- ix) Rinse in 1% (v/v) coldwater fish gelatin in PBS-A, (6 × 3 minutes).
- x) Incubate in gold-labelled secondary antibody or protein A-gold or protein G-gold. Suggested dilution 1/40 in a PBS-A containing 1% (w/v) bovine serum albumin (BSA), 0.1% (v/v) Tween 20 and 0.1% (v/v) Triton X, 60 minutes, RT.
- xi) Rinse in PBS-A (6 × 3 minutes, RT).
- xii) Post-fix in 2.5% (v/v) glutaraldehyde in PBS-A (5 minutes, RT).
- xiii) Rinse in water (RO) (3 × 3 minutes, RT).
- xiv) Dry on filter paper (type not critical).
- xv) Stain in uranyl acetate and lead acetate.

##### *Interpretation of results*

Viruses within the cytoplasm of infected cells will be specifically gold-labelled. Viruses will be located singularly, within assembly bodies (inclusion bodies) and within paracrystalline arrays.

##### *Gold-labelling of virus particles (viruses adsorbed to grids)*

- i) Dounce homogenise 10% (w/v) liver, kidney or spleen and clarify (5 minutes, 2500 g).
- ii) Adsorb the supernatant (from homogenate or cell cultures) to grid substrate.
- iii) Use carbon-coated 200 mesh gold grids.

Annexe 23 (suite)

- iv) Fix the sample with 0.1% (v/v) glutaraldehyde and 1% (v/v) Nonidet P40 (NP40) in PBS (2 minutes).
- v) Wash in PBS (3 × 3 minutes).
- vi) Block with 5% (v/v) cold water fish gelatin (Sigma) in PBS (10 minutes) followed with incubation buffer (PBS/0.1% cold water fish gelatin).
- vii) Incubate with antibody (affinity purified rabbit anti-EHNV, Lot No. M708; supplied by the OIE Reference Laboratory; suggested dilution 1/500) for 1 hour, at RT.
- viii) Wash grids (6 × 3 minutes) in incubation buffer.
- ix) Incubate with 10 nm protein A-gold (for dilution, refer to suppliers recommendation) for 1 hour, at RT.
- x) Wash (6 × 3 minutes).
- xi) Fix with 2.5% glutaraldehyde (5 minutes).
- xii) Wash with distilled water (3 × 3 minutes) and stain with 2% phosphotungstic acid (pH 6.8) for 1 minute.

*Interpretation of results*

The inclusion of NP40 will permit antibodies and protein A-gold to penetrate the outer membrane and react with the underlying capsid. Labelling should be specific for the virus. Non-EHNV affinity purified rabbit serum (1/500) should be included as a negative control.

*4.3.1.2.2.4. Immunohistochemistry (immunoperoxidase stain)*

*Samples:* formalin-fixed paraffin-embedded tissue sections.

*Technical procedure*

The following protocol is intended for the qualitative demonstration of EHNV antigens in formalin-fixed paraffin-embedded tissue sections (Reddacliff & Whittington, 1996). It assumes that antigens may have become cross linked and therefore includes a protease digestion step that may be omitted if unfixed samples are examined. A commercial kit (DAKO® LSAB K0679) with peroxidase-labelled streptavidin and a mixture of biotinylated anti-rabbit/anti-mouse/anti-goat immunoglobulins as link antibodies is used for staining. Other commercially supplied reagents are also used. For convenience these are also supplied by DAKO<sup>3</sup>. The primary affinity purified rabbit anti-EHNV antibody (Lot No. M708) is supplied freeze-dried by the OIE Reference Laboratory.

- i) Cut 5 µm sections and mount on SuperFrost® Plus G/Edge slides (Menzel-Glaser, HD Scientific Cat. No. HD 041300 72P3). Mark around the section with a diamond pencil to limit the spread of reagents.
- ii) Deparaffinise the section:
  - Preheat slides in a 60°C incubator for 30 minutes.
  - Place slides in a xylene bath and incubate for 5 minutes. Repeat once. Note that xylene replacements can be used without deleterious effects.
  - Tap off excess liquid and place slides in absolute ethanol for 3 minutes. Repeat once.
  - Tap off excess liquid and place slides in 95% ethanol for 3 minutes. Repeat once.
  - Tap off excess liquid and place slides in distilled or deionised water for 30 seconds.
- iii) Expose antigens using a protease treatment. Flood slide with proteinase K (5–7 µg ml<sup>-1</sup>) and incubate for 20 minutes (ready-to-use solution, DakoCytomation Cat. No. S3020). Rinse slide by immersing three times in water. Place in a PBST bath for 5 minutes (PBS pH 7.2, 0.05% [v/v] Tween 20). Tap off the excess wash solution and carefully wipe around the section.

---

3 Dako Cytomation California Inc., 6392 via Real, Carpinteria, CA 93013, USA, Tel.: (+1-805) 566 6655, Fax: (+1-805) 566 6688; Dako Cytomation Pty Ltd, Unit 4, 13 Lord Street, Botany, NSW 2019, Australia, Fax: (+61-2) 9316 4773; Visit [www.dakocytomation.com](http://www.dakocytomation.com) for links to other countries.

Annexe 23 (suite)

- iv) Perform the immunostaining reaction using the Universal DAKO LSAB<sup>®</sup>+ Kit, Peroxidase (DakoCytomation Cat No. K0679). Ensuring the tissue section is completely covered, add the following reagents to the slide. Avoid drying out.
- v) 3% hydrogen peroxide: cover the section and incubate for 5 minutes. Rinse gently with PBST and place in a fresh wash bath.
- vi) Primary antibody (affinity purified rabbit anti-EHNV 1:/1500 Lot No. M708) and negative control reagent (non-immune rabbit serum at a dilution of 1/1500) on a second slide. Cover the section and incubate for 15 minutes. Rinse slides.
- vii) Link: cover the section and incubate for 15 minutes. Rinse slides.
- viii) Streptavidin peroxidase: cover the section and incubate for 15 minutes. Rinse slides.
- ix) Substrate–chromogen solution: cover the section and incubate for 5 minutes. Rinse slides gently with distilled water.
- x) Counterstain by placing slides in a bath of DAKO<sup>®</sup> Mayer's Haematoxylin for 1 minute (Lillie's Modification, Cat. No. S3309). Rinse gently with distilled water. Immerse 10 times into a water bath. Place in distilled or deionised water for 2 minutes.
- xi) Mount and cover-slip samples with an aqueous-based mounting medium (DAKO<sup>®</sup> Faramount Aqueous Mounting Medium Cat. No. S3025).

*Interpretation of results*

EHNV antigen appears as a brown stain in the areas surrounding degenerate and necrotic areas in parenchymal areas. There should be no staining with negative control rabbit serum on the same section.

*Availability of test and reagents:* antibody reagents and test protocols are available from the OIE Reference Laboratory.

*4.3.1.2.3. Molecular techniques*

Although several conventional PCR or quantitative real-time PCR methods have been described, none has been validated according to OIE guidelines for primary detection of EHNV or other ranaviruses in fish tissues. However, identification of ranavirus at genus and species level is possible using several published PCR strategies. In the first method described here, two PCR assays using MCP primers are used with restriction analysis to detect and rapidly differentiate EHNV from the European (ECV), North American (FV3) and other Australian ranaviruses (BIV) (Marsh *et al.*, 2002). This can be completed in less than 24 hours at relatively low cost. In the second method described here, a single MCP PCR assay is used to generate a 580 bp product, which is then sequenced to identify the type of ranavirus. Alternatively, PCR of the DNA polymerase gene and neurofilament triplet H1-like protein genes can be used (Holopainen *et al.*, 2011) (this method is not described in this chapter).

*Samples:* virus from cell culture or direct analysis of tissue homogenate.

*4.3.1.2.3.1. PCR and restriction endonuclease analysis (REA): technical procedure*

Amplified product from PCR assay MCP-1 digested with PflM I enables differentiation of Australian iridoviruses (EHNV and BIV) from non-Australian iridoviruses (FV3, Americas; and ECV, Europe). Amplified product from PCR assay MCP-2 digested with Hinc II, Acc I and Fnu4H I (individually) enables differentiation of EHNV and BIV (Australia) from each other and from FV3 (Americas) and ECV (Europe).

*Preparation of reagents*

EHNV-purified DNA and BIV-purified DNA PCR control reagents are supplied by the reference laboratory in freeze-dried form. Reconstitute using 0.5 ml of Tris-EDTA (TE) buffer (10 mM Tris/HCl, 1 mM EDTA, pH 8.0) and allow the vial to stand at RT for 2 minutes. Mix the vial very gently. For routine use, as a PCR control, it is recommended that working stocks be prepared as a 1/10 dilution in TE buffer (pH 8.0). Aliquots of 250 µl should be stored at –20°C. Each aliquot is sufficient for at least 50 reactions (1 to 5 µl added to cocktail) and has a minimum shelf life of 6 months from date of diluting.

Annexe 23 (suite)

Primers M151 and M152 (MCP-1, 321 bp), M153 and M154 (MCP-2, 625 bp) are supplied in working strength ( $100 \text{ ng } \mu\text{l}^{-1}$ ) and should be stored at  $-20^{\circ}\text{C}$ . Primers can also be ordered from commercial suppliers. For primer sequences, refer to Table 4.2.

**Table 4.2.** MCP-1 and MCP-2 primer sequences

PCR assay	Primer	Sequence	Product size	Gene location
MCP-1	M151	AAC-CCG-GCT-TTC-GGG-CAG-CA	321 bp	266–586
	M152	CGG-GGC-GGG-GTT-GAT-GAG-AT		
MCP-2	M153	ATG-ACC-GTC-GCC-CTC-ATC-AC	625 bp	842–1466
	M154	CCA-TCG-AGC-CGT-TCA-TGA-TG		

*PCR cocktail*

Amplification reactions in a final volume of  $50 \mu\text{l}$  (including  $5 \mu\text{l}$  DNA sample) contain  $2.5 \mu\text{l}$  ( $250 \text{ ng}$ ) of each working primer,  $200 \mu\text{M}$  of each of the nucleotides dATP, dTTP, dGTP and dCTP,  $5 \mu\text{l}$  of  $10 \times$  PCR buffer ( $66.6 \text{ mM}$  Tris/HCl,  $16.6 \text{ mM}$   $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $2.5 \text{ mM}$   $\text{MgCl}_2$ ,  $1.65 \text{ mg ml}^{-1}$  BSA,  $10 \text{ mM}$  beta-mercaptoethanol) and  $2 \text{ U}$  Taq polymerase. Instructions on preparation of  $10 \times$  PCR buffer are included in Table 4.3.

**Table 4.3.**  $10 \times$  PCR buffer preparation

Ingredients	Amount	Final concentration in $50 \mu\text{l}$ PCR mix
Tris	4.050 g	66.6 mM
Ammonium sulphate	1.100 g	16.6 mM
BSA (albumin bovine fraction V fatty acid free)	0.825 g	$1.65 \text{ mg ml}^{-1}$
Magnesium chloride	1.25 ml	2.5 mM
TE buffer (sterile)	50 ml	

NOTE: alternative commercial buffers may also be used.

Two negative controls are included, one comprising PCR cocktail only and the second containing  $5 \mu\text{l}$  TE buffer.

The MCP-1 and MCP-2 reactions have the following profile: 1 cycle of denaturation at  $94^{\circ}\text{C}$  for 3 minutes, followed by 35 cycles of denaturation at  $94^{\circ}\text{C}$  for 30 seconds, annealing at  $50^{\circ}\text{C}$  for 30 seconds and extension at  $72^{\circ}\text{C}$  for 1 minute; a final extension of  $72^{\circ}\text{C}$  for 5 minutes, and cooling to  $4^{\circ}\text{C}$ .

NOTE: the annealing temperature may be increased to  $60$  or  $62^{\circ}\text{C}$  to reduce nonspecific amplification when the assay is used to test fish tissues.

PCR results are assessed by electrophoresis in 2% agarose gels stained with ethidium bromide. EHNV PCR control DNA ( $1/10$  working stock) should give a result similar in intensity to the 10–3 band in both cases.

*Restriction endonuclease analysis (REA)*

PCR amplicons are subjected to REA with the enzymes described in Table 4.4. All endonucleases should be used according to the manufacturers' instructions. REA reactions are prepared by adding  $1\text{--}4 \mu\text{l}$  of PCR product,  $2 \text{ U}$  of the appropriate restriction endonuclease,  $1.6 \mu\text{l}$  of buffer (supplied with each restriction endonuclease),  $1.6 \mu\text{l}$  of  $100 \mu\text{g ml}^{-1}$  BSA (for PflM I and Hinc II) and made up to a final volume of  $16 \mu\text{l}$  with sterile purified water. Restriction digests are incubated for  $2\text{--}4$  hours at the recommended temperatures and assessed by agarose gel electrophoresis in 3% gels. The predicted band sizes after restriction are given in Table 4.4.

**Table 4.4.** Restriction endonuclease analysis of ranavirus MCP amplicons

PCR Assay	Restriction enzyme	Predicted band sizes after restriction (bp)	Pattern applies to
MCP-1 (321bp)	<i>PfMI</i>	321	EHNV, BIV
		131, 190	FV3, WV
MCP-2 (625bp)	<i>HincII</i>	100, 138, 387	EHNV
		100, 525	BIV, FV3
		100, 240, 285	WV
	<i>AccI</i>	238, 387	EHNV
		625	BIV, ESV, ECV, WV
164, 461		FV3, GV	
<i>Fnu4HI</i>	33, 38, 44, 239, 271	EHNV	
	3, 33, 38, 44, 108, 399	BIV	
	3, 38, 44, 108, 432	FV3, GV	
	3, 9, 38, 44, 108, 151, 272	ESV, ECV	
	3, 44, 71, 108, 399	WV	

Aliquot into 500 µl volumes and store at -20°C. For a working solution, add 3.5 µl of beta-mercaptoethanol per 500 µl 10 x buffer. Any remaining buffer should be discarded after preparing the PCR cocktail.

The sensitivity of PCR in diagnostic applications directly on fish tissues is being evaluated.

Detailed protocols to enable completion of the test, worksheets and purified control EHNV DNA are available from the OIE Reference Laboratory.

#### 4.3.1.2.3.2. Alternative PCR and sequencing for viral identification

In this assay two primers, a reverse primer (5'-AAA-GAC-CCG-TTT-TGC-AGC-AAA-C-3') and a forward primer (5'-CGC-AGT-CAA-GGC-CTT-GAT-GT-3'), are used for amplification of the target MCP sequence (580 base pairs [bp]) of EHNV DNA by PCR. This PCR procedure can be used for the specific detection of ranaviruses from ~~redfin~~ European perch, rainbow trout, sheatfish, catfish, guppy fish (*Poecilia reticulata*), doctor fish (*Labroides dimidiatus*) and a range of amphibian ranaviruses (Hyatt *et al.*, 2000). Nucleic acid (1 µl) is added to Taq polymerase buffer containing 0.1 µM of each primer, 2.5 U Taq polymerase (Promega) and 2.5 mM MgCl<sub>2</sub>. The mixture is incubated in an automatic thermal cycler programmed for 35 cycles at 95°C for 60 seconds, 55°C for 60 seconds, and 72°C for 60 seconds, and finally held at 72°C for 15 minutes. Amplified DNA (580 bp) is analysed by agarose gel electrophoresis, excised and sequenced using a range of standard technologies). Each viral species is identified by its unique DNA sequence available from GenBank. Samples can be submitted to the OIE reference laboratory for specific identification.

#### 4.3.1.2.4. Agent purification

Purification of EHNV has been described (Hyatt *et al.*, 1991; Steiner *et al.*, 1991) and a protocol is available from the reference laboratory.

Annexe 23 (suite)**4.3.2. Serological methods**

Neutralising antibodies have not been detected in fish or mammals exposed to EHNV. Indirect ELISA for detection of antibodies induced following exposure to EHNV has been described for rainbow trout and ~~redfin~~ European perch (Whittington *et al.*, 1994; 1999; Whittington & Reddacliff, 1995). The sensitivity and specificity of these assays in relation to a ~~gold~~ standard test are not known and interpretation of results is currently difficult. Protocols and specific anti-immunoglobulin reagents required to conduct these tests are available from the reference laboratory.

**5. Rating of tests against purpose of use**

The methods currently available for surveillance, detection, and diagnosis of infection with EHNV are listed in Table 5.1. The designations used in the Table indicate: a = the method is the recommended method for reasons of availability, utility, and diagnostic specificity and sensitivity; b = the method is a standard method with good diagnostic sensitivity and specificity; c = the method has application in some situations, but cost, accuracy, or other factors severely limits its application; d = the method is presently not recommended for this purpose; and NA = not applicable. These are somewhat subjective as suitability involves issues of reliability, sensitivity, specificity and utility. Although not all of the tests listed as category a or b have undergone formal standardisation and validation (see Chapter 1.1.2 *Principles and methods of validation of diagnostic assays for infectious diseases*), their routine nature and the fact that they have been used widely without dubious results, makes them acceptable.

*Table 5.1. Methods for targeted surveillance and diagnosis*

Method	Targeted surveillance				Presumptive diagnosis	Confirmatory diagnosis
	Ova/ milt	Fry/ fingerlings	Juveniles	Adults		
Gross signs	n/a	d	d	d	d	d
Histopathology	n/a	d	d	d	b	d
<del>Immunoperoxidase stain</del> <u>Immunohistochemistry</u>	n/a	c	c	c	c	c
Transmission EM	n/a	d	d	d	c	b
Immuno-EM	n/a	d	d	d	c	b
Cell culture	n/a	a	a	a	a	b
Antigen-capture ELISA	n/a	a	a	a	a	a
Antibody-capture ELISA	n/a	d	d	c	c	d
PCR-REA	n/a	d	a	d	e	a
PCR sequence analysis	n/a	d	d	d	c	a

EM = electron microscopy; ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay; PCR = polymerase chain reaction; REA = restriction endonuclease analysis; n/a = not applicable.

**6. Test(s) recommended for targeted surveillance to declare freedom from epizootic haematopoietic necrosis**

The test recommended for targeted surveillance is cell culture, and antigen-capture ELISA. Serology (antibody-capture ELISA) might also play a useful role in surveys to identify infected trout populations.

Statistically valid sampling practices need to be used and the correct organs/samples need to be collected;

Standardised tests of specified sensitivity and specificity should be used. This restricts certification testing to cell culture, the gold standard test, and antigen-capture ELISA.

The chances of detecting EHNV infection in apparently healthy rainbow trout is extremely low, even where disease is active in the same population, because the prevalence of infection is low and there is a high case fatality rate. For practical purposes, EHNV can only be detected in fish that are clinically affected or that have died with the infection. From a random sample of live rainbow trout it would be possible to misclassify a farm as being free of EHNV even during an outbreak of the disease because the prevalence of infection is generally very low. Consequently, the examination of 'routine' mortalities is recommended (Whittington *et al.*, 1999).

During a low-grade outbreak of disease in rainbow trout, the prevalence of EHNV among mortalities may be 60–80% and the contribution of EHNV to 'background' mortality is high enough to enable detection of the virus in the absence of overt disease in the population. For EHNV detection and certification purposes the population of interest is 'the population of mortalities' and sampling rates can be selected to detect at least one EHNV-infected individual at a given level of confidence given a certain prevalence of infection and test sensitivity (Cannon & Ree, 1982; Simon & Schill, 1984). During an outbreak of EHNV the virus was detected in at least 2% of dead fish (Whittington *et al.*, 1999). For this reason, assume a prevalence of 2% for sampling of EHNV for certification purposes. The antigen capture ELISA used to screen tissue homogenates for EHNV has a sensitivity of at least 60% compared with cell culture (Whittington & Steiner, 1993). The sample size required from a very large population of 'routine' mortalities (Whittington *et al.*, 1999) to provide 95% confidence in detecting at least one infected individual using a test of 60% sensitivity is approximately 250. In practice, 'routine' mortalities should be collected daily and stored in plastic bags in groups of 20 at –20°C until a sample of 250 has been gathered. Where possible, young age classes should be selected to simplify dissections and tissue processing. Individual clarified homogenates that are positive in antigen-capture ELISA are then subjected to cell culture to confirm the presence of EHNV. This is an economical approach as it greatly reduces the number of cell cultures required. Alternatively, cell culture could be used and samples from five fish pooled to reduce costs.

Serology might also play a useful role in surveys to identify infected trout populations. Assuming 1% prevalence of seropositive grower fish on an endemically infected farm, a sample of 300 fish would be required to be 95% certain of detecting at least one infected individual (Cannon & Ree, 1982). Further research is required to confirm the validity of this approach.

## 7. Corroborative diagnostic criteria

### 7.1. Definition of suspect case

Finfish, apparently healthy, moribund or dead in which parenchymal tissues contain histological evidence of focal, multifocal or locally extensive liquefactive or coagulative necrosis with or without intracytoplasmic basophilic inclusion bodies.

The presence of EHNV shall be suspected if at least one of the following criteria is met:

- i) Histopathology consistent with EHNV, with or without clinical signs of disease;
- ii) CPE typical of EHNV in cell cultures;
- iii) Positive conventional PCR result;
- iv) Positive antigen capture ELISA.

### 7.2. Definition of confirmed case

The presence of EHNV is considered to be confirmed if, in addition to the criteria in Section 7.1, one or more of the following criteria are met:

- i) EHNV isolation is carried out in cell culture followed by virus identification by either an antibody-based test (immunoperoxidase stain, ELISA, neutralisation test, immunohistochemistry) and/or conventional PCR followed by sequencing of the amplicon;

Annexe 23 (suite)

- ii) EHNV is detected in histological sections by immunoassay using specific anti-EHNV antibodies;
- iii) Detection of EHNV in tissue preparations by conventional PCR followed by sequencing of the amplicon.

~~Finfish, apparently healthy, moribund or dead in which parenchymal tissues contain histological evidence of focal, multifocal or locally extensive liquefactive or coagulative necrosis with or without intracytoplasmic basophilic inclusion bodies and/or in which EHNV is demonstrated by the following means:~~

~~1. Characteristic CPE in cell culture and cell culture is positive for EHNV in immunoperoxidase test or antigen-capture ELISA or PCR,~~

~~or~~

~~2. Tissues positive in antigen-capture ELISA or immunoperoxidase stain or immunoelectron microscopy or PCR~~

~~And for both 1 and 2,~~

~~3. Sequence consistent with EHNV is demonstrated by PCR-REA or PCR-sequencing.~~

## 8. References

AHNE W., BEARZOTTI M., BREMONT M. & ESSBAUER S. (1998). Comparison of European systemic piscine and amphibian iridoviruses with epizootic haematopoietic necrosis virus and frog virus 3. *J. Vet. Med. [B]*, **45**, 373–383.

AHNE W., OGAWA M. & SCHLOTFELDT H.J. (1990). Fish viruses: transmission and pathogenicity of an icosahedral cytoplasmic deoxyribovirus isolated from sheatfish *Silurus glanis*. *J. Vet. Med. [B]*, **37**, 187–190.

AHNE W., SCHLOTFELDT H.J. & THOMSEN I. (1989). Fish viruses: isolation of an icosahedral cytoplasmic deoxyribovirus from sheatfish (*Silurus glanis*). *J. Vet. Med. [B]*, **36**, 333–336.

ARIEL E. & BANG JENSEN B. (2009). Challenge studies of European stocks of redfin perch, *Perca fluviatilis* L., and rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), with epizootic haematopoietic necrosis virus. *J. Fish Dis.*, **32**, 1017–1025.

ARIEL E., NICOLAJSSEN N., CHRISTOPHERSEN M.-B., HOLOPAINEN R., TAPIOVAARA H. & BANG JENSEN B. (2009). Propagation and isolation of ranaviruses in cell culture. *Aquaculture*, **294**, 159–164.

ARIEL E., TAPIOVAARA H. & OLESEN N.J. (1999). Comparison of Pike-perch (*Stizostedion lucioperca*), Cod (*Gadus morhua*) and turbot (*Scophthalmus maximus*) iridovirus isolates with reference to other piscine and amphibian iridovirus isolates. European Association of Fish Pathologists, VIII. International Conference on Diseases of Fish and Shellfish, Rhodes, Greece, 20–24 September.

BANG JENSEN B., ERSBOLL A.K. & ARIEL E. (2009). Susceptibility of pike *Esox lucius* to a panel of ranavirus isolates. *Dis. Aquat. Org.*, **83**, 169–179.

BECKER J.A., TWEEDIE A., GILLIGAN D., ASMUS M. & WHITTINGTON R. J. (2016). Susceptibility of Australian Redfin Perch *Perca fluviatilis* Experimentally Challenged with Epizootic Hematopoietic Necrosis Virus (EHNV). *J. Aquat. Anim. Health*, **28**, 122–130.

BLOCH B. & LARSEN J.L. (1993). An iridovirus-like agent associated with systemic infection in cultured turbot *Scophthalmus maximus* fry in Denmark. *Dis. Aquat. Org.*, **15**, 235–240.

BRYAN L.K., BALDWIN C.A., GRAY M.J. & MILLER D.L. (2009). Efficacy of select disinfectants at inactivating Ranavirus. *Dis. Aquat. Org.*, **84**, 89–94.

CANNON R.M. & ROE R.T. (1982). *Livestock Disease Surveys: A Field Manual for Veterinarians*. Australian Government Publishing Service, Canberra, 35 p.

Annexe 23 (suite)

CHINCHAR G., ESSBAUER S., HE J.G., HYATT A., MIYAZAKI T., SELIGY V. & WILLIAMS T. (2005). Family Iridoviridae. *In: Virus Taxonomy. Classification and Nomenclature of Viruses. Eight Report of the International Committee on the Taxonomy of Viruses*, Fauquet C.M., Mayo M.A., Maniloff J., Desselberger U. & Ball L.A., eds. Academic Press, San Diego, California, USA, 145–161.

CHINCHAR V.G. (2002). Ranaviruses (family Iridoviridae): emerging cold-blooded killers – brief review. *Arch. Virol.*, **147**, 447–470.

CINKOVA K., RESCHOVA S., KULICH P. & VESELY T. (2010). Evaluation of a polyclonal antibody for the detection and identification of ranaviruses from freshwater fish and amphibians. *Dis. Aquat. Org.*, **89**, 191–198.

CRANE M.S.J., YOUNG J. & WILLIAMS L. (2005). Epizootic haematopoietic necrosis virus (EHNV): growth in fish cell lines at different temperatures. *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.*, **25**, 228–231.

DRURY S.E.N., GOUGH R.E. & CALVERT I. (2002). Detection and isolation of an iridovirus from chameleons (*Chamaeleo quadricornis* and *Chamaeleo hoehnelli*) in the United Kingdom. *Vet. Rec.*, **150**, 451–452.

EATON B.T., HYATT A.D. & HENGSTBERGER S. (1991). Epizootic haematopoietic necrosis virus: purification and classification. *J. Fish Dis.*, **14**, 157–169.

FIJAN N., MATASIN Z., PETRINEC Z., VALPOTIC I. & ZWILLENBERG L.O. (1991). Isolation of an iridovirus-like agent from the green frog (*Rana esculenta* L.). *Veterinarski Arhiv*, **61**, 151–158.

GOBBO F., CAPPELLOZZA E., PASTORE M.R. & BOVO G. (2010). Susceptibility of black bullhead *Ameiurus melas* to a panel of ranavirus isolates. *Dis. Aquat. Org.*, **90**, 167–174.

HEDRICK R.P., MCDOWELL T.S., AHNE W., TORHY C. & DE KINKELIN P. (1992). Properties of three iridovirus-like agents associated with systemic infections of fish. *Dis. Aquat. Org.*, **13**, 203–209.

HENGSTBERGER S.G., HYATT A.D., SPEARE R. & COUPAR B.E.H. (1993). Comparison of epizootic haematopoietic necrosis and Bohle iridoviruses, recently isolated Australian iridoviruses. *Dis. Aquat. Org.*, **15**, 93–107.

HOLOPAINEN R., HONKANEN J., JENSEN B.B., ARIEL E. & TAPIOVAARA H. (2011). Quantitation of ranaviruses in cell culture and tissue samples. *J. Virol. Methods*, **171**, 225–233.

HOLOPAINEN R., OHLEMEYER S., SCHÜTZE H., BERGMANN S.M. & TAPIOVAARA H. (2009). Ranavirus phylogeny and differentiation based on major capsid protein, DNA polymerase and neurofilament triplet H1-like protein genes. *Dis. Aquat. Org.*, **85**, 81–91.

HYATT A.D. (1991). Immunogold labelling techniques, *In: Electron Microscopy in Biology: a Practical Approach*, Harris R., ed. IRL Press, Oxford, UK, 59–81.

HYATT A.D., EATON B.T., HENGSTBERGER S. & RUSSEL G. (1991). Epizootic hematopoietic necrosis virus: detection by ELISA, immuno-histochemistry and electron microscopy. *J. Fish Dis.*, **14**, 605–617.

HYATT A.D., GOULD A.R., ZUPANOVIC Z., CUNNINGHAM A.A., HENGSTBERGER S., WHITTINGTON R.J., KATTENBELT J. & COUPAR B.E.H. (2000). Comparative studies of piscine and amphibian iridoviruses. *Arch. Virol.*, **145**, 301–331.

HYATT A.D., WILLIAMSON M., COUPAR B.E.H., MIDDLETON D., HENGSTBERGER S.G., GOULD A.R., SELLECK P., WISE T.G., KATTENBELT J., CUNNINGHAM A.A. & LEE J. (2002). First identification of a ranavirus from green pythons (*Chondropython viridis*). *J. Wildl. Dis.*, **38**, 239–252.

LANGDON J.S. (1989). Experimental transmission and pathogenicity of epizootic haematopoietic necrosis virus (EHNV) in redfin perch, *Perca fluviatilis* L., and 11 other teleosts. *J. Fish Dis.*, **12**, 295–310.

LANGDON J.S. & HUMPHREY J.D. (1987). Epizootic Hematopoietic Necrosis a New Viral Disease in Redfin Perch *Perca fluviatilis* L. in Australia. *J. Fish Dis.*, **10**, 289–298.

LANGDON J.S., HUMPHREY J.D. & WILLIAMS L.M. (1988). Outbreaks of an EHNV-like iridovirus in cultured rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, in Australia. *J. Fish Dis.*, **11**, 93–96.

LANGDON J.S., HUMPHREY J.D., WILLIAMS L.M., HYATT A.D. & WESTBURY H.A. (1986). First virus isolation from Australian fish: an iridovirus-like pathogen from redfin perch, *Perca fluviatilis* L. *J. Fish Dis.*, **9**, 263–268.

Annexe 23 (suite)

- MAO J., THAM T.N., GENTRY G.A., AUBERTIN A. & CHINCHAR V.G. (1996). Cloning, sequence analysis, and expression of the major capsid protein of the iridovirus frog virus 3. *Virology*, **216**, 431–436.
- MAO J.H., HEDRICK R.P. & CHINCHAR V.G. (1997). Molecular characterisation, sequence analysis and taxonomic position of newly isolated fish iridoviruses. *Virology*, **229**, 212–220.
- MARSH I.B., WHITTINGTON R.J., O'ROURKE B., HYATT A.D. & CHISHOLM O. (2002). Rapid differentiation of Australian, European and American ranaviruses based on variation in major capsid protein gene sequence. *Molec. Cell. Probes*, **16**, 137–151.
- POZET F., MORAND M., MOUSSA A., TORHY C. & DE KINKELIN P. (1992). Isolation and preliminary characterization of a pathogenic icosahedral deoxyribovirus from the catfish (*Ictalurus melas*). *Dis. Aquat. Org.*, **14**, 35–42.
- REDDACLIFF L.A. & WHITTINGTON R.J. (1996). Pathology of epizootic haematopoietic necrosis virus (EHNV) infection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) and redfin perch (*Perca fluviatilis* L.). *J. Comp. Pathol.*, **115**, 103–115.
- SIMON R.C. & SCHILL W.B. (1984). Tables of sample size requirements for detection of fish infected by pathogens: three confidence levels for different infection prevalence and various population sizes. *J. Fish Dis.*, **7**, 515–520.
- SPEARE R. & SMITH J.R. (1992). An iridovirus-like agent isolated from the ornate burrowing frog *Limnodynastes ornatus* in northern Australia. *Dis. Aquat. Org.*, **14**, 51–57.
- STEINER K.A., WHITTINGTON R.J., PETERSEN R.K., HORNITZKY C. & GARNETT H. (1991). Purification of epizootic haematopoietic necrosis virus and its detection using ELISA. *J. Virol. Methods*, **33**, 199–210.
- WHITTINGTON R.J. (1992). Evaluation of a simple method for improving the precision of an ELISA detecting antibody in serum. *J. Immunol. Methods*, **148**, 57–64.
- WHITTINGTON R.J., BECKER J.A. & DENNIS M.M. (2010). Iridovirus infections in finfish – critical review with emphasis on ranaviruses. *J. Fish Dis.*, **33**, 95–122.
- WHITTINGTON R.J., KEARNS C., HYATT A.D., HENGSTBERGER S. & RUTZOU T. (1996). Spread of epizootic haematopoietic necrosis virus (EHNV) in redfin perch (*Perca fluviatilis*) in southern Australia. *Aust. Vet. J.*, **73**, 112–114.
- WHITTINGTON R.J., PHILBEY A., REDDAKLIF G.L. & MACGOWN A.R. (1994). Epidemiology of epizootic haematopoietic necrosis virus (EHNV) infection in farmed rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum): findings based on virus isolation, antigen capture ELISA and serology. *J. Fish Dis.*, **17**, 205–218.
- WHITTINGTON R.J. & REDDAKLIF G.L. (1995). Influence of environmental temperature on experimental infection of redfin perch (*Perca fluviatilis*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with epizootic haematopoietic necrosis virus, an Australian iridovirus. *Aust. Vet. J.*, **72**, 421–424.
- WHITTINGTON R.J., REDDAKLIF L.A., MARSH I., KEARNS C., ZUPANOVIC Z. & CALLINAN R.B. (1999). Further observations on the epidemiology and spread of epizootic haematopoietic necrosis virus (EHNV) in farmed rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* in southeastern Australia and a recommended sampling strategy for surveillance. *Dis. Aquat. Org.*, **35**, 125–130.
- WHITTINGTON R. J. & STEINER K. A. (1993). Epizootic haematopoietic necrosis virus (EHNV): improved ELISA for detection in fish tissues and cell cultures and an efficient method for release of antigen from tissues. *J. Virol. Methods*, **43**, 205–220.
- WOLF K., BULLOCK G.L., DUNBAR C.E. & QUIMBY M.C. (1968). Tadpole edema virus: a viscerotropic pathogen for anuran amphibians. *J. Infect. Dis.*, **118**, 253–262.
- ZUPANOVIC Z., MUSSO C., LOPEZ G., LOURIERO C.L., HYATT A.D., HENGSTBERGER S. & ROBINSON A.J. (1998). Isolation and characterisation of iridoviruses from the giant toad *Bufo marinus* in Venezuela. *Dis. Aquat. Org.*, **33**, 1–9.

\*  
\* \*

Annexe 23 (suite)

**NB:** There is an OIE Reference Laboratory for infection with Epizootic haematopoietic necrosis virus (EHNV) (see Table at the end of this *Aquatic Manual* or consult the OIE web site for the most up-to-date list: <http://www.oie.int/en/our-scientific-expertise/reference-laboratories/list-of-laboratories/> ).  
Please contact the OIE Reference Laboratories for any further information on infection with EHNV.  
The OIE Reference Laboratory can supply purified EHNV DNA, heat killed EHNV antigen and polyclonal antibodies against EHNV together with technical methods.  
A fee is charged for the reagents to cover the costs of operating the laboratory.

**NB: FIRST ADOPTED IN 1995 AS EPIZOOTIC HAEMATOPOIETIC NECROSIS; MOST RECENT UPDATES ADOPTED IN 2012.**



## CHAPTER 2.3.3

## INFECTION WITH *GYRODACTYLUS SALARIS*

---

### 1. Scope

Infection with *Gyrodactylus salaris* means infection with the pathogenic agent *Gyrodactylus salaris* (*G. salaris*) of the Genus *Gyrodactylus* and Family Gyrodactylidae, (Platyhelminthes; Monogenea) is a viviparous freshwater parasite that may cause infection in Atlantic salmon (*Salmo salar*).

### 2. Disease information

#### 2.1. Agent factors

##### 2.1.1. Aetiological agent, agent strains

Several strains or clades of *G. salaris* have been identified on the basis of genotyping with the mitochondrial cytochrome oxidase 1 (CO1) marker (Hansen *et al.*, 2003; 2007b; Meiniälä *et al.*, 2002; 2004). Although there does not seem to be any correspondence between strains as identified by CO1 and pathogenicity (Hansen *et al.*, 2007a), all strains recovered from Atlantic salmon that have been studied in laboratory experiments, so far, are highly pathogenic to strains of Atlantic salmon. ~~Recently,~~ Strains non-pathogenic to salmon ~~were have been~~ recovered from non-anadromous Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) in Norway (Olstad *et al.*, 2007a; Robertsen *et al.*, 2007) and from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Denmark (Jørgensen *et al.*, 2007; Lindenstrøm *et al.*, 2003).

##### 2.1.2. Survival outside the host

Survival of detached parasites is temperature ~~dependant~~ dependent, e.g. about 24 hours at 19°C, 54 hours at 13°C, 96 hours at 7°C and 132 hours at 3°C (Olstad *et al.*, 2006). Likewise, survival attached to a dead host is temperature ~~dependant~~ dependent: *G. salaris* can survive on dead Atlantic salmon for 72, 142 and 365 hours at 18, 12 and 3°C, respectively (Olstad *et al.*, 2006).

##### 2.1.3. Stability of the agent (effective inactivation methods)

*Gyrodactylus salaris* is known to survives between all temperatures of between 0°C to and 25°C. Tolerance to temperatures above 25°C is unknown. It is not resistant to freezing. *Gyrodactylus salaris* is sensitive to desiccation ~~not drought resistant and must be surrounded by water for survival~~. *Gyrodactylus salaris* dies after a few days at pH≤5. It is more sensitive to low pH (5.1<pH<6.4) in association with aluminium and zinc than the host Atlantic salmon (Poléo *et al.*, 2004; Soleng *et al.*, 2000) (see also Section 2.4.2).

##### 2.1.4. Life cycle

*Gyrodactylus salaris* is an obligate parasite with a direct life cycle. Parasites give birth to live offspring, and there are no other life stages ~~eggs, resting stages, specialised transmission stages or intermediate hosts~~.

#### 2.2. Host factors

##### 2.2.1. Susceptible host species

Species that fulfil the criteria for listing a species as susceptible to infection with *G. salaris* according to Chapter 1.5. of the Aquatic Animal Health Code (Aquatic Code) include: Arctic char (*Salvelinus alpinus*), Atlantic salmon (*Salmo salar*), brown trout (*Salmo trutta*), grayling (*Thymallus thymallus*), North American brook trout (*Salvelinus fontinalis*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*).

Annexe 24 (suite)

~~*Gyrodactylus salaris* is an ectoparasite mainly on Atlantic salmon (*Salmo salar*), but can survive and reproduce on several salmonids, such as rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), Arctic charr (*Salvelinus alpinus*), North American brook trout (*Salvelinus fontinalis*), grayling (*Thymallus thymallus*), North American lake trout (*Salvelinus namaycush*) and brown trout (*Salmo trutta*) (in declining order of susceptibility).~~

~~Strains of Atlantic salmon have shown variable susceptibility to *G. salaris* (Bakke *et al.*, 2002). The Baltic strains have been considered resistant. However, this has only been shown for salmon from the Russian River Neva, the Swedish River Torneälven and the Finnish landlocked Lake Saima population. Salmon from the Baltic Swedish River Indalsälven are almost as susceptible as the Norwegian salmon and salmon from the Scottish River Conon (Bakke *et al.*, 2004). Salmon from other Baltic rivers have shown intermediate susceptibility.~~

**2.2.2. Species with incomplete evidence for susceptibility**

Species for which there is incomplete evidence for susceptibility according to Chapter 1.5. of the Aquatic Code include: nil.

**2.2.32. Susceptible stages of the host**

All stages of the host are susceptible but mortality has only been observed in fry and parr stages.

**2.2.43. Species or subpopulation predilection (probability of detection)**

Not applicable.

**2.2.54. Target organs and infected tissue**

*Gyrodactylus salaris* usually occurs on the fins of ~~most~~ infected Atlantic salmon, but site preference is dependent on intensity of infection (Jensen & Johnsen, 1992; Mo, 1992). Parasites are also commonly found on the body and less commonly on the gills. On other hosts, the distribution may be different, but in general ~~on some host species~~ the parasite is relatively less abundant on the fins and relatively more common on the body compared with Atlantic salmon.

**2.2.65. Persistent infection with lifelong carriers**

Not applicable.

**2.2.76. Vectors**

Not applicable.

**2.3. Disease pattern****2.3.1. Transmission mechanisms**

*Gyrodactylus salaris* has spread between rivers and farms mainly by the ~~transport/restocking~~ translocation of live fish. ~~Migrating-Fish migrating swimming~~ through brackish water can also spread ~~cause the parasite to be spread~~ between rivers (see also Section 2.3.5). Rivers with susceptible Atlantic salmon located near rivers with infected populations are at great risk of infection if these rivers are located within the same brackish water system. If *G. salaris* is introduced into a farm/~~tank~~ with susceptible Atlantic salmon, there is a high probability that all fish in the farm will become infected, depending on the layout of the farm. ~~Rivers with susceptible Atlantic salmon located near infected rivers are at great risk of infection if these rivers are located within the same brackish water system.~~

**2.3.2. Prevalence**

Prevalence in susceptible strains of Atlantic salmon reaches close to 100% in parr in rivers (Appleby & Mo, 1997; Johnsen & Jensen, 1991); ~~and farms reaches similarly prevalence in farmed Atlantic salmon~~ (in freshwater) rises to close to 100% within a short time after introduction of the parasite. Prevalence in resistant strains in rivers and farms is unknown. Prevalence in other susceptible species is usually much lower and can be below 10% (e.g. in farmed rainbow trout; Buchmann & Bresciani, 1997).

### 2.3.3. Geographical distribution

*Gyrodactylus salaris* is restricted in its distribution to Europe. It has been recovered from farmed Atlantic salmon or farmed rainbow trout in several (mainly northern) European countries. In the wild, the parasite has been found on wild salmonids, mainly Atlantic salmon parr, in rivers in Russia, Sweden and Norway. Infection with *G. salaris* is more common in farmed rainbow trout than previously thought, and is likely to be present in more countries than those currently known. In 2006, infection with *G. salaris* was reported from fish farms in Italy (Paladini *et al.*, 2009) and, in 2007, from fish farms in Poland (Rokicka *et al.*, 2007) and Macedonia (Ziětara *et al.*, 2007). In 2009, *G. salaris* was identified by the OIE Reference Laboratory, from fish farms in Romania. ~~Great Britain~~ The United Kingdom and Ireland have been demonstrated to be free of the parasite.

### 2.3.4. Mortality and morbidity

Mortality in farmed susceptible Atlantic salmon fry and parr can be 100% ~~in susceptible farmed Atlantic salmon~~ if not treated. Mortality in wild Atlantic salmon fry and parr in Norwegian rivers can be as high as 98%, with an average of about 85%. Mortality in other susceptible host species is usually low or not observed.

### 2.3.5. Environmental factors

Although *G. salaris* mainly lives in fresh water, it reproduces normally at salinities up to 5–6 ppt. Survival at higher salinities is temperature dependent. For example at 1.4°C, *G. salaris* may survive for 240 hours, 78 hours and 42 hours at 10 ppt, 15 ppt and 20 ppt salinity, respectively, while at 12°C it may survive for 72 hours, 24 hours and 12 hours at the same three salinities, respectively (Soleng & Bakke, 1997).

## 2.4. Control and prevention

### 2.4.1. Vaccination

Vaccines are not available.

### 2.4.2. Chemotherapy

*Gyrodactylus salaris* is sensitive to changes in the chemical composition of the water. It is sensitive to the most commonly used chemicals for bath treatment of farmed salmon parr and salmon eggs (e.g. high salinity salt water, formaldehyde and compounds containing chlorine and iodine). Furthermore, *G. salaris* is sensitive to acidic solutions (pH 5.0–6.0) of aluminium sulphate ( $[Al_2(SO_4)_3]$ ; ~~AIS~~) (Soleng *et al.*, 1999). As ~~AIS~~ aluminium sulphate is less toxic to fish than to *G. salaris* in moderately acidified waters, this chemical has been used in attempts to eradicate the parasite from river systems in Norway.

### 2.4.3. Immunostimulation

Immunostimulation is not available.

### 2.4.4. Resistance breeding

In laboratory experiments, selected breeding has resulted in increased survival among the offspring (Salte *et al.*, 2010). However, selected breeding has not been applied to wild salmon stocks, mainly because the stock will remain infected and thus the parasite may spread to more rivers.

### 2.4.5. Restocking with resistant species

Restocking with resistant strains of Atlantic salmon (e.g. Baltic Neva strain) in affected rivers is not compatible with existing strain management of Atlantic salmon.

### 2.4.6. Blocking agents

Not applicable.

### 2.4.7. Disinfection of eggs and larvae

Eggs that are transferred from infected farms should be disinfected (iodine-containing compounds have been used).

Annexe 24 (suite)**2.4.8. General husbandry practices**

The general recommended husbandry practices for avoiding the spread of infective agents between units in freshwater fish farms apply to *G. salaris*. Equipment (e.g. fish nets) used in one unit should not be used in another without adequate disinfection.

**3. Sampling****3.1. Selection of individual specimens**

In cases where sampling is performed and infection is not suspected, a random sample with an adequate number of fish should be taken from, for example, a river. In farms, if fish show clinical signs of infection (as described in Section 4.1.1), these fish should be selected.

**3.2. Preservation of samples for submission**

Fish should be killed immediately and should not be allowed to dry out before preservation. Whole fish should be preserved in ~~96–80–~~100% EtOH in bottles large enough to provide excess space and preservative. The concentration of EtOH after preservation should not be below 70%. As a rule of thumb this concentration is obtained if the proportion of fish to EtOH does not exceed 1:9. If the concentration is lower, the mucous and epidermis may disintegrate and *Gyrodactylus* specimens, even if they are preserved, may drop off. Bottles should have an opening wide enough to avoid the possibility of scraping off *Gyrodactylus* specimens when fish are put into the bottle or when taken out for examination. Bottles should be stored in a horizontal position until the tissue is fixed/preserved to prevent the fish curling. This facilitates examination of the fish as they can easily be turned with a pair of forceps under the microscope. When preservation of the fish is complete, the bottles can be stored in a vertical position.

As *G. salaris* is common on fins of Atlantic salmon, fins cut off from the body and stored in EtOH as described above can also be submitted. This is especially suitable for larger fish and under field conditions where, for example, transport is limited.

**3.3. Pooling of samples**

~~Samples from a river or a farm~~ can be pooled, although each fish is subsequently examined and analysed separately. Fins of fish from a farm or a river can be pooled and are also examined and analysed separately, but in this instance each fin cannot be related to a certain fish host.

**3.4. Best organs or tissues**

Fish can be examined as whole specimens either live under anaesthesia (for example, with MS222), freshly killed, or preserved. In addition, fresh or preserved fins can be examined. The same examination method (see Section 4.3.1) is used in all cases. Examination of live, anaesthetised fish is very time-consuming and not recommended.

Instead of examining the whole fish, the fins can be examined (by the method described in Section 4.3.1). When Norwegian salmon parr are infected, almost all fish have at least one *G. salaris* on one of the fins. On some fish, *G. salaris* specimens may occur on the body or head, including the nostrils, the gills and the mouth cavity. The distribution of *G. salaris* on fins and other parts of the fish varies among fish species and seems to vary among salmon strains.

**3.5. Samples/tissues that are not suitable**

Dead fish, stored on ice, are not acceptable for *Gyrodactylus* examination, even if the fish are kept separately in plastic bags, etc. The parasites quickly ~~soon~~ die if not covered in water, and as these parasites do not have an exoskeleton, dead parasites disintegrate quickly. If such dead fish are rinsed in water, *Gyrodactylus* specimens may be found in the sediment. However, if specimens are not found in the sediment, it cannot be concluded that the fish were uninfected. ~~Examination of formaldehyde-fixed fish is not recommended for reasons of operator safety. Formaldehyde-fixed *Gyrodactylus* specimens are also very~~ difficult to identify morphologically and are unsuitable for DNA analysis.

## 4. Diagnostic methods

### 4.1. Field diagnostic methods

#### 4.1.1. Clinical signs

Usually there are no clinical signs in fish with one or up to a few tens of parasite specimens.

In the early disease phase, increased flashing (fish scratch their skin on the substrate) is typical. Later, fish may become greyish because of increased mucous production and the fins may be eroded. Diseased fish are lethargic and are usually found in slower-moving water.

#### 4.1.2. Behavioural changes

Flashing is common among moderate to heavily infected farmed fish as they scratch their skin on the bottom or wall of a tank or pond. Heavily infected fish may have reduced activity and stay in low current areas.

### 4.2. Clinical methods

#### 4.2.1. Gross pathology

Heavily infected fish may become greyish as a result of increased mucification, and at a later stage the dorsal and pectoral fins may become whitish as a result of increased thickness (mainly hypertrophy) of the epidermis.

Heavily infected fish may have eroded fins, especially dorsal, tail and pectoral fins, because of parasite feeding.

Secondary fungal infections (*Saprolegnia* spp.) are commonly observed in fish with infection with *G. salaris*.

#### 4.2.2. Clinical chemistry

Not applicable.

#### 4.2.3. Microscopic pathology

Not applicable.

#### 4.2.4. Wet mounts

Scrapings (wet mounts) from skin or fins can be used to detect *Gyrodactylus* specimens on infected fish. In these cases, with high intensity infestation, hundreds or thousands of *Gyrodactylus* specimens are present all over the body and fins. Preparations of wet mounts are usually not suitable for identification of *Gyrodactylus* to the species level and other preparations for morphological or DNA analysis must be made (see below). If the number of *Gyrodactylus* specimens is low, the chances of detecting the parasites by scrapings are limited.

#### 4.2.5. Smears

Not applicable.

#### 4.2.6. Fixed sections

Not applicable.

#### 4.2.7. Electron microscopy/cytopathology

Not applicable.

Annexe 24 (suite)**4.3. Agent detection and identification methods****4.3.1. Direct detection methods**

Detection of *Gyrodactylus* and identification of *G. salaris* is a two-step process. Firstly, parasite specimens are observed using optical equipment and secondly, parasites are identified, usually on an individual basis using other equipment and methods.

Optical equipment must be used to detect *Gyrodactylus*. In the case of a suspected outbreak of infection with *G. salaris* where only light microscopy is available, wet mounts can be used to detect *Gyrodactylus* specimens. However, it is strongly advised not to use this method in a surveillance programme as the presumed specificity and sensitivity is ~~very~~ low (value not known) and, therefore, the number of fish examined ~~is~~ needs to be ~~unreasonably~~ high.

Fish can be examined as live whole specimens (under anaesthesia), freshly killed or preserved/~~fixed~~. The same examination method (see below) is used in all cases. Examination of live, anaesthetised fish is very time-consuming and not recommended. ~~Examination of formaldehyde fixed fish is not recommended for reasons of operator safety.~~ *Gyrodactylus* specimens fixed in formaldehyde are also very difficult to identify and are not suitable for DNA analysis. Instead of examining the whole fish, the fins can be examined (by the method described below). When part of ~~very~~ susceptible Atlantic salmon strains ~~part~~ are infected ~~infested~~, almost all fish have at least one *G. salaris* on one of the fins. On some fish, *G. salaris* specimens may occur on the body or head, including the nares ~~nostrils~~, the gills and the mouth cavity. The distribution of *G. salaris* on fins and other parts of the fish varies among fish species and the distribution also seems to vary among salmon strains.

Live anaesthetised fish, freshly cut fins or EtOH-preserved fish or fins should be examined under a binocular dissecting microscope with good illumination. The fish should be placed in a box and completely covered in fresh water. Preserved fish can also be examined in EtOH. Living parasites are more easily detected by their movements, thus disturbing light refraction on the skin of the fish should be avoided. Live *Gyrodactylus* are colourless while EtOH-preserved *Gyrodactylus* specimens are usually only slightly opaque. If the dissecting microscope is illuminated from above, the bottom of the microscope stage should be black. This will increase the contrast and the parasites will be detected more easily. The whole surface of the fish, including gills and mouth cavity, must be examined. It is best to use two forceps for this process. The fins of relatively small fish, usually less than 10 cm, can also be studied using illumination through the bottom of the microscope stage. This way, *Gyrodactylus* specimens on the fins can usually be easily observed.

~~If examination is carried out in EtOH, the use of gloves should be considered. For operator protection purposes, the dissecting microscope could be placed on a suction bench with a downwards outlet to avoid inhalation of evaporated preservative.~~

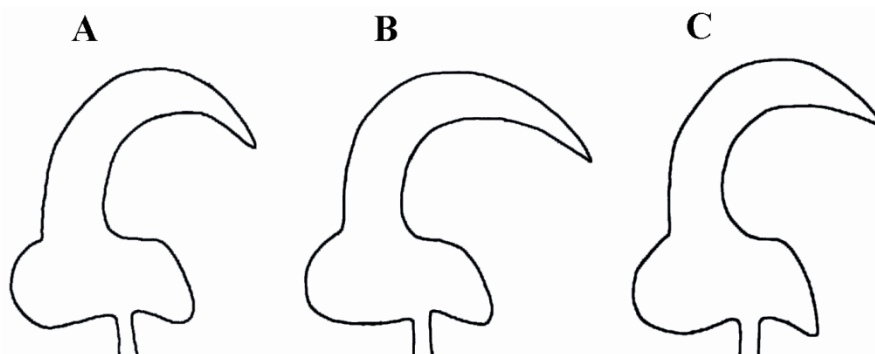
**4.3.1.1. Microscopic methods**

Identification of *Gyrodactylus* species is based on morphology and morphometry of marginal hooks anchors (hamuli) and bars in the opisthaptor (the attachment organ). Good preparation of specimens is a prerequisite for species identification.

Digestion of the soft tissue, leaving the hard parts only, is recommended when high-resolution morphometrics is required for reliable morphometric diagnosis. The soft tissue can be digested in a solution (approx. 1 µl) of 75 mM Tris, 10 mM EDTA (ethylene diamine tetra-acetic acid), 5% SDS (sodium dodecyl sulphate) and 100 mg ml<sup>-1</sup> proteinase K, pH 8.0. After adding the digestion solution, the reaction should be inspected in the microscope until completion and then ended by adding a stop solution (1:1 glycerol and 10% neutral buffered formalin). The procedure for digestion is described in detail in (Harris *et al.*, 1999). Identification of *G. salaris* should be in accordance with references: Cunningham *et al.*, 2001; Malmberg *et al.*, 1957;1970; McHugh *et al.*, 2000; Olstad *et al.*, 2007b; Shinn *et al.*, 2004.

The size of the opisthaptor hard parts in *Gyrodactylus* varies extensively with, for example, temperature, whereas shape is more stable (Mo, 1991a; 1991b; 1991c). The capability of linear measurements to capture morphology might therefore not always be sufficient for reliable diagnosis (Olstad *et al.*, 2007b).

*Gyrodactylus salaris* is morphologically similar to *G. teuchis* from brown trout, Atlantic salmon, and rainbow trout, and to *G. thymalli* from grayling (Figure 1). The species can be differentiated by trained morphologists on the basis of the shape of the marginal hook sickle. *Gyrodactylus teuchis* has a longer and more constantly curved sickle blade, while *G. thymalli* has a small angle on the shaft of the sickle (Cunningham *et al.*, 2001; McHugh *et al.*, 2000; Shinn *et al.*, 2004).



**Figure 1.** Marginal hooks of (A) *Gyrodactylus salaris*, (B) *G. teuchis* and (C) *G. thymalli*. Drawings are modified after Cunningham *et al.*, 2001.

#### 4.3.1.1.1. Wet mounts

Not applicable.

#### 4.3.1.1.2. Smears

Not applicable.

#### 4.3.1.1.3. Fixed sections

Not applicable.

### 4.3.1.2. Agent isolation and identification

#### 4.3.1.2.1. Cell culture/artificial media

Not applicable.

#### 4.3.1.2.2. Antibody-based antigen detection methods

Not applicable.

#### 4.3.1.2.3. Molecular techniques

##### Preparation of samples

Template DNA should be prepared from live/fresh or EtOH-preserved specimens using a suitable DNA preparation protocol. A DNA extraction kit may be used in accordance with the manufacturer's recommendations.

##### 4.3.1.2.3.1. Analysis of the ribosomal RNA gene internal transcribed spacer region

#### i) Polymerase chain reaction (PCR) amplification of the internal transcribed spacer (ITS)

For amplification of a 1300 base pair product of the ITS-region, primers, such as 5'-TTT-CCG-TAG-GTG-AAC-CT-3' and 5'-TCC-TCC-GCT-TAG-TGA-TA-3', may be used. The cycling conditions for PCR are as follows, initial denaturation at 95°C for 5 minutes; 30 cycles of 94°C for 1 minute, 50°C for 1 minute, 72°C for 2 minutes; final extension at 72°C for 7 minutes (Cunningham, 1997). If partially degraded material is analysed, the ITS1 and ITS2 spacers can be amplified in two separate reactions using primer sets and PCR conditions described in Matejusova *et al.* (2001).

Annexe 24 (suite)

## ii) ITS sequencing and sequence analysis

Amplified ITS fragments prepared as in Section 4.3.1.2.3.1.i above should be sequenced and the sequences subjected to a BLAST search in GenBank/EMBL to establish identity with known sequences. In addition to the PCR primers, at least two internal primers should be used such as; 5'-ATT-TGC-GTT-CGA-GAG-ACC-G and 5'-TGG-TGG-ATC-ACT-CGG-CTC-A (Ziętara & Lumme, 2003). Several sequences of other species infecting salmonids, e.g. *G. derjavini*, *G. derjavinooides*, *G. truttae*, *G. teuchis* and *G. thymalli* are available in GenBank/EMBL. *Gyrodactylus salaris* and *G. thymalli* cannot be distinguished by this method, but sequences of ITS distinguishes *G. salaris* and *G. thymalli* from all other known species.

~~Note: Several sequences of *G. salaris* and *G. thymalli* are available in GenBank/EMBL, all differing by only a few point mutations, but with no specific mutations that distinguish *G. salaris* from *G. thymalli*.~~

## 4.3.1.2.3.2. Analysis of the mitochondrial cytochrome oxidase I gene

## i) PCR amplification of the mitochondrial cytochrome oxidase 1 (CO1) gene

For amplification of the CO1-gene, the primers 5'-TAA-TCG-GCG-GGT-TCG-GTA-A-3' and 5'-GAA-CCA-TGT-ATC-GTG-TAG-CA-3' (Meinilä *et al.*, 2002) may be used. The cycling conditions for PCR are as follows, initial denaturation at 95°C for 5 minutes; 35 cycles of 95°C for 1 minute, 50°C for 1 minute, 72°C for 2 minutes; final extension at 72°C for 7 minutes. Additional primer sets for amplification of CO1 can be found in references: 4 Meinilä *et al.*, 2002; 2004.

## ii) CO1 sequencing and sequence analysis

Amplified CO1 fragments prepared as described above should be sequenced and compared with other sequences using a BLAST search in GenBank/EMBL. In addition to the PCR primers, at least two internal primers can be used, such as 5'-CCA-AAG-AAC-CAA-AAT-AAG-TGT-TG-3'), and 5'-TGT-CYC-TAC-CAG-TGC-TAG-CCG-CTG-G-3' (Hansen *et al.*, 2003).

If the obtained sequence does not have a 100% match in GenBank/EMBL, a phylogenetic analysis should be performed to establish the relationship to other available sequences. Different clades of *G. salaris* and *G. thymalli* can be distinguished with this method.

NOTE: CO1 sequences cannot unambiguously differentiate between *G. salaris* and *G. thymalli* but can be used to assign specimens to a clade. Clades of *G. salaris* and *G. thymalli* generally correspond well to host preferences and/or the geographical distribution of the parasites, with a few exceptions. ~~CO1 cannot be applied as a pathogenicity marker.~~

Note that some researchers have chosen to submit all their sequences from both Atlantic salmon and grayling as *G. salaris*, causing confusion when comparing sequences (both ITS and CO1) with those in GenBank/EMBL in a BLAST search. Host identity of sequences in GenBank/EMBL should thus always be checked.

## 4.3.1.2.4. Agent purification

Not applicable.

## 4.3.2. Serological methods

Not applicable.

**5. Rating of tests against purpose of use**

Not applicable.

**6. Test(s) recommended for targeted surveillance to declare freedom from infection with *G. salaris***

Diagnostic/detection methods to declare freedom are the same as those mentioned in for Section 4.3.

## 7. Corroborative diagnostic criteria

### 7.1. Definition of suspect case

Observation of *Gyrodactylus* specimen(s) on Atlantic salmon or rainbow trout (or other susceptible hosts) either in skin scrapings examined in a light microscope or on fins or skin examined under a stereomicroscope.

### 7.2. Definition of confirmed case

~~A molecular identification of *Gyrodactylus* specimen(s) to *G. salaris* (or *G. thymalli*) by sequencing of ITS followed by sequencing and phylogenetic analysis of CO1 to assign the sequence to the nearest known relative is preferred. Trained morphologists can perform morphological identification of *Gyrodactylus* specimen(s) to *G. salaris* based on structures of the attachment organ. However, a morphological diagnosis should be confirmed by molecular tools. A combination of both morphological and molecular methods as described in this chapter is recommended.~~

Infection with *G. salaris* shall be confirmed if the following criteria are met:

i) Morphology consistent with *G. salaris*:

ii) Molecular identification of *Gyrodactylus* specimen(s) to *G. salaris* (or *G. thymalli*) by sequencing of ITS followed by sequencing and phylogenetic analysis of CO1 to assign the sequence to the nearest known relative is preferred.

## 8. References

APPLEBY C. & MO T.A. (1997). Population Dynamics of *Gyrodactylus salaris* (Monogenea) Infecting Atlantic Salmon, *Salmo salar*, Parr in the River Batnfjordselva, Norway. *J. Parasitol.*, **83**, 23–30. <https://doi.org/10.2307/3284312>.

BAKKE T.A., HARRIS P.D. & CABLE J. (2002). Host specificity dynamics: observations on gyrodactylid monogeneans. *Int. J. Parasitol.*, **32**, 281–308.

BAKKE T.A., HARRIS P.D., HANSEN H., CABLE J. & HANSEN L. P. (2004). Susceptibility of Baltic and East Atlantic salmon *Salmo salar* stocks to *Gyrodactylus salaris* (Monogenea). *Dis. Aquat. Org.*, **58**, 171–177.

BUCHMANN K. & BRESCIANI J. (1997). Parasitic infections in pond-reared rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* in Denmark. *Dis. Aquat. Org.*, **28**, 125–138. <https://doi.org/10.3354/dao028125>

CUNNINGHAM C.O. (1997). Species variation within the internal transcribed spacer (ITS) region of *Gyrodactylus* (Monogenea: Gyrodactylidae) ribosomal RNA genes. *J. Parasitol.*, **83**, 215–219.

CUNNINGHAM C.O., MO T.A., COLLINS C.M., BUCHMANN K., THIERY R., BLANC G. & LAUTRAITE A. (2001). Redescription of *Gyrodactylus teuchis* Lutraite, Blanc, Thiery, Daniel & Vigneulle, 1999 (Monogenea: Gyrodactylidae), a species identified by ribosomal RNA sequence. *Syst. Parasitol.*, **48**, 141–150.

HANSEN H., BACHMANN L. & BAKKE T.A. (2003). Mitochondrial DNA variation of *Gyrodactylus* spp. (Monogenea, Gyrodactylidae) populations infecting Atlantic salmon, grayling, and rainbow trout in Norway and Sweden. *Int. J. Parasitol.*, **33**, 1471–1478.

HANSEN H., BAKKE T.A. & BACHMANN L. (2007a). DNA taxonomy and barcoding of monogenean parasites: lessons from *Gyrodactylus*. *Trends Parasitol.*, **23** (8), 363–367.

HANSEN H., BAKKE T.A. & BACHMANN L. (2007b). Mitochondrial haplotype diversity of *Gyrodactylus thymalli* (Platyhelminthes; Monogenea): extended geographic sampling in United Kingdom, Poland, and Norway reveals further lineages. *Parasitol. Res.*, **100**, 1389–1394.

HARRIS P.D., CABLE J., TINSLEY R.C. & LAZARUS C.M. (1999). Combined ribosomal DNA and morphological analysis of individual gyrodactylid monogeneans. *J. Parasitol.*, **85**, 188–191.

Annexe 24 (suite)

JENSEN A.J. & JOHNSEN B.O. (1992). Site Specificity of *Gyrodactylus salaris* Malmberg, 1957 (Monogenea) on Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.) in the River Lakselva, northern Norway. *Can. J. Zool.*, **41**, 264–267.

JOHNSEN B.O. & JENSEN A.J. (1991). The *Gyrodactylus* story in Norway. *Aquaculture*, **98**, 289–302. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(91\)90393-L](https://doi.org/10.1016/0044-8486(91)90393-L)

JØRGENSEN T.R., LARSEN T.B., JØRGENSEN L.G., BRESCIANI J., KANIA P. & BUCHMANN K. (2007). Characterisation of a low pathogenic strain of *Gyrodactylus salaris* from rainbow trout. *Dis. Aquat. Org.*, **73**, 235–244.

LINDENSTRØM T., COLLINS C.M., BRESCIANI J., CUNNINGHAM C.O. & BUCHMANN K. (2003). Characterization of a *Gyrodactylus salaris* variant: infection biology, morphology and molecular genetics. *Parasitology*, **127**, 165–177.

MALMBERG G. (1957). Om förekomsten av *Gyrodactylus* på svenska fiskar. *Skr. söd. Sver. Fisk För.*, (Årsskr.) 1956, 19–76. (In Swedish, species descriptions and summary in English).

MALMBERG G. (1970). The excretory systems and the marginal hooks as a basis for the systematics of *Gyrodactylus* (Trematoda, Monogenea). *Ark. Zool. [Ser. 2]*, **23**, 1–235.

MATEJUSOVÁ I., GELNAR M., McBEATH A.J.A., COLLINS C.M. & CUNNINGHAM C.O. (2001). Molecular markers for gyrodactylids (Gyrodactylidae: Monogenea) from five fish families (Teleostei). *Int. J. Parasitol.*, **31**, 738–745.

MCHUGH E.S., SHINN A.P. & KAY J.W. (2000). Discrimination of the notifiable pathogen *Gyrodactylus salaris* from *G. thymalli* (Monogenea) using statistical classifiers applied to morphometric data. *Parasitology*, **121**, 315–323.

MEINILÄ M., KUUSELA J., ZIĘTARA M. & LUMME J. (2002) Primers for amplifying approximately 820 bp of highly polymorphic mitochondrial COI gene of *Gyrodactylus salaris*. *Hereditas*, **137**, 72–74.

MEINILÄ M., KUUSELA J., ZIĘTARA M.S. & LUMME J. (2004). Initial steps of speciation by geographic isolation and host switch in salmonid pathogen *Gyrodactylus salaris* (Monogenea: Gyrodactylidae). *Int. J. Parasitol.*, **34**, 515–526.

Mo T.A. (1991a). Seasonal variations of opisthaptor hard parts of *Gyrodactylus salaris* Malmberg, 1957 (Monogenea: Gyrodactylidae) on parr of Atlantic salmon *Salmo salar* L. in the River Batnfjordselva, Norway. *Syst. Parasitol.*, **19**, 231–240.

Mo T.A. (1991b). Variations of opisthaptor hard parts of *Gyrodactylus salaris* Malmberg, 1957 (Monogenea: Gyrodactylidae) on rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792) in a fish farm, with comments on the spreading of the parasite in south-eastern Norway. *Syst. Parasitol.*, **20**, 1–9.

Mo T.A. (1991c). Variations of opisthaptor hard parts of *Gyrodactylus salaris* Malmberg, 1957 (Monogenea: Gyrodactylidae) on parr of Atlantic salmon *Salmo salar* L. in laboratory experiments. *Syst. Parasitol.*, **20**, 11–19.

Mo T.A. (1992). Seasonal variations in the prevalence and infestation intensity of *Gyrodactylus salaris* Malmberg, 1957 (Monogenea: Gyrodactylidae) on Atlantic salmon parr, *Salmo salar* L., in the River Batnfjordselva, Norway. *J. Fish Biol.*, **41**, 697–707.

OLSTAD K., CABLE J., ROBERTSEN G. & BAKKE T. A. (2006). Unpredicted transmission strategy of *Gyrodactylus salaris* (Monogenea: Gyrodactylidae): survival and infectivity of parasites on dead hosts. *Parasitology*, **133**, 33–41.

OLSTAD K., ROBERTSEN G., BACHMANN L. & BAKKE T.A. (2007A). Variation in host preference within *Gyrodactylus salaris* (Monogenea): an experimental approach. *Parasitology*, **134**, 589–597.

OLSTAD K., SHINN A.P., BACHMANN L. & BAKKE T.A. (2007B). Host-based identification is not supported by morphometrics in natural populations of *Gyrodactylus salaris* and *G. thymalli* (Platyhelminthes, Monogenea). *Parasitology*, **134**, 2041–2052.

PALADINI G., GUSTINELLI A., FIORAVANTI M.L., HANSEN H. & SHINN A.P. (2009). The first report of *Gyrodactylus salaris* Malmberg 1957 (Platyhelminthes, Monogenea) on Italian cultured stocks of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). *Vet. Parasitol.*, **165** (3–4), 290–297.

POLÉO A.B.S., SCHJOLDEN J., HANSEN H., BAKKE T.A., MO T.A., ROSSELAND B.O. & LYDERSEN E. (2004). The effect of various metals on *Gyrodactylus salaris* (Platyhelminthes, Monogenea) infections in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Parasitology*, **128**, 169–177.

Annexe 24 (suite)

ROBERTSEN G., HANSEN H., BACHMANN L. & BAKKE T. A. (2007). Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) is a suitable host for *Gyrodactylus salaris* (Monogenea, Gyrodactylidae) in Norway. *Parasitology*, **134**, 257–267.

ROKICKA M., LUMME J. & ZIĘTARA M. (2007). Identification of *Gyrodactylus* ectoparasites in Polish salmonid farms by PCR-RFLP of the nuclear ITS segment of ribosomal DNA (Monogenea, Gyrodactylidae). *Acta Parasitologica*, **52**, 185–195.

SALTE R., BENTSEN H.B., MOEN T., TRIPATHY S., BAKKE T.A., ØDEGÅRD J., OMHOLT S. HANSEN L.P. (2010). Prospects for a genetic management strategy to control *Gyrodactylus salaris* infection in wild Atlantic salmon (*Salmo salar*) stocks. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **67**, 121–129.

SHINN A.P., HANSEN H., OLSTAD K., BACHMANN L. & BAKKE T.A. (2004). The use of morphometric characters to discriminate specimens of laboratory-reared and wild populations of *Gyrodactylus salaris* and *G. thymalli* (Monogenea). *Folia Parasitol.*, **51**, 239–252.

SOLENG A. & BAKKE T.A. (1997). Salinity tolerance of *Gyrodactylus salaris* (Platyhelminthes, Monogenea): laboratory studies. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **55**, 1837–1845.

SOLENG A., POLEO A.B.S., ALSTAD N.E.W. & BAKKE T. A. (1999). Aqueous aluminium eliminates *Gyrodactylus salaris* (Platyhelminthes, Monogenea) infections in Atlantic salmon. *Parasitology*, **119**, 19–25.

ZIĘTARA M.S. & LUMME J. (2003). The crossroads of molecular, typological and biological species concepts: two new species of *Gyrodactylus* Nordmann, 1832 (Monogenea: Gyrodactylidae). *Syst. Parasitol.*, **55**, 39–52.

ZIĘTARA M.S., ROKICKA, M., STOJANOVSKI S., SKORKOWSKI E.F. & LUMME J. (2007). Alien mitochondrial DNA in variant clones of *Gyrodactylus salaris* indicates a complex hybrid history in salmonid farms. 7th International Symposium on Fish Parasites, Viterbo, Italy. *Parassitologia*, **49**, 119.

\*  
\* \*

**NB:** There is an OIE Reference Laboratory for infection with *Gyrodactylus salaris* (see Table at the end of this *Aquatic Manual* or consult the OIE web site for the most up-to-date list: <http://www.oie.int/en/our-scientific-expertise/reference-laboratories/list-of-laboratories/> ).

Please contact the OIE Reference Laboratories for any further information on infection with *G. salaris*.

**NB: FIRST ADOPTED IN 1997 AS GYRODACTYLOSIS OF ATLANTIC SALMON (GYRODACTYLUS SALARIS); MOST RECENT UPDATES ADOPTED IN 2012.**



## CHAPTER 2.3.5.

## INFECTION WITH HPR-DELETED OR HPR0 INFECTIOUS SALMON ANAEMIA VIRUS

---

### 1. Scope

For the purpose of this chapter, Infection with infectious salmon anaemia virus (ISAV) means infection with the pathogenic agent highly polymorphic region (HPR)-deleted ISAV or HPR0 ISAV (with a non-deleted HPR) of the Genus *Isavirus* of the and Family Orthomyxoviridae.

Infection with HPR-deleted ISAV may cause ~~infectious salmon anaemia (ISA)~~ infection with ISAV in Atlantic salmon (*Salmo salar*), which is a generalised and lethal condition characterised by severe anaemia, and variable haemorrhages and necrosis in several organs. The disease course is prolonged with low daily mortality (0.05–0.1%) typically only in a few cages. Cumulative mortality may become very high for a period lasting several months if nothing is done to limit disease dissemination (Rimstad *et al.*, 2011).

Detection of HPR0 ISAV has never been associated with clinical signs of infection with ISAV ~~ISA~~ in Atlantic salmon (Christiansen *et al.*, 2011). This virus genotype replicates transiently and has mainly been localised to the gills. A link between non-pathogenic HPR0 ISAV and pathogenic HPR-deleted ISAV, with some outbreaks potentially occurring as a result of the emergence of HPR-deleted ISAV from HPR0 ISAV has been suggested (Christiansen *et al.*, 2017; Cunningham *et al.*, 2002; Mjaaland, *et al.*, 2002).

### 2. Disease information

#### 2.1. Agent factors

##### 2.1.1. Aetiological agent, agent strains

ISAV is an enveloped virus, 100–130 nm in diameter, with a genome consisting of eight single-stranded RNA segments with negative polarity (Dannevig *et al.*, 1995). The virus has haemagglutinating, receptor-destroying and fusion activity (Falk *et al.*, 1997; Mjaaland *et al.*, 1997; Rimstad *et al.*, 2011).

The morphological, physiochemical and genetic properties of ISAV are consistent with those of the *Orthomyxoviridae*, and ISAV has been classified as the type species of the genus *Isavirus* (Kawaoka *et al.*, 2005) within this virus family. The nucleotide sequences of all eight genome segments, encoding at least ten proteins, have been described (Clouthier *et al.*, 2002; Rimstad *et al.*, 2011), including the 3' and 5' non-coding sequences (Kulshreshtha *et al.*, 2010). Four major structural proteins have been identified, including a 68 kDa nucleoprotein, a 22 kDa matrix protein, a 42 kDa haemagglutinin-esterase (HE) protein responsible for receptor-binding and receptor-destroying activity, and a 50 kDa surface glycoprotein with putative fusion (F) activity, encoded by genome segments 3, 8, 6 and 5, respectively. Segment 1, 2, and 4 encode the viral polymerases PB2, PB1 and PA. The two smallest genomic segments, segments 7 and 8, each contain two open reading frames (ORF). The ORF1 of segment 7 encodes a protein with type I interferon antagonistic properties, while ORF2 has been suggested to encode for a nuclear export protein (NEP). Whether the ORF1 gene product is nonstructural or a structural component of the virion remains to be determined. The smaller ORF1 of segment 8 encodes the matrix protein, while the larger ORF2 encodes an RNA-binding structural protein also with type I interferon antagonistic properties.

Annexe 25 (suite)

Sequence analysis of various gene segments has revealed differences between isolates both within and between defined geographical areas. ~~According to sequence differences in the 5'-region of the HE gene, ISAV isolates have been divided into two major groups, one European and one North American group. According to sequence differences in all eight genomic segments, two groups are clearly defined: one European and one North American (Gagné & LeBlanc, 2017).~~ In the HE gene, a small HPR near the transmembrane domain has been identified. This region is characterised by the presence of gaps rather than single-nucleotide substitutions (Cunningham *et al.*, 2002; Mjaaland *et al.*, 2002). A full-length gene (HPR0) has been suggested to represent a precursor from which all ISAV HPR-deleted (pathogenic) variants of ISAV originate. The presence of non-pathogenic HPR0 ISAV genome has been reported in both apparently healthy wild and farmed Atlantic salmon, but has not been detected in diseased fish with clinical disease and pathological signs consistent with infection with ISAV ISA (Christiansen *et al.*, 2011; Cunningham *et al.*, 2002; Lyngstad *et al.*, 2012; Markussen *et al.*, 2008; McBeath *et al.*, 2009; Nylund *et al.*, 2007). A mixed infection with ~~of~~ HPR-deleted and HPR0 ISAV variants has been reported (Cardenas *et al.*, 2014; Kibenge *et al.*, 2009). Recent studies show that HPR0 ISAV variants occur frequently in sea-reared Atlantic salmon. The HPR0 ISAV strain seems to be more seasonal and transient in nature and displays a tissue tropism with high prevalence in gills (Christiansen *et al.*, 2011; Lyngstad *et al.*, 2011). To date there has been no direct evidence linking the presence of HPR0 ISAV to a subsequent clinical infection with ISAV ISA outbreak. The risk of emergence of pathogenic HPR-deleted ISAV variants from a reservoir of HPR0 ISAV is considered to be low but not negligible (Christiansen *et al.*, 2011; 2017; EFSA, 2012; Lyngstad *et al.*, 2012).

In addition to the variations seen in the HPR of the HE gene, other gene segments may also be of importance for development of infection with ISAV ISA. A putative virulence marker has been identified in the fusion (F) protein. Here, a single amino acid substitution, or a sequence insertion, near the protein's putative cleavage site has been found to be a prerequisite for virulence (Kibenge *et al.*, 2007; Markussen *et al.*, 2008). Aside from insertion/recombination, ISAV also uses gene segment reassortment in its evolution, with potential links to virulence (Devold *et al.*, 2006; Markussen *et al.*, 2008; Mjaaland *et al.*, 2005).

### 2.1.2. Survival outside the host

ISAV has been detected by reverse-transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) in seawater sampled at farming sites with ISAV-positive Atlantic salmon (Kibenge *et al.*, 2004). It is difficult to estimate exactly how long the virus may remain infectious in the natural environment because of a number of factors, such as the presence of particles or substances that may bind or inactivate the virus. Exposing cell culture-propagated ISAV to 15°C for 10 days or to 4°C for 14 days had no effect on virus infectivity (Falk *et al.*, 1997).

### 2.1.3. Stability of the agent (effective inactivation methods)

ISAV is sensitive to UV irradiation (UVC) and ozone. A 3-log reduction in infectivity in sterile fresh water and seawater was obtained with a UVC dose of approximately 35 Jm<sup>-2</sup> and 50 Jm<sup>-2</sup>, respectively, while the corresponding value for ISAV in wastewater from a fish-processing plant was approximately 72 Jm<sup>-2</sup>. Ozonated seawater (4 minutes with 8 mg ml<sup>-1</sup>, 600–750 mV redox potential) may inactivate ISAV completely. Incubation of tissue homogenate from diseased fish at pH 4 or pH 12 for 24 hours inactivated ISAV infectivity. Incubation in the presence of chlorine (100 mg ml<sup>-1</sup>) for 15 minutes also inactivated virus (Rimstad *et al.*, 2011). Cell culture-isolated ISAV may survive for weeks at low temperatures, but virus infectivity is lost within 30 minutes of exposure at 56°C (Falk *et al.*, 1997).

### 2.1.4. Life cycle

The main infection route is most likely through the gills for both HPR0 and HPR-deleted ISAV, but infection via the intestine or skin cannot be excluded. ~~HPR-deleted ISAV has been used in the studies referred to below. Endothelial cells lining blood vessels seem to be the primary target cells for ISAV as demonstrated by electron microscopy immunohistochemistry and *in situ* hybridisation. Virus replication has also been demonstrated in leukocytes, and sinusoidal macrophages in kidney tissue stain positive for ISAV using immunohistochemistry (IHC). As endothelial cells are the target cells (see Section 2.2.4), virus replication may occur in any organ (Aamelfot *et al.*, 2012; Rimstad *et al.*, 2011).~~

The haemagglutinin-esterase (HE) molecule of ISAV, like the haemagglutinin (HA) of other orthomyxoviruses (influenza A, B and C viruses), is essential for binding of the virus to sialic acid residues on the cell surface. In the case of ISAV, the viral particle binds to glycoprotein receptors containing 4-O-acetylated sialic acid residues, which also functions as a substrate for the receptor-destroying enzyme. Further uptake and replication seem to follow the pathway described for influenza A viruses, indicated by demonstration of low pH dependent fusion, inhibition of replication by actinomycin D and  $\alpha$ -amanitin, early accumulation of nucleoprotein followed by matrix protein in the nucleus and budding of progeny virions from the cell surface (Cottet *et al.*, 2011; Rimstad *et al.*, 2011).

The route of shedding of ISAV from infected fish may be through natural excretions/secretions.

The HPR0 variant has not been isolated in cell culture, which hampers *in-vivo* and *in-vitro* studies of characteristics and the life cycle of this virus variant.

## 2.2. Host factors

### 2.2.1. Susceptible host species

Natural outbreaks of ISA have only been recorded in farmed Atlantic salmon, and in Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) in Chile (Kibenge *et al.*, 2001). Subclinically infected feral Atlantic salmon, brown trout and sea trout (*S. trutta*) have been identified by RT-PCR (Kibenge *et al.*, 2004; Plarre *et al.*, 2005). In marine fish, detection of ISAV by RT-PCR has been reported in tissues of pollock (*Pollachius virens*) and cod (*Gadus morhua*), but only in fish collected from cages with Atlantic salmon exhibiting ISA (MacLean SA *et al.*, 2003). Following experimental infection by bath immersion, ISAV has been detected by RT-PCR in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) (Biacchesi *et al.*, 2007) and herring (*Clupea harengus*), the latter in a subsequent transmission to Atlantic salmon. Attempts have been made to induce infection or disease in pollock, *Pollachius virens*, but with negative results.

Species that fulfil the criteria for listing as susceptible to infection with ISAV according to Chapter 1.5. of the Aquatic Animal Health Code (Aquatic Code) include: amago trout (*Oncorhynchus masou*), Atlantic salmon (*Salmo salar*), brown trout (*Salmo trutta*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*).

### 2.2.2. Species with incomplete evidence for susceptibility

Species for which there is incomplete evidence for susceptibility according to Chapter 1.5. of the Aquatic Code include: Atlantic herring (*Clupea harengus*) and amago trout (*Oncorhynchus masou*).

### 2.2.3. Susceptible stages of the host

In Atlantic salmon, life stages from fingerlings to adults are known to be susceptible. Disease outbreaks are mainly reported in seawater cages, and only a few cases have been reported in the freshwater stage, including one case in yolk sac fry (Rimstad *et al.*, 2011). Infection with ISAV ISA has been experimentally induced in both Atlantic salmon fry and parr kept in freshwater. Genetics may also play an important role in the susceptibility of Atlantic salmon to infection with ISAV-ISA, as differences in susceptibility among different family groups have been observed.

### 2.2.4. Species or subpopulation predilection (probability of detection)

HPR deleted forms of infection with ISAV ISA is primarily a cause disease of in Atlantic salmon.

### 2.2.5. Target organs and infected tissue

For fish that have developed infection with ISAV-ISA: endothelial cells in all organs become infected (gills, heart, liver, kidney, spleen and others) (Aamelfot *et al.*, 2012). HPR0 ISAV variants seem primarily to target the gills, but this variant has also been detected in kidney and heart (Christiansen *et al.*, 2011; Lyngstad *et al.*, 2011).

Annexe 25 (suite)**2.2.65. Persistent infection with lifelong carriers**

Persistent infection in lifelong carriers has not been documented in Atlantic salmon, but at the farm level, infection may persist in the population by continuous infection of new individuals that do not develop clinical signs of disease. This may include infection with the HPR0 ISAV variants, which seems to be only transient in nature (Christiansen *et al.*, 2011; Lyngstad *et al.*, 2011). Experimental infection of rainbow trout and brown trout with ISAV indicate that persistent infection in these species could be possible (Rimstad *et al.*, 2011).

**2.2.76. Vectors**

Passive transfer of ISAV by salmon lice (*Lepeophtheirus salmonis* and *Caligus rogercresseyi*; Qelkers *et al.*, 2014) has been demonstrated under experimental conditions. Although natural vectors have not been identified, several different vector groups could be possible vectors under certain defined conditions (reviewed in Rimstad *et al.*, 2011).

**2.2.87. Known or suspected wild aquatic animal carriers**

Wild Atlantic salmon and brown trout and sea trout may be carriers of ISAV (Rimstad *et al.*, 2011). The importance of wild marine fish (see Section 2.2.1) as virus carriers needs to be clarified. The results from a study from the Faroe Islands point to the potential presence of an unknown marine reservoir for this virus (Christiansen *et al.*, 2011).

**2.3. Disease pattern****2.3.1. Transmission mechanisms**

Studies of recurrent epidemics of infection with ISAV ~~ISA~~ in different salmon-producing areas conclude that the virus spreads locally between adjoining-adjacent sites. Proximity to sites with infection with ISAV ~~ISA~~ outbreaks is a risk of primary importance, and the risk for a susceptible farm increases the nearer it is to an infected farm. Sequence analysis of ISAV from infection with ISAV ~~ISA~~ outbreaks in Norway shows a high degree of similarity between viruses isolated from neighbouring ~~ISA~~ affected sites, further supporting ISAV transmission between proximate sites. The risk of transmission of ISAV is dependent on the level of biosecurity measures in place. Suggested pathways for ISAV transmission are through sea water, shipment of live fish, transmission through sea lice, and via infected wild salmonids (Aldrin *et al.*, 2011; Gustafson *et al.*, 2007; Lyngstad *et al.*, 2011; Mardones *et al.*, 2011; Rimstad *et al.*, 2011).

Many ~~ISA~~ outbreaks of clinical disease caused by infection with ISAV in Norway appear to be isolated in space and time from other outbreaks with unknown sources of infection (Aldrin *et al.*, 2011). A suggested hypothesis for disease emergence is occasional transition of HPR0 ISAV into HPR-deleted ISAV variants causing solitary outbreaks or local epidemics through local transmission (Lyngstad *et al.*, 2011; 2012). The risk of emergence of HPR-deleted ISAV variants from a reservoir of HPR0 ISAV is considered to be low but not negligible (EFSA, 2012). A direct link between HPR0 variants and HPR-deleted ISAV remains to be demonstrated.

As infection with ISAV ~~ISA~~ has also been reported from smolt-producing sites with Atlantic salmon, transmission of ISAV from parent to progeny cannot be excluded. Even though there is no evidence of true vertical transmission, eggs and embryos could be a risk of transmission if ISAV biosecurity measures are not adequate (Mardones *et al.*, 2014; Marshall *et al.*, 2014; Rimstad *et al.*, 2011).

**2.3.2. Prevalence**

In a-net pens containing diseased fish, the prevalence of HPR-deleted ISAV may vary widely, while in adjacent net pens (without diseased fish) ISAV may be difficult to detect, even by the most sensitive methods. Therefore, for diagnostic investigations it is important to sample from net pens containing diseased fish.

There is increasing evidence that the prevalence of the non-pathogenic HPR0 ISAV genotype may be high in Atlantic salmon production areas. HPR0 variants in Atlantic salmon appear to be a seasonal and transient infection (Christiansen *et al.*, 2011). HPR0 variants of ISAV have also been detected in wild salmonids (reviewed in Rimstad *et al.*, 2011).

### 2.3.3. Geographical distribution

Initially reported in Norway in the mid-1980s (Thorud & Djupvik, 1988), infection with ISAV ~~ISA~~ in Atlantic salmon has since then been reported in Canada (New Brunswick in 1996; Mullins *et al.*, 1998), the United Kingdom (Scotland in 1998), the Faroe Islands (2000), the USA (Maine in 2001) and in Chile (2007) (Cottet *et al.*, 2011; Rimstad *et al.*, 2011). The presence of the HPR0 ISAV variant has been reported in all countries where infection with HPR-deleted ISAV has occurred.

### 2.3.4. Mortality and morbidity

During ~~ISA~~ outbreaks of infection with ISAV, morbidity and mortality may vary greatly within and between ~~different~~ net pens in a seawater fish farm, and between ~~different~~ fish farms. Morbidity and mortality within a net pen may start at very low levels. Typically, daily mortality ranges from 0.5 to 1% in affected cages. Without intervention, mortality increases and ~~seems to often~~ peaks in early summer and winter. The range of cumulative mortality during an outbreak is from insignificant to moderate, but in severe cases, cumulative mortality exceeding 90% may be recorded ~~during over~~ several months. Initially, an outbreak of infection with ISAV ~~ISA~~ may be limited to one or two net pens over a long time period. In such cases, if net pens with clinical infection with ISAV ~~ISA~~ are slaughtered immediately, further development of clinical infection with ISAV ~~ISA~~ at the site may be prevented. In outbreaks where smolts have been infected in well boats during transport, simultaneous outbreaks may occur.

HPR0 ISAV has not been associated with ~~ISA~~ clinical disease in Atlantic salmon.

### 2.3.5. Environmental factors

Generally, outbreaks of infection with ISAV ~~ISA~~ tend to be seasonal with most outbreaks in late spring and late autumn; however outbreaks can occur at any time of the year. Handling of fish (e.g. sorting or treatment, splitting or moving of cages) may initiate disease outbreaks on infected farms, especially if long-term undiagnosed problems have been experienced in advance (Lyngstad *et al.*, 2008).

## 2.4. Control and prevention

### 2.4.1. Vaccination

Vaccination against infection with ISAV ~~ISA~~ has been carried out in North America since 1999 and the Faroe Islands since 2005. In Norway vaccination against infection with ISAV was carried out for the first time in 2009 in a region with a high rate of infection with ISAV ~~ISA~~ outbreaks. Chile started vaccinating against infection with ISAV ~~ISA~~ in 2010. However, the currently available vaccines do not seem to offer complete protection in Atlantic salmon.

### 2.4.2. Chemotherapy

~~Most recently, it has been demonstrated that~~ The broad-spectrum antiviral drug Ribavirin (1- $\beta$ -D-ribofuranosyl-1,2,4-triazole-3-carboxamide) is effective in inhibiting ISAV replication both *in vitro* and *in vivo* (Rivas-Aravena *et al.*, 2011).

### 2.4.3. Immunostimulation

Not applicable.

### 2.4.4. Resistance breeding

Differences in susceptibility among different family groups of Atlantic salmon in fresh water have been observed in challenge experiments and in field tests, indicating the potential for resistance breeding (Gjøen *et al.*, 1997).

### 2.4.5. Restocking with resistant species

Not applicable.

### 2.4.6. Blocking agents

Not applicable.

Annexe 25 (suite)**2.4.7. Disinfection of eggs and larvae**

Disinfection of eggs according to standard procedures is suggested as an important control measure (chapter 4.4 of the *Aquatic Code*).

**2.4.8. General husbandry practices**

The incidence of infection with ISAV ~~ISA~~ may be greatly reduced by implementation of legislative measures or husbandry practices regarding the movement of fish, mandatory health control, transport and slaughterhouse regulations. Specific measures including restrictions on affected, suspected and neighbouring farms, enforced sanitary slaughtering, generation segregation ('all in/all out') as well as disinfection of offal and wastewater from fish slaughterhouses and fish processing plants may also contribute to reducing the incidence of the disease. The experience from the Faroe Islands, where the prevalence of HPR0 is high, demonstrates that the combination of good biosecurity and husbandry reduces the risk of outbreaks of infection with ISAV ~~ISA outbreaks~~ substantially.

**3. Sampling****3.1. Selection of individual specimens**

For HPR-deleted ISAV, fish displaying clinical signs or gross pathology should be sampled.

For HPR0 ISAV, randomly selected individuals should be sampled at different time points throughout the production cycle.

~~The following is primarily for verification of suspected cases based on clinical signs and gross pathology or positive RT-PCR for HPR-deleted ISAV.~~

~~For detection of HPR0 ISAV, gill tissue should be sampled in randomly selected individuals at different points of time through the production cycle. Only detection using RT-PCR is possible for this genotype.~~

**3.2. Preservation of samples for submission**

Haematology:	Heparin or EDTA (ethylene diamine tetra-acetic acid)
Cell culture:	Virus transport medium
Histology and immunohistochemistry:	Fixation in neutral phosphate-buffered 10% formalin
Immunofluorescence (smears):	Either submitted dried, or dried and fixed in 100% acetone
Molecular biology (RT-PCR and sequencing):	Appropriate medium for preservation of RNA

**3.3. Pooling of samples**

Pooling of samples may be acceptable, however, the impact on sensitivity and design prevalence must be considered.

**3.4. Best organs or tissues****3.4.1. Detection of HPR-deleted ISAV**

Blood is preferred for non-lethal sampling. Generally, as infection with ISAV ~~ISA~~ is a generalised infection, internal organs not exposed to the environment should be used for diagnostic testing.

Virological examination (cell culture and PCR): heart (should always be included) and mid-kidney;

Histology (prioritised): mid-kidney, liver, heart, pancreas/intestine, spleen;

Immunofluorescence (smears): mid-kidney;

Immunohistochemistry: mid-kidney, heart (including valves and bulbus arteriosus).

**3.4.2. Detection of HPR0 ISAV**

Gill tissue ~~Gills~~ should be tested by RT-PCR.

### 3.5. Samples/tissues that are not suitable

None known.

## 4. Diagnostic methods

### 4.1. Field diagnostic methods

#### 4.1.1. Clinical signs

The most prominent external signs of infection with ISAV ISA are pale gills (except in the case of blood stasis in the gills), exophthalmia, distended abdomen, blood in the anterior eye chamber, and sometimes skin haemorrhages especially of the abdomen, as well as scale pocket oedema.

Generally, Atlantic salmon naturally infected with HPR-deleted ISAV appear lethargic and may keep close to the wall of the net pen.

Affected fish are generally in good condition, but diseased fish have no feed in the digestive tract.

### 4.2. Pathological evaluation

#### 4.2.1. Gross pathology

Fish infected with HPR-deleted ISAV may show a range of pathological changes, from none to severe, depending on factors such as infective dose, virus strain, temperature, age and immune status of the fish. No lesions are pathognomonic to infection with ISAV, but anaemia and circulatory disturbances are always present. The following findings have been described to be consistent with infection with ISAV, though all changes are seldom observed in one single fish.

- Yellowish or blood-tinged fluid in peritoneal and pericardial cavities.
- Oedema of the swim bladder.
- Small haemorrhages of the visceral and parietal peritoneum.
- Focal or diffusely dark red liver (a thin fibrin layer may be present on the surface).
- Swollen, dark red spleen with rounded margins.
- Dark redness of the intestinal wall mucosa in the blind sacs, mid- and hind-gut, without blood in the gut lumen of fresh specimens.
- Swollen, dark red kidney with blood and liquid effusing from cut surfaces.
- Pinpoint haemorrhages of the skeletal muscle.

#### 4.2.2. Clinical chemistry

- Haematocrit <10 in end stages (25–30 often seen in less advanced cases). Haematocrit <10 should always be followed up by investigation for infection with ISAV ISA in sea-water reared Atlantic salmon.
- Blood smears with degenerate and vacuolised erythrocytes and the presence of erythroblasts with irregular nuclear shape. Differential counts show a reduction in the proportion of leucocytes relative to erythrocytes, with the largest reduction being among lymphocytes and thrombocytes.

Liver pathology will lead to increased levels of liver enzymes in the blood.

#### 4.2.3. Microscopic pathology

Histological changes in clinically diseased Atlantic salmon are variable, but can include the following:

- Numerous erythrocytes in the central venous sinus and lamellar capillaries where erythrocyte thrombi also form in the gills.

Annexe 25 (suite)

- Multifocal to confluent haemorrhages and/or hepatocyte necrosis at some distance from larger vessels in the liver. Focal accumulations of erythrocytes in dilated hepatic sinusoids.
- Accumulation of erythrocytes in blood vessels of the intestinal lamina propria and eventually haemorrhage into the lamina propria.
- Spleen stroma distended by erythrocyte accumulation.
- Slight multifocal to extensive diffuse interstitial haemorrhage with tubular necrosis in the haemorrhagic areas, erythrocyte accumulation in the glomeruli in the kidney.
- Erythrophagocytosis in the spleen and secondary haemorrhages in liver and kidney.

**4.2.4. Wet mounts**

Not applicable.

**4.2.5. Smears**

See Section 4.3.1.1.2.

**4.2.6 Fixed sections**

See Section 4.3.1.1.3.

**4.2.7. Electron microscopy/cytopathology**

Virus has been observed in endothelial cells and leukocytes by electron microscopy of tissue preparations, but this method has not been used for diagnostic purposes.

**4.2.8. Differential diagnoses**

~~Other anaemic and haemorrhagic conditions, including erythrocytic inclusion body syndrome, winter ulcer and septicæmias caused by infections with *Moritella viscosa*. Disease cases in Atlantic salmon with haematocrit values below 10 is not a unique finding for ISA, however cases with such low haematocrit values without any obvious explanation should always be tested for the presence of ISAV.~~

**4.3. Agent detection and identification methods****4.3.1. Direct detection methods**

With the exception of molecular techniques (see 4.3.1.2.3), these direct detection methods are only recommended for fish with clinical signs of infection with HPR-deleted ISAV.

**4.3.1.1. Microscopic methods***4.3.1.1.1. Wet mounts*

Not applicable.

*4.3.1.1.2. Smears**4.3.1.1.2.1 Indirect fluorescent antibody test*

An indirect fluorescent antibody test (IFAT) using validated monoclonal antibodies (MAbs) against ISAV haemagglutinin-esterase (HE) on kidney smears (imprints) or on frozen tissue sections of kidney, heart and liver has given positive reactions in both experimentally and naturally infected Atlantic salmon. Suspected cases (see Section 7.1) may be confirmed with a positive IFAT.

## i) Preparations of tissue smears (imprints)

A small piece of the mid-kidney is briefly blotted against absorbent paper to remove excess fluid, and several imprints in a thumbnail-sized area are fixed on poly-L-lysine-coated microscope slides. The imprints are air-dried, fixed in chilled 100% acetone for 10 minutes and stored either at 4°C for a few days or at -80°C until use.

## ii) Staining procedure

After blocking with 5% non-fat dry milk in phosphate-buffered saline (PBS) for 30 minutes, the preparations are incubated for 1 hour with an appropriate dilution of anti-ISAV MAb, followed by three washes. For the detection of bound antibodies, the preparations are incubated with fluorescein isothiocyanate (FITC)-conjugated anti-mouse Ig for 1 hour. PBS with 0.1% Tween 20 is used for washing. All incubations are performed at room temperature.

## 4.3.1.1.3. Fixed sections

## 4.3.1.1.3.1 Immunohistochemistry (IHC)

Polyclonal antibody against ISAV nucleoprotein is used on paraffin sections from formalin-fixed tissue. This IHC staining has given positive reactions in both experimentally and naturally infected Atlantic salmon. Preferred organs are mid-kidney and heart (transitional area including all three chambers and valves). Suspected cases due to pathological signs are verified with a positive IHC. Histological sections are prepared according to standard methods.

## i) Preparation of tissue sections

The tissues are fixed in neutral phosphate-buffered 10% formalin for at least 1 day, dehydrated in graded ethanol, cleared in xylene and embedded in paraffin, according to standard protocols. Approximately 5 µm thick sections (for IHC sampled on poly-L-lysine-coated slides) are heated at 56–58°C (maximum 60°C) for 20 minutes, dewaxed in xylene, rehydrated through graded ethanol, and stained with haematoxylin and eosin for pathomorphology and IHC as described below.

## ii) Staining procedure for IHC

All incubations are carried out at room temperature on a rocking platform, unless otherwise stated.

- a) Antigen retrieval is done by boiling sections in 0.1 M citrate buffer pH 6.0 for 2 × 6 minutes followed by blocking with 5% non-fat dry milk and 2% goat serum in 50 mM TBS (TBS; Tris/HCl 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7.6) for 20 minutes.
- b) Sections are then incubated overnight with primary antibody (monospecific rabbit antibody against ISAV nucleoprotein) diluted in TBS with 1% non-fat dry milk, followed by three washes in TBS with 0.1% Tween 20.
- c) For detection of bound antibodies, sections are incubated with Alkaline phosphatase-conjugated antibodies to rabbit IgG for 60 minutes. Following a final wash, Fast Red (1 mg ml<sup>-1</sup>) and Naphthol AS-MX phosphate (0.2 mg ml<sup>-1</sup>) with 1 mM Levamisole in 0.1 M TBS (pH 8.2) is added to develop for 20 minutes. Sections are then washed in tap water before counterstaining with Harris haematoxylin and mounted in aqueous mounting medium. ISAV positive and ISAV negative tissue sections are included as controls in every setup.

## iii) Interpretation

Negative control sections should not have any significant colour reactions. Positive control sections should have clearly visible red-coloured cytoplasmic and intranuclear staining of endothelial cells in blood vessels or heart endocardium. A test sample section should only be regarded as positive if clear, intranuclear red staining of endothelial cells is found. The intranuclear localisation is particular to the orthomyxovirus nucleoprotein during a stage of virus replication. Concurrent cytoplasmic staining is often dominant. Cytoplasmic and other staining patterns without intranuclear localisation must be considered as nonspecific or inconclusive.

The strongest positive staining reactions are usually obtained in endothelial cells of heart and kidney. Endothelial staining reactions within very extensive haemorrhagic lesions can be slight or absent, possibly because of lysis of infected endothelial cells.

Annexe 25 (suite)**4.3.1.2. Agent isolation and identification***4.3.1.2.1. Cell culture*

ASK cells (Devold *et al.*, 2000) are recommended for primary ISAV isolation, but other susceptible cell lines, such as SHK-1 (Dannevig *et al.*, 1995), may be used. However, strain variability and the ability to replicate in different cell lines should be taken into consideration. The ASK cells seem to support isolation and growth of the hitherto known virus isolates. A more distinct cytopathic effect (CPE) may appear in ASK cells. Both the SHK-1 and ASK cell lines appear to lose susceptibility for ISAV with increasing passage level.

The SHK-1 and ASK cells are grown at 20°C in Leibovitz's L-15 cell culture medium supplemented with fetal bovine serum (5% or 10%), L-glutamine (4 mM), gentamicin (50 µg ml<sup>-1</sup>) and 2-mercaptoethanol (40 µM) (this latter may be omitted).

For virus isolation, cells grown in 25 cm<sup>2</sup> tissue culture flasks or multi-well cell culture plates, which may be sealed with parafilm or a plate sealer to stabilise the pH of the medium, may be used. Cells grown in 24-well plates may not grow very well into monolayers, but this trait may vary between laboratories and according to the type of cell culture plates used. Serially diluted ISAV-positive controls should be inoculated in parallel with the tissue samples as a test for cell susceptibility to ISAV (this should be performed in a separate location from that of the test samples).

## i) Inoculation of cell monolayers

Prepare a 2% suspension of tissue homogenate using L-15 medium without serum or other medium with documented suitability. Remove growth medium from actively growing monolayers (1–3 day old cultures or cultures of 70–80 % confluency) grown in 25 cm<sup>2</sup> tissue culture flasks or multi-well cell culture plates (see above). Inoculate monolayers (25 cm<sup>2</sup> tissue culture flasks) with 1.5 ml of the 2% tissue homogenate. Adjust volume to the respective surface area in use. Allow 3–4 hours incubation at 15°C followed by removal of the inoculum, and addition of fresh, L-15 medium supplemented with 2–5% FCS. Alternatively, a 1/1000 dilution and direct inoculation without medium replacement can be used.

When fish samples come from production sites where infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) is regarded as endemic, the tissue homogenate supernatant should be incubated (for a minimum of 1 hour at 15°C) with a pool of antisera to the indigenous serotypes of IPNV prior to inoculation.

## ii) Monitoring incubation

Inoculated cell cultures (kept at 15°C) are examined at regular intervals (at least every 7 days) for the occurrence of CPE. Typical CPE due to ISAV appears as vacuolated cells that subsequently round up and loosen from the growth surface. If CPE consistent with that described for ISAV or IPNV appears, an aliquot of the medium for virus identification, as described below, must be collected. In the case of an IPNV infection, re-inoculate cells with tissue homogenate supernatant that has been incubated with a lower dilution of IPNV antisera. If no CPE has developed after 14 days, subculture to fresh cell cultures.

## iii) Subcultivation procedure

Aliquots of medium (supernatant) from the primary cultures are collected 14 days (or earlier when obvious CPE appears) after inoculation. Supernatants from wells inoculated with different dilutions of identical samples may be pooled for surveillance purposes.

Supernatants are inoculated into fresh cell cultures as described for the primary inoculation: remove growth medium, inoculate monolayers with a small volume of diluted supernatant (1/5 and higher dilutions) for 3–4 hours before addition of fresh medium. Alternatively, add supernatants (final dilutions 1/10 and higher) directly to cell cultures with growth medium.

Inoculated cell cultures are incubated for at least 14 days and examined at regular intervals, as described for the primary inoculation. At the end of the incubation period, or earlier if obvious CPE appears, the medium is collected for virus identification, as described below. Cell cultures with no CPE should always be examined for the presence of ISAV by immunofluorescence (IFAT), haemadsorption or by PCR because virus replication may occur without development of apparent CPE.

The procedure described below has been successful for isolation of HPR-deleted ISAV from fish with clinical signs or from suspected cases. HPR0 has hitherto not been isolated in cell culture.

#### 4.3.1.2.2. Antibody-based antigen detection methods

##### 4.3.1.2.2.1 Virus identification by IFAT

All incubations are carried out at room temperature unless otherwise stated.

- i) Prepare monolayers of cells in appropriate tissue culture plates (e.g. 96-well or 24-well plates), in slide flasks or on cover-slips dependent on the type of microscope available (an inverted microscope equipped with UV light is necessary for monolayers grown on tissue culture plates). SHK-1 cells grow rather poorly on glass cover-slips. The necessary monolayers for negative and positive controls must be included.
- ii) Inoculate the monolayers with the virus suspensions to be identified in tenfold dilutions, two monolayers for each dilution. Add positive virus control in dilutions known to give a good staining reaction. Incubate inoculated cell cultures at 15°C for 7 days or, if CPE appears, for a shorter time.
- iii) Fix in 80% acetone for 20 minutes after removing cell culture medium and rinsing once with 80% acetone. Remove the fixative and air dry for 1 hour. The fixed cell cultures may be stored dry for less than 1 week at 4°C or at -20°C for longer storage.
- iv) Incubate the cell monolayers with anti- ISAV MAb in an appropriate dilution in PBS for 1 hour. and rinse twice with PBS/0.05% Tween 20. If unspecific binding is observed, incubate with PBS containing 0.5% dry skimmed milk.
- v) Incubate with FITC-conjugated goat anti-mouse immunoglobulin for 1 hour (or if antibody raised in rabbits is used as the primary antibody, use FITC-conjugated antibody against rabbit immunoglobulin), according to the instructions of the supplier. To increase the sensitivity, FITC-conjugated goat anti-mouse Ig may be replaced with biotin-labelled anti-mouse Ig and FITC-labelled streptavidin with the described rinsing in between the additional step. Rinse once with PBS/0.05% Tween 20, as described above. The nuclei can be stained with propidium iodide (100 µg ml<sup>-1</sup> in sterile distilled water). Add PBS (without Tween 20) and examine under UV light. To avoid fading, the stained plates should be kept in dark until examination. For long periods of storage (more than 2–3 weeks) a solution of 1,4-diazabicyclooctane (DABCO 2.5% in PBS, pH 8.2) or similar reagent may be added as an anti-fade solution.

#### 4.3.1.2.3. Molecular techniques

##### 4.3.1.2.3.1 Reverse-transcription polymerase chain reaction (RT-PCR)

The primers described below for RT-PCR and real-time RT-PCR will detect both European and North-American HPR-deleted ISAV, and also HPR0 ISAV.

RT-PCR may be used for detection of ISAV from total RNA (or total nucleic acid) extracted from recommended organs/tissues (see Section 3.4). The real-time RT-PCR for the detection of ISAV is recommended as it increases the specificity and, probably, also the sensitivity of the test. Though several primer sets for ISAV real-time RT-PCR have been reported, recommended primer sets are presented in the table below. The primer sets derived from genomic segment 8 and segment 7 have been used by several laboratories and have been found suitable for detection of ISAV during disease outbreaks and in apparently healthy carrier fish.

With the widespread occurrence of HPR0 ISAV variants, it is essential to follow up any positive PCR results based on segment 7 or 8 primer sets by sequencing the HPR of segment 6 in order to determine the ISAV HPR variant present (HPR-deleted or HPR0 or both). Adequate primers, designed and validated by the OIE Reference Laboratory are given in the table below. Validation of the HPR primer set for the North American isolates is restricted by the limited sequence data available in the Genbank for the 3' end of ISAV segment 6.

## Annexe 25 (suite)

The primers for segment 7 and 8 as well as sequencing primers for segment 6 HPR, are listed below and may also be used for conventional RT-PCR if necessary.

Real-time <u>and conventional</u> RT-PCR: Primer and probe sequences	Named	Genomic segment	Product size	Reference
5'-CAG-GGT-TGT-ATC-CAT-GGT-TGA-AAT-G-3' 5'-GTC-CAG-CCC-TAA-GCT-CAA-CTC-3' 5'-6FAM-CTC-TCT-CAT-TGT-GAT-CCC-MGBNFQ-3'	forward primer reverse primer Taqman@probe	7	155 nt	Snow <i>et al.</i> , 2006
5'-CTA-CAC-AGC-AGG-ATG-CAG-ATG-T-3' 5'-CAG-GAT-GCC-GGA-AGT-CGA-T-3' 5'-6FAM-CAT-CGT-CGC-TGC-AGT-TC-MGBNFQ-3'	forward primer reverse primer Taqman@probe	8	104 nt	Snow <i>et al.</i> , 2006
5'-GAC-CAG-ACA-AGC-TTA-GGT-AAC-ACA-GA-3' 5'-GAT-GGT-GGA-ATT-CTA-CCT-CTA-GAC-TTG-TA-3'	forward primer reverse primer	6 (HPR)	304 nt if HPR0	Designed by OIE Ref. Lab.

## 4.3.1.2.3.2 Real-time RT-PCR

## 4.3.1.2.3.2.1 Sampling

Target organs are normally the heart, kidney and gills. Under surveillance protocols, pooled organs of three fish are recommended while individual analysis of samples is required for confirmatory purposes as well as for molecular studies. Immediately after organ extraction from fish, 0.5 mm<sup>3</sup> slices are independently imbedded in RNAlater (or ethanol) as preservative in Eppendorf tubes properly labelled to be sent in isothermal containers with cooling units to the diagnostic laboratories. The cold chain must be maintained during the delivery process.

## 4.3.1.2.3.2.2 Processing and analysis of samples via real-time RT-PCR

i) RNA extraction

Samples are removed from the RNA preservative, weighed and the sum of the three target organ slices must be kept in the range from 30 to 40 mg. Samples are then homogenised in lysis buffer (according to the kit used) supplemented with 1.4 mm Zirconium oxide beads in an automated Roche's Magalisser device kit followed by RNA extraction using the E.Z.N.A.® Total RNA Kit (TRK) I (Catalog Number R683402CH), under the following conditions:

Amount of tissue	Amount of TRK lysis buffer	2-Mercaptoetanol
30–40 mg	700 µl	14 µl

ii) Real-time RT-PCR reactions

Three parallel reactions are normally run for each sample, the first two target viral coding segment 8, and the third is a cellular housekeeping gene acting as quality control: (1) carried out according to Snow *et al.* (2006); (2) under an optimised mix named GIM<sup>4</sup>; (3) measures the reporter gene ELF-1α as a reference for the integrity of the RNA recovered.

Mixes are distributed either in ELISA plates or tube strips and kept at 4°C until use. Reactions are recorded using the SuperScript™ III Platinum™ One-Step qRT-PCR Kit, (Catalogue Number 11732088). Each mix is prepared for a final volume of 20 µl considering a maximum simple volume of 4 µl according to the following tables.

Master Mix	Forward primer 20 µM	Reverse primer 20 µM	Probe 20 µM	ROX	Enzyme	Water	Sample	Final volume
10 µl	1 µl	1 µl	0.3 µl	0.4 µl	0.4 µl	4 µl	4 µl	20 µl

<sup>4</sup> GIM: Available from the OIE Reference Laboratory in Chile

<u>Assay</u>	<u>Primer/probe</u>	<u>Sequence</u>
<u>Snow et al., 2006</u>	<u>Forward</u>	<u>5'-TGC-TAC-ACA-GCA-GGA-TGC-AG-3'</u>
	<u>Reverse</u>	<u>5'-CAT-CTT-CTC-TGT-CGA-GCA-GGA-3'</u>
	<u>Probe</u>	<u>6FAM-CAT-CGT-CGC-TGC-AGT-TC-MGBNFQ</u>
<u>GIM*</u>	<u>Forward</u>	<u>5'-ATC-AGT-AAA-CTT-CAG-AGG-AAC-ATC-3'</u>
	<u>Reverse</u>	<u>5'-GAA-ATG-AAG-ATG-TTG-CTC-AAC-3'</u>
	<u>Probe</u>	<u>5'-/56-FAM/AGC-GAC-GAT-ZEN-GAC-TCT-CTA-CTG-TGT-GAT-G-/3IABkFQ/-3'</u>
<u>ELF-1<math>\alpha</math> Sepulveda et al., 2012</u>	<u>Forward</u>	<u>5'-GCC-CCT-CCA-GGA-YGT-YTA-CAA-3'</u>
	<u>Reverse</u>	<u>5'-CCA-CAC-GGC-CCA-CRG-GTA-C-3'</u>
	<u>Probe</u>	<u>5'-/56-FAM/ATC-GGY-GGT-AT+T+G+G+A+AC-/3BHQ</u>

\*Developed by the OIE Reference Laboratory in Chile.

iii) Sample processing

ELISA plates or strips with reaction mix are taken from 4°C and loaded with adequate volume of samples. Controls are then loaded: a) a positive amplification control (RNA from an ISAV positive reference tissue); b) a negative extraction control (RNA from an ISAV negative reference tissue, extracted along with the testing samples); c) a negative amplification control (free water). Finally, the plates are sealed with parafilm or the tube strips covered and taken to the thermocycler where they are placed before passing by a spin.

iv) Real-time PCR programme

The three reactions (Snow et al., GIM and ELF-1 $\alpha$ ) are run in parallel and analysed under a simplex format; temperatures for each were carefully set as follows:

<u>Steps</u>	<u>Temperature</u>	<u>Time</u>	<u>Steps</u>
<u>RT</u>	<u>50°C</u>	<u>15 minutes</u>	<u>1</u>
<u>Initial denaturation</u>	<u>95°C</u>	<u>2 minutes</u>	<u>1</u>
<u>Denaturation, annealing and extension</u>	<u>95°C</u>	<u>10 seconds</u>	<u>45</u>
	<u>60°C</u>	<u>1 minute</u>	

4.3.1.2.3.2.3 Interpretation of the results

Results are read and interpreted using the StepOne software version 2.3, according to the following steps:

- i) Thresholds are set manually by assigning 0.1 values to the Snow et al. and GIM assay and 0.4 to the ELF-1 $\alpha$  assay.
- ii) Controls are checked. If the results are as expected, the reading is continued. If not, the run is aborted.
- iii) Ct values for ELF-1 $\alpha$  should be within established ranges (14–25) together with a reasonably shaped curve.
- iv) Sample results for Snow et al. and GIM should give similar Ct values with delta values ranging from 1 to 2 units and share similar curve shapes.

## Annexe 25 (suite)

- v) Once this procedure is done, results are recorded in a pre-established form and sent to the OIE Reference Laboratory in Chile no later than 24–48 hours upon sample reception.
- vi) For positive results, a second analysis is required to determine if the putative virus detected is a HPR-deleted variant or a HPRO.

## 4.3.1.2.4. Agent purification

ISAV propagated in cell culture can be purified by sucrose gradient centrifugation (Falk *et al.*, 1997) or by affinity purification using immunomagnetic beads coated with anti-ISAV MAb.

## 4.3.2. Serological methods

None published or validated.

~~Both Atlantic salmon and rainbow trout develop a humoral immune response to the ISAV infection. Enzyme-linked immunosorbent assays (ELISAs) with either purified virus or lysates from ISAV-infected cell cultures have been established for detection of ISAV-specific antibodies. ELISA titres can be very high and appear to be quite specific for the nucleoprotein in Western blots (K. Falk, pers. comm.). The test is not standardised for surveillance or diagnostic use, but may be used as a supplement to direct virus detection and pathology in obscure cases. Furthermore, the level and distribution of seroconversion in an ISAV-infected population may give some information about the spread of infection, particularly in cases where vaccination is not practised, and in wild fish.~~

## 5. Rating of tests against purpose of use

As an example, the methods currently available for targeted surveillance for infection with HPR-deleted ISAV and diagnosis of infection with ISAV ISA are listed in Table 5.1. For surveillance of infection with HPR0 ISAV, real-time RT-PCR followed by conventional RT-PCR and sequencing are the only recommended methods (not included in the table). The designations used in the Table indicate: a = the method is the recommended method for reasons of availability, utility, and diagnostic specificity and sensitivity; b = the method is a standard method with good diagnostic sensitivity and specificity; c = the method has application in some situations, but cost, accuracy, or other factors severely limits its application; and d = the method is presently not recommended for this purpose. These are somewhat subjective as suitability involves issues of reliability, sensitivity, specificity and utility. Although not all of the tests listed as category a or b have undergone formal standardisation and validation, their routine nature and the fact that they have been used widely without dubious results, makes them acceptable.

*Table 5.1. Methods for targeted surveillance and diagnosis\**

Method	Targeted surveillance for infection with HPR-deleted ISAV				Presumptive diagnosis	Confirmatory diagnosis
	Fry	Parr	Smolt	Adults		
Gross signs	d	d	d	d	c	b
Histopathology	d	d	d	b	b	b
IFAT on kidney imprints	d	d	d	d	b	a
Immunohistochemistry	d	d	d	d	b	a
Isolation in cell culture with virus identification	a	a	a	a	a	a
<del>RT-PCR or real-time RT-PCR followed by sequencing</del>	<del>a-c</del>	<del>a-c</del>	<del>a-c</del>	<del>a-c</del>	b	<del>a-c</del>
<u>Real-time RT-PCR</u>	<u>a</u>	<u>a</u>	<u>a</u>	<u>a</u>	<u>a</u>	<u>b</u>
<u>Sequencing</u>	<u>d</u>	<u>d</u>	<u>d</u>	<u>d</u>	<u>d</u>	<u>a</u>

\*As the diagnosis of infection with ISAV is not based on the results of a single method, the information in this Table should be used with care. See Section 7 for the criteria for infection with ISAV diagnosis.

PLs = postlarvae; IFAT = indirect fluorescent antibody test; EM = electron microscopy;  
RT-PCR = reverse-transcriptase polymerase chain reaction.

## 6. Test(s) recommended for targeted surveillance to declare freedom from infection with ISAV infectious salmon anaemia virus

For infection with ISAV, real-time RT-PCR is the recommended test for surveillance. ~~Regular health inspections combined with investigation for ISA when increased mortality is associated with one of the given clinical signs and/or pathological changes consistent with ISA is an efficient way of obtaining data on the occurrence of ISA in farmed populations. In addition to regular health inspections, testing for HPR-deleted ISAV, preferentially by PCR-based methodology, at certain intervals may be carried out. However, due to the expected low prevalence in apparently healthy populations and the uneven spread of infection within a farm, statistically appropriate numbers of samples need to be tested. The significance of positive findings of ISAV by PCR alone for the risk of developing ISA disease is not clear, and therefore any positive findings would have to be followed up by either further testing and/or surveillance of the production site.~~

~~Because of the transient nature of HPR0 ISAV, statistically appropriate sample sizes need to be tested at time points through the production cycle to be able to document freedom of this infection.~~

## 7. Corroborative diagnostic criteria

Reasonable grounds to suspect fish of being infected with ISAV (HPR-deleted or HPR0) are outlined below. The Competent Authority should ensure that, following the suspicion of fish infected with ISAV on a farm, an official investigation to confirm or rule out the presence of the disease will be carried out as quickly as possible, applying inspection and clinical examination, as well as collection and selection of samples and using the methods for laboratory examination as described in Section 4.

### 7.1. Definition of suspect case (~~HPR-deleted ISAV~~)

Infection with HPR0 or HPR-deleted ISAV shall be suspected if the following criterion is met:

~~ISA or infection with HPR-deleted ISAV would be suspected if at least one of the following criteria is met:~~

i) Positive conventional RT-PCR or real-time RT-PCR result

In addition, infection with HPR-deleted ISAV shall be suspected if one of the following criteria is met:

~~ii) Clinical signs consistent with ISA and/or pathological changes consistent with ISA (Section 4.2) whether or not the pathological changes are associated with clinical signs of disease;~~

~~ii) CPE typical of ISAV in cell cultures Isolation and identification of ISAV in cell culture from a single sample (targeted or routine) from any fish on the farm, as described in Section 4.3.1.2.1;~~

~~iii) Evidence for the presence of ISAV from two independent laboratory tests such as RT-PCR (Section 4.3.1.2.3) and/or (Section 4.3.1.1.2.1) or IHC (Section 4.3.1.1.3.1)~~

iii) Positive IFAT on tissue imprints

Annexe 25 (suite)**7.2. Definition of a confirmed case (HPR-deleted ISAV)**

The presence of HPR-deleted ISAV is considered to be confirmed if, in addition to the criteria in Section 7.1, one or more of the following criteria are met:

- i) ISAV isolation is carried out in cell culture followed by virus identification by either an antibody-based test (IFAT) and/or conventional PCR followed by sequencing of the amplicon;
- ii) ISAV is detected in histological sections by immunoassay using specific anti-ISAV antibodies;
- iii) Detection of ISAV in tissue preparations by conventional PCR followed by sequencing of the amplicon

**~~7.2.1. Definition of confirmed ISA~~**

~~The following criteria should be met for confirmation of ISA: detection of ISAV in tissue preparations by means of specific antibodies against ISAV (IHC on fixed sections [Section 4.3.1.1.3.1] or IFAT on tissue imprints [Section 4.3.1.1.2] or fixed sections as described in Section 4.3.1.1.3) in addition to either:~~

- ~~i) Isolation and identification of ISAV in cell culture from at least one sample from any fish on the farm, as described in Section 4.3.1.2.1~~

~~or~~

- ~~ii) Detection of ISAV by RT-PCR by the methods described in Section 4.3.1.2.3;~~

**~~7.2.2 Definition of confirmed HPR deleted ISAV infection~~**

~~The criteria given in i) or ii) should be met for the confirmation of infection with HPR-deleted ISAV.~~

- ~~i) Isolation and identification of ISAV in cell culture from any fish sample on the farm as described in Section 4.3.1.2.1.~~
- ~~ii) Isolation and identification of ISAV in cell culture from at least one sample from any fish on the farm with corroborating evidence of ISAV in tissue preparations using either RT-PCR (Section 4.3.1.2.3) or IFAT/IHC (Sections 4.3.1.1.2 and 4.3.1.1.3).~~

**7.3. Definition of a confirmed infection with case(HPR0 ISAV)****~~7.3.1. Definition of confirmed infection with HPR0 ISAV~~**

~~The criteria given in i) should be met for the confirmation of HPR0 ISAV infection. The presence of HPR0 ISAV is considered to be confirmed if, in addition to the criteria in Section 7.1, the following criterion is met:~~

- ~~i) Detection of ISAV by RT-PCR followed by independent amplification and sequencing of the HPR region of segment 6 to confirm the presence of HPR0 only.~~

**7.3. Definition of confirmed infection with HPR0 ISAV****7.3.1. Definition of confirmed infection with HPR0 ISAV**

The criteria given in i) should be met for the confirmation of HPR0 ISAV infection.

- i) Detection of ISAV by RT-PCR followed by independent amplification and sequencing of the HPR region of segment 6 to confirm the presence of HPR0 only.
- ii) Detection of ISAV by RT-PCR followed by independent amplification and sequencing of the HPR region of segment 6 to confirm the presence of HPR0 only.

## 8. References

- AAMELFOT M., DALE O.B., WELI S., KOPPANG E.O. & FALK K. (2012). Expression of 4-O-acetylated sialic acids on Atlantic salmon endothelial cells correlates with cell tropism of Infectious salmon anemia virus. *J. Virol.*, **86**, 10571–10578.
- ALDRIN M., LYGSTAD T.M., KRISTOFFERSEN A.B., STORVIK B., BORGAN O. & JANSEN P.A. (2011). Modelling the spread of infectious salmon anaemia among salmon farms based on seaway distances between farms and genetic relationships between infectious salmon anaemia virus isolates. *J.R. Soc. Interface*, **8**, 1346–1356.
- BIACCHESI S., LE BERRE M., LE GUILLOU S., BENMANSOUR A., BREMONT M., QUILLET E. & BOUDINOT P. (2007). Fish genotype significantly influences susceptibility of juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), to waterborne infection with infectious salmon anaemia virus. *J. Fish Dis.*, **30**, 631–636.
- CÁRDENAS C., CARMONA M., GALLARDO A., LABRA A. & MARSHALL S.H. (2014). Coexistence in field samples of two variants of the infectious salmon anemia virus: a putative shift to pathogenicity. *PLoS One*, **9**, e87832. doi: 10.1371/journal.pone.0087832.
- CHRISTIANSEN D.B., McBEATH A.J.A., AAMELFOT M., MATEJUSOVA I., FOURRIER M., WHITE P., PETERSEN P.E. & FALK K. (2017). First field evidence of the evolution from a non-virulent HPR0 to a virulent HPR-deleted infectious salmon anaemia virus. *J. Gen. Virol.*, **98**, 595–606.
- CHRISTIANSEN D.H., ØSTERGAARD P.S., SNOW M., DALE O.B. & FALK K. (2011). A low-pathogenic variant of infectious salmon anemia virus (ISAV1 - HPR0) is highly prevalent and causes a non-clinical transient infection in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in the Faroe Islands. *J. Gen. Virol.*, **92**, 909–918.
- COTTET L., RIVAS-ARAVENA A., CORTEZ-SAN MARTIN M., SANDINO A.M. & SPENCER E. (2011) Infectious salmon anemia virus – genetics and pathogenesis. *Virus Res.*, **155**, 10-19.
- CLOUTHIER S.C., RECTOR T., BROWN N.E.C. & ANDERSON E.D. (2002). Genomic organization of infectious salmon anaemia virus. *J. Gen. Virol.*, **83**, 421–428.
- CUNNINGHAM C.O., GREGORY A., BLACK J., SIMPSON I. & RAYNARD R.S. (2002). A novel variant of the infectious salmon anaemia virus (ISAV) haemagglutinin gene suggests mechanisms for virus diversity. *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.*, **22**, 366–374.
- DANNEVIG, B.H., FALK, K. & NAMORK E. (1995). Isolation of the causal virus of infectious salmon anemia (ISA) in a long-term cell line from Atlantic salmon head kidney. *J. Gen. Virol.*, **76**, 1353–1359.
- DEVOLD M., KARLSEN M. & NYLUND A. (2006). Sequence analysis of the fusion protein gene from infectious salmon anemia virus isolates: evidence of recombination and reassortment. *J. Gen. Virol.*, **87**, 2031–2040.
- DEVOLD M., KROSSOY B., ASPEHAUG V. & NYLUND A. (2000). Use of RT-PCR for diagnosis of infectious salmon anaemia virus (ISAV) in carrier sea trout *Salmo trutta* after experimental infection. *Dis. Aquat. Org.*, **40**, 9–18.
- EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY (EFSA) (2012) EFSA Panel on Animal Health and Welfare (AHAW); Scientific Opinion on infectious salmon anaemia. *EFSA Journal*, **10** (11), 2971.
- FALK K., NAMORK E., RIMSTAD E., MJAALAND S. & DANNEVIG B.H. (1997). Characterization of infectious salmon anemia virus, an orthomyxo-like virus isolated from Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *J. Virol.*, **71**, 9016–9023.
- GAGNÉ N. & LEBLANC F. (2017). Overview of infectious salmon anaemia virus (ISAV) in Atlantic Canada and first report of an ISAV North American-HPR0 subtype. *J. Fish Dis.*, DOI: 10.1111/jfd.12670
- GJØEN H.M., REFSTIE T., ULLA O. & GJERDE B. (1997). Genetic correlations between survival of Atlantic salmon in challenge and field tests. *Aquaculture*, **158**, 277–288.

Annexe 25 (suite)

GUSTAFSON L.L., ELLIS S.K., BEATTIE M.J., CHANG B.D., DICKEY D.A., ROBINSON T.L., MARENGHI F.P., MOFFETT P.J. & PAGE F.H. (2007). Hydrographics and the timing of infectious salmon anemia outbreaks among Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) farms in the Quoddy region of Maine, USA and New Brunswick, Canada. *Prev. Vet. Med.*, **78**, 35–56.

KAWAOKA Y., COX N.J., HALLER O., HONGO S., KAVERIN N., KLENK H.D., LAMB R.A., MCCAULEY J., PALESE P., RIMSTAD E. & WEBSTER R.G. (2005). Infectious Salmon Anaemia Virus. *In: Virus Taxonomy – Eight Report of the International Committee on Taxonomy Viruses*, Fauquet C.M., Mayo M.A., Maniloff J., Desselberger U., Ball L.A., eds. Elsevier Academic Press, New York, USA, pp 681–693.

KIBENGE F.S.B., GARATE O.N. JOHNSON G., ARRIAGADA K., KIBENGE M.J.T. & WADOWAKA D. (2001). Isolation and identification of infectious salmon anaemia virus (ISAV) from Coho salmon in Chile. *Dis. Aquat. Org.*, **45**, 9–18.

KIBENGE F.S.B., GODOY M.G., WANG Y., KIBENGE M.J.T., GHERARDELLI V., MANSILLA S., LISPERGER A., JARPA M., LARROQUETE G., AVENDAÑO F., LARA M. & GALLARDO A. (2009). Infectious salmon anaemia virus (ISAV) isolated from the ISA disease outbreaks in Chile diverged from ISAV isolates from Norway around 1996 and was disseminated around 2005, based on surface glycoprotein gene sequences. *Virology*, **6**, 88.

KIBENGE F.S.B., KIBENGE M.J.T., WANG Y., QIAN B., HARIHARAN S. & MCGEACHY S. (2007). Mapping of putative virulence motifs on infectious salmon anaemia virus surface glycoprotein genes. *J. Gen. Virol.*, **88**, 3100–3111.

KIBENGE F.S.B., MUNIR K., KIBENGE M.J.T., MONEKE T.J. & MONEKE E. (2004). Infectious salmon anemia virus: causative agent, pathogenesis and immunity. *Anim. Health Res. Rev.*, **5**, 65–78.

KULSHRESHTHA V., KIBENGE M., SALONIUS K., SIMARD N., RIVEROLL A. & KIBENGE F. (2010). Identification of the 3' and 5' terminal sequences of the 8 RNA genome segments of European and North American genotypes of infectious salmon anaemia virus (an orthomyxovirus) and evidence for quasispecies based on the non-coding sequences of transcripts. *Virology*, **7**, 338.

LYNGSTAD T.M., HJORTAAS M.J., KRISTOFFERSEN A.B, MARKUSSEN T., KARLSEN E.T., JONASSEN C.M. & JANSEN P.A. (2011). Use of molecular epidemiology to trace transmission pathways for infectious salmon anaemia virus (ISAV) in Norwegian salmon farming. *Epidemics*, **3**, 1–11.

LYNGSTAD T.M., JANSEN P.A., SINDRE H., JONASSEN C.M., HJORTAAS M.J., JOHNSEN S. & BRUN E. (2008). Epidemiological investigation of infectious salmon anaemia (ISA) outbreaks in Norway 2003–2005. *Prev. Vet. Med.*, **84**, 213–227.

LYNGSTAD T.M., KRISTOFFERSEN A. B., HJORTAAS M. J., DEVOLD, M., ASPEHAUG, V., LARSEN, R. B. & JANSEN, P. A. (2012). Low virulent infectious salmon anaemia virus (ISAV-HPR0) is prevalent and geographically structured in Norwegian salmon farming. *Dis. Aquat. Org.*, **101**, 197–206.

MACLEAN S.A., BOUCHARD D.A. & ELLIS S.K. (2003). Survey of non-salmonid marine fishes for detection of infectious salmon anemia virus and other salmonid pathogens. *In: Technical Bulletin 1902. International Response to Infectious Salmon Anemia: Prevention, Control and Eradication*, Miller O. & Cipriano R.C., eds. USDA, APHIS; US Dept Interior, US Geological Survey; US Dept Commerce, National Marine Fisheries Service, Washington DC, USA, 135–143.

MARDONES F.O., MARTINEZ-LOPEZ B., VALDES-DONOSO P., CARPENTER T.E. & PEREZ A.M. (2014). The role of fish movements and the spread of infectious salmon anemia virus (ISAV) in Chile, 2007–2009. *Prev. Vet. Med.*, **114**, 37–46.

MARDONES F.O., PEREZ A.M., VALDES-DONOSO P. & CARPENTER T.E. (2011). Farm-level reproduction number during an epidemic of infectious salmon anaemia virus in southern Chile in 2007–2009. *Prev. Vet. Med.*, **102** (3), 175–184.

MARKUSSEN T., JONASSEN C.M., NUMANOVIC S., BRAAEN S., HJORTAAS M., NILSEN H. & MJAALAND S. (2008). Evolutionary mechanisms involved in the virulence of infectious salmon anaemia virus (ISAV), a piscine orthomyxovirus. *Virology*, **374**, 515–527.

MCBEATH A. J., BAIN N. & SNOW M. (2009). Surveillance for infectious salmon anaemia virus HPR0 in marine Atlantic salmon farms across Scotland. *Dis. Aquat. Org.*, **87**, 161–169.

MARSHALL S.H., RAMÍREZ R., LABRA A., CARMONA M. & MUÑOZ C. (2014). Bona Fide Evidence for Natural Vertical Transmission of Infectious Salmon Anemia Virus in Freshwater Brood Stocks of Farmed Atlantic Salmon (*Salmo salar*) in Southern Chile. *J. Virol.*, **88**, 6012–6018. doi: 10.1128/JVI.03670-13.

MJAALAND S., HUNGNES O., TEIG A., DANNEVIG B.H., THORUD K. & RIMSTAD E. (2002). Polymorphism in the infectious salmon anemia virus hemagglutinin gene; importance and possible implications for evolution and ecology of infectious salmon anemia disease. *Virology*, **302**, 379–391.

MJAALAND S., MARKUSSEN T., SINDRE H., KJOGLUM S., DANNEVIG B.H., LARSEN S. & GRIMHOLT U. (2005). Susceptibility and immune responses following experimental infection of MHC compatible Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) with different infectious salmon anaemia virus isolates. *Arch. Virol.*, **150**, 2195–2216.

MJAALAND S., RIMSTAD E., FALK K. & DANNEVIG B.H. (1997). Genomic characterisation of the virus causing infectious salmon anemia in Atlantic salmon (*Salmo salar* L): an orthomyxo-like virus in a teleost. *J. Virol.*, **71**, 7681–7686.

MULLINS J.E., GROMAN D.B & WADOWSKA D. (1998) Infectious salmon anaemia in salt water Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in New Brunswick, Canada. *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.*, **18**, 110–114.

NYLUND A., PLARRE H., KARLSEN M., FRIDELL F., OTTEM K.F., BRATLAND A., & SAETHER P.A. (2007). Transmission of infectious salmon anaemia virus (ISAV) in farmed populations of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Arch. Virol.*, **152**, 151–179.

OELCKERS K., VIKE S., DUESUND H., GONZALEZ J., WADSWORTH S. & NYLUND A. (2014). *Caligus rogercresseyi* as a potential vector for transmission of Infectious Salmon Anaemia (ISA) virus in Chile. *Aquaculture*, **420–421**, 126–132.

PLARRE H., DEVOLD M., SNOW M. & NYLUND A. (2005). Prevalence of infectious salmon anaemia virus (ISAV) in wild salmonids in western Norway. *Dis. Aquat. Org.*, **66**, 71–79.

RIMSTAD E., DALE O.B., DANNEVIG B.H. & FALK K. (2011). Infectious Salmon Anaemia. *In: Fish Diseases and Disorders, Volume 3: Viral, Bacterial and Fungal Infections*, Woo P.T.K. & Bruno D., eds. CAB International, Oxfordshire, UK, 143–165.

RIVAS-Aravena A., VALLEJOS-VIDAL E., MARTIN M.C., REYES-LOPEZ F., TELLO M., MORA P., SANDINO A.M., SPENCER E. (2011). Inhibitory effect of a nucleotide analog on ISAV infection. *J. Virol.*, **85**, 8037–8045.

SNOW M., MCKAY P., McBEATH A. J. A., BLACK J., DOIG F., KERR R., CUNNINGHAM C. O., NYLUND A. & DEVOLD M. (2006). Development, application and validation of a taqman® real-time RT-PCR assay for the detection of infectious salmon anaemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (*Salmo salar*), Vannier P. & Espeseth D., eds. *New Diagnostic Technology: Applications in Animal Health and Biologics Controls. Dev. Biol.*, Basel, Karger. **126**, 133–145.

THORUD K.E. & DJUPVIK H.O. (1988). Infectious salmon anaemia in Atlantic salmon (*Salmo salar* L). *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.*, **8**, 109–111.

\*  
\* \*

**NB:** There are OIE Reference Laboratories for Infection with infectious salmon anaemia virus (see Table at the end of this *Aquatic Manual* or consult the OIE Web site for the most up-to-date list: <http://www.oie.int/en/our-scientific-expertise/reference-laboratories/list-of-laboratories/> ).

Please contact the OIE Reference Laboratory for any further information on  
Infection with infectious salmon anaemia virus

**NB: FIRST ADOPTED IN 1995 AS INFECTIOUS SALMON ANAEMIA; MOST RECENT UPDATES ADOPTED IN 2014.**



## CHAPTER 2.2.3.

## INFECTION WITH INFECTIOUS HYPODERMAL AND HAEMATOPOIETIC NECROSIS VIRUS

---

[...]

**2.2. Host factors****2.2.1. Susceptible host species**

Species that fulfil the criteria for listing as susceptible to infection with IHNV according to Chapter 1.5. of the *Aquatic Animal Health Code (Aquatic Code)* include: ~~giant river prawn (*Macrobrachium rosenbergii* [under study])~~, yellowleg shrimp (*Penaeus californiensis*), giant tiger prawn (*Penaeus monodon*), northern white shrimp (*Penaeus setiferus*), blue shrimp (*Penaeus stylirostris*), and white leg shrimp (*Penaeus vannamei*).

**2.2.2. Species with incomplete evidence for susceptibility**

Species for which there is incomplete evidence to fulfil the criteria for listing a species as susceptible to infection with IHNV according to Chapter 1.5. of the *Aquatic Code* include: northern brown shrimp (*Penaeus aztecus*).

In addition, pathogen-specific positive polymerase chain reaction (PCR) results have been reported in the following organisms, but an active infection has not been demonstrated: giant river prawn (*Macrobrachium rosenbergii*), northern pink shrimp (*Penaeus duorarum*), western white shrimp (*Penaeus occidentalis*), kuruma prawn (*Penaeus japonicus*), green tiger prawn (*Penaeus semisulcatus*), *Hemigrapsus penicillatus*, Argentine stiletto shrimp (*Artemesia longinaris*), Cuata swimcrab (*Callinectes arcuatus*), Mazatlan sole (*Achirus mazatlanus*), yellowfin mojarra (*Gerres cinereus*), tilapias (*Oreochromis* sp.), Pacific piquitinga (*Lile stolifera*) and blackfin snook (*Centropomus medius*).

[...]



## ÉVALUATION DE LA SENSIBILITÉ DE LA CREVETTE KURUMA (*PENAEUS JAPONICUS*) À LA MALADIE DE NÉCROSE HÉPATOPANCRÉATIQUE AIGÜE AU REGARD DES CRITÈRES FIGURANT AU CHAPITRE 1.5.

Le Groupe *ad hoc* sur la sensibilité des crustacés à l'infection par des maladies de la Liste de l'OIE (ci-après dénommé « le groupe *ad hoc* ») a procédé à l'évaluation de la sensibilité de *Penaeus japonicus* à l'infection par les bactéries responsables de la maladie de nécrose hépatopancréatique aiguë en se fondant sur la publication de Tinwongger *et al.* (2016).

Les critères permettant de déterminer la sensibilité à l'infection par les bactéries responsables de la maladie de nécrose hépatopancréatique aiguë sont précisés dans le tableau 1 (conformément aux dispositions de l'article 1.5.6. du *Code aquatique*). Ces critères sont : la capacité de réplication de l'agent pathogène dans l'hôte (A), la viabilité ou infectiosité de l'agent pathogène (B), les modifications cliniques ou pathologiques induites par l'agent pathogène (C) et la localisation de l'agent pathogène dans les tissus cibles attendus (D). Les hôtes pour lesquels il existe des preuves permettant de satisfaire soit au critère A, soit à au moins deux des critères B, C et D (conformément au point 3 de l'article 1.5.7. du *Code aquatique*) ont été considérés comme étant infectés par les bactéries responsables de la maladie de nécrose hépatopancréatique aiguë.

**Tableau 1.** Critères permettant de déterminer la sensibilité à l'infection par les bactéries responsables de la maladie de nécrose hépatopancréatique aiguë

A : Réplication	B : Viabilité ou infectiosité	C : Modifications cliniques ou pathologiques	D : Localisation de l'agent pathogène dans les tissus
<p>Aspect caractéristique des tissus à l'histologie</p> <p>Mise en évidence de l'augmentation du nombre de copies dans le temps par qPCR et confirmation par PCR/séquençage pour identifier spécifiquement le gène codant pour la toxine Pir</p> <p>Passage successif d'isolats provenant d'un individu dans des individus SPF (exempts d'organismes pathogènes spécifiques) de la même espèce*.</p>	<p>Inoculation unique de l'agent pathogène concerné à un individu SPF de n'importe quelle espèce hôte sensible et confirmation de l'identité de l'agent pathogène**</p>	<p>Apparition rapide des signes cliniques et des mortalités, dès 10 jours après le transfert des crustacés en bassin de stockage. Parmi les signes cliniques figurent la teinte pale, voire blanche, de l'hépatopancréas ainsi que son atrophie, la carapace molle, des intestins partiellement ou totalement vides, des points ou des stries noir(e)s visibles dans la masse de l'hépatopancréas du(e)s à la présence de tubules mélanisés.</p> <p><u>Phase aigüe</u> : cette phase est caractérisée par la dégénérescence massive et progressive des tubules de l'hépatopancréas, depuis leur extrémité proximale à leur extrémité distale. Cela se traduit par un arrondissement puis une desquamation des cellules épithéliales des tubules, qui se déversent par la suite dans la lumière des tubules, puis des canaux collecteurs de l'hépatopancréas et enfin dans la partie postérieure de l'estomac. Les cellules bactériennes sont absentes pendant cette phase.</p> <p><u>Phase terminale</u> : cette phase est caractérisée par une inflammation intratubulaire marquée avec infiltration hémocytaire ainsi que par le développement d'une infection bactérienne secondaire massive, en association avec la nécrose et la desquamation cellulaire des tubules de l'hépatopancréas. ***</p>	<p>Localisation de l'agent pathogène dans les tissus et organes du tractus digestif tels que l'hépatopancréas, l'estomac, l'intestin moyen et le gros intestin.</p>

Note explicative :

\* Pour démontrer par cette méthode que l'agent pathogène se multiplie dans l'hôte, il est nécessaire d'apporter la preuve que l'agent pathogène se maintient au cours de passages successifs dans des hôtes indemnes du pathogène (pour l'agent pathogène cible) appartenant à la même espèce que celle faisant l'objet de l'évaluation.

\*\* Pour démontrer la viabilité ou l'infectiosité de l'agent pathogène cible dans l'hôte faisant l'objet de l'évaluation, un seul passage dans n'importe quelle espèce hôte SPF reconnue comme étant sensible est requis.

\*\*\* En l'absence de résultat à l'histopathologie en phase aigüe, la mise en évidence des signes caractéristiques de la phase terminale demeure insuffisante pour considérer le critère C comme étant satisfait.

Le Groupe *ad hoc* s'est fondé sur les preuves avancées par Tinwongger *et al.* (2016) pour conclure que l'identité de l'agent pathogène avait été confirmée conformément aux dispositions de l'article 1.5.5.

## Annexe 27A (suite)

L'évaluation de la sensibilité des hôtes à l'infection par les bactéries responsables de la maladie de nécrose hépatopancréatique aiguë est fournie par le groupe *ad hoc* dans le tableau 2.

Le groupe *ad hoc* a conclu que *P. japonicus* ne satisfaisait pas aux critères A, B, C ou D (voir le tableau 2). S'agissant du critère C (Modifications cliniques / pathologiques prévues par les dispositions de l'article 1.5.6.), le groupe *ad hoc* a noté que Tinwongger *et al.* (2016) faisait état de mortalités importantes mais n'avait mis en évidence aucune manifestation pathologique spécifique liée à la présence de la maladie de nécrose hépatopancréatique aiguë lors de la comparaison avec le groupe témoin. Le groupe *ad hoc* a considéré que *P. japonicus* était probablement sensible aux effets des toxines homologues aux toxines entomopathogènes de *Photobacterium* (Pir), PirA et PirB, mais que les preuves disponibles n'étaient pas suffisantes pour en faire une démonstration probante. Par conséquent, le groupe *ad hoc* a conclu que le critère C n'était pas satisfait et a indiqué un « non » dans la colonne correspondante.

**Tableau 2. Résultats de l'évaluation de la sensibilité des hôtes à l'infection par les bactéries responsables de la maladie de nécrose hépatopancréatique aiguë**

Genre	Espèce	Étape 1 : voie de transmission*	Étape 2 : identification du gène codant pour la toxine	Étape 3 : preuves de l'infection				Catégorie de résultats**	Références
				A Réplication	B Viabilité ou infectivité	C Modifications cliniques ou pathologiques	D Localisation de l'agent pathogène		
<i>Penaeus</i>	<i>japonicus</i>	E (immersion)	PCR	Non	Non (car indisponibilité des preuves de l'infectivité)	Non	Non	3	Tinwongger <i>et al.</i> (2016)

Types de voies de transmission\* :

N : Infection naturelle

E : Infection expérimentale

Catégories de résultats\*\*:

Résultat 1 : Espèce hôte proposée pour inclusion dans la liste de l'article 9.3.2. du *Code aquatique*.

Résultat 2 : Espèce hôte proposée pour inclusion dans la liste du paragraphe 2.2.2. du chapitre 2.2.1. du *Manuel aquatique* « Species with incomplete evidence for susceptibility ».

Résultat 3 : Espèce hôte proposée pour inclusion dans la liste du paragraphe 2.2.2. du chapitre 2.2.1. du *Manuel aquatique* « Species with incomplete evidence for susceptibility » et pour laquelle des résultats positifs au test PCR visant à détecter cet agent pathogène de façon spécifique ont été obtenus (sans toutefois que la présence d'une infection active ait pu être démontrée).

Le groupe *ad hoc* a conclu que *Penaeus japonicus* ne satisfaisait pas aux critères figurant au chapitre 1.5. et que, par conséquent, cette espèce ne devait pas être incluse dans le *Code aquatique*. Le groupe *ad hoc* a toutefois considéré que la crevette kuruma devait figurer dans le chapitre 2.2.1. du *Manuel aquatique* (dans la liste du paragraphe 2.2.2 « Species with incomplete evidence for susceptibility ») assortie des informations suivantes :

« En outre, il a été rapporté que les espèces suivantes avaient répondu de façon positive au test PCR (polymerase chain reaction) permettant d'identifier de façon spécifique l'agent pathogène mais qu'il n'avait pas été toutefois possible d'obtenir des preuves d'une infection active : la crevette kuruma (*Penaeus japonicus*)».

### Références bibliographiques

TINWONGGER S, NOCHIRI Y, THAWONSUWAN J, NOZAKI R, KONDO H, AWASTHI SP, HINENOYA A, YAMASAKI S, HIRONO I. (2016). Virulence of acute hepatopancreatic necrosis disease PirAB-like relies on secreted proteins not on gene copy number. *J. Appl. Microbiol.*, **121**(6):1755–1765.

## CHAPTER 2.2.X.

## ACUTE HEPATOPANCREATIC NECROSIS DISEASE

---

### 1. Scope

Acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) means infection with strains of *Vibrio parahaemolyticus* ( $V_{pAHPND}$ ) that contain a ~70-kbp plasmid with genes that encode homologues of the *Photobacterium* insect-related (Pir) toxins, PirA and PirB. Although there are reports of the isolation of other *Vibrio* species from clinical cases of AHPND, only  $V_{pAHPND}$  has been demonstrated to cause AHPND.

[...]

### 2.2. Host factors

#### 2.2.1. Susceptible host species

Species that fulfil the criteria for listing as susceptible to AHPND according to Chapter 1.5. of the *Aquatic Code* include: giant tiger prawn (*Penaeus monodon*) and whiteleg shrimp (*Penaeus vannamei*).

#### 2.2.2. Species with incomplete evidence for susceptibility

Species for which there is incomplete evidence to fulfil the criteria for listing a species as susceptible AHPND for susceptibility according to Chapter 1.5. of the *Aquatic Code* include: fleshy prawn (*Penaeus chinensis*).

In addition, pathogen-specific positive polymerase chain reaction (PCR) results have been reported in the following organisms, but an active infection has not been demonstrated: kuruma prawn *Penaeus japonicus*.

---



## Évaluation de l'infection par le virus du tilapia lacustre au regard des nouveaux critères d'inclusion dans la liste des maladies figurant au chapitre 1.2. du *Code aquatique* (édition 2017)

### Évaluation globale

La Commission sanitaire pour les animaux aquatiques a évalué l'infection par le virus du tilapia lacustre (TiLV) au regard des critères d'inclusion dans la liste des maladies figurant à l'article 1.2.2. du *Code aquatique* (édition 2017) (voir le tableau 1 ci-dessous).

**Tableau 1.** Récapitulatif de l'évaluation de l'infection à TiLV au regard des critères d'inclusion

	Critères d'inclusion dans la Liste de l'OIE						Conclusion
	1	2	3	4a	4b	4c	
Virus du tilapia lacustre	+	+	-	NA	+	+	Ne pas inclure dans la Liste de l'OIE

NA = non applicable.

### Contexte

Un nouveau virus semblable aux orthomyxovirus, dénommé virus du tilapia lacustre (TiLV), a été identifié comme étant la cause de mortalités massives de tilapia (Eyngor *et al.*, 2014) aussi bien dans des fermes aquacoles que dans le milieu naturel. Le spectre d'hôtes demeure relativement méconnu bien qu'un certain nombre de tilapinés soit reconnu comme étant sensible (Eyngor *et al.*, 2014). Le tilapia est le deuxième groupe le plus important de poissons d'élevage, après la carpe. La production mondiale de tilapia, majoritairement l'espèce *Oreochromis niloticus*, est estimée à 4,5 millions de tonnes (données FAO). Les élevages sont principalement localisés dans des pays tropicaux et subtropicaux, bien qu'une activité de production en système recirculant ait été mise en place dans d'autres régions. *O. niloticus* a d'abord été introduit dans les pays en développement afin de favoriser l'élevage de subsistance. Désormais, la production commerciale à grande échelle est importante et les produits issus du tilapia font l'objet d'échanges commerciaux internationaux.

### Évaluation de l'infection par le virus du tilapia lacustre conformément aux dispositions de l'article 1.2.2. du *Code aquatique* (édition 2017)

N°	Libellé du critère d'inclusion	Évaluation de l'infection par le TiLV
1	La propagation internationale de l'agent pathogène (via des animaux aquatiques, des produits issus d'animaux aquatiques, des vecteurs ou des matériels contaminés) est probable.	<p>La présence du TiLV a été signalée dans le Taipei Chinois, en Colombie, en Équateur, en Israël (Bacharach <i>et al.</i>, 2016 ; Ferguson <i>et al.</i>, 2014 ; Tsofacket <i>et al.</i>, 2016) et, plus récemment, en Égypte (Fathi <i>et al.</i>, 2017) et en Thaïlande (Dong <i>et al.</i>, 2017). En dépit de l'éloignement géographique existant entre les souches, il a été montré qu'elles étaient extrêmement proches. Cela suggère l'existence d'un lien épidémiologique, et donc d'une propagation du virus au niveau international. Historiquement, les échanges commerciaux internationaux de tilapia avaient comme objectif le développement de l'élevage de ce poisson dans de nouvelles régions. Les échanges commerciaux de tilapia demeurent toujours intenses. Actuellement, le marché international du tilapia est porté par la progression des ventes de souches améliorées d'un point de vue génétique (toutefois, l'organisation de ce marché et le volume d'animaux commercialisés n'ont pas été déterminés dans le cadre de la présente évaluation). Les produits à base de tilapia faisant l'objet d'échanges commerciaux internationaux, le risque de transmission du virus via certains de ces produits ne peut donc pas être écarté. Toutefois, les risques spécifiques n'ont pas été étudiés dans le cadre de la présente évaluation.</p> <p>En raison de l'existence de preuves de la propagation du virus ainsi que de la large distribution du tilapia, la propagation internationale est probable.</p> <p><b>Le critère est satisfait</b></p>

## Annexe 28 (suite)

ET		
2	<p>Au moins un pays peut démontrer l'absence de la <i>maladie</i> sur son territoire ou dans une zone chez les <i>animaux aquatiques</i> sensibles, conformément aux dispositions du chapitre 1.4.</p>	<p>Le tilapia est élevé dans de nombreux pays (d'Asie, d'Afrique et d'Amérique du Sud) et selon des modes de production variés. La présence du TiLV a été signalée dans le Taipei Chinois, en Colombie, en Équateur, en Israël (Bacharach <i>et al.</i>, 2016 ; Ferguson <i>et al.</i>, 2014 ; Tsofacket <i>et al.</i>, 2016) et, plus récemment, en Égypte (Fathi <i>et al.</i>, 2017) et en Thaïlande (Dong <i>et al.</i>, 2017). Toutefois, en raison d'investigations peu poussées de l'ensemble des épisodes de mortalités, il est possible que la distribution géographique du TiLV soit plus large que celle estimée à l'heure actuelle. Par exemple, des épisodes de mortalités de tilapia signalés au Ghana et en Zambie en 2016 n'ont pas été attribués au TiLV mais les informations disponibles n'indiquent pas si la présence du virus a été recherchée. La production de tilapia est également importante dans d'autres pays qui ne rapportent pas de mortalités inexpliquées. Par conséquent, il est probable que certains pays demeurent indemnes de la maladie.</p> <p><b>Le critère est satisfait</b></p>
ET		
3	<p>Une <i>définition de cas</i> précise est disponible et il existe une méthode fiable de détection et de <i>diagnostic</i>.</p>	<p>Un virus a été isolé de poissons malades. Après caractérisation de son génome, le virus a été classé comme étant un nouveau orthomyxovirus (Eyngor <i>et al.</i>, 2014). L'hybridation <i>in situ</i> montre que l'agent pathogène est présent au niveau des lésions (Eyngor <i>et al.</i>, 2014). La cohabitation entre poissons infectés et poissons non exposés au virus a mis en évidence une transmission virale par voie hydrique, les animaux nouvellement contaminés développant alors une forme létale de la maladie (le taux de mortalité relevé était similaire à celui des taux observés lors d'une injection létale du virus) (Eyngor <i>et al.</i>, 2014).</p> <p>Le TiLV peut être mis en culture sur des cellules primaires de cerveau de tilapia ou sur une lignée cellulaire E-11. Les effets cytopathogènes du virus sont visibles en 5 à 10 jours (Eyngor <i>et al.</i>, 2014). Une amorce de PCR a été mise au point. Il n'est toutefois pas certain qu'elle puisse détecter l'ensemble des souches de ce virus (Eyngor <i>et al.</i>, 2014).</p> <p>Une méthode de RT-PCR emboîtée, beaucoup plus sensible, a fait l'objet d'une publication et s'avère adaptée pour la détection du TiLV chez des cas cliniques (Tsofack <i>et al.</i>, 2016).</p> <p>Plus récemment, une méthode de RT-PCR semi-emboîtée présentant une meilleure sensibilité de détection (7,5 copies du génome viral par réaction) par rapport à la méthode RT-PCR emboîtée a fait l'objet d'une publication (Dong <i>et al.</i>, 2017). Toutefois, des informations complémentaires sur la validation de ces essais sont requises afin de déterminer si ce critère est satisfait.</p> <p><b>Le critère n'est pas satisfait</b></p>

ET			
4	a)	La transmission naturelle à l'homme a été prouvée, et la présence de l'infection chez l'homme est associée à des conséquences graves.	Non applicable.
OU			
4	b)	Lorsqu'elle apparaît, il est prouvé que la <i>maladie</i> affecte la santé des animaux aquatiques d'élevage à l'échelle d'un pays ou d'une zone, avec de lourdes conséquences telles que, par exemple, des pertes de production, une morbidité ou une mortalité constatées au niveau du pays ou de la zone.	Des niveaux de mortalités très élevés (> 80 %) ont été observés dans les populations touchées, qu'elles soient d'élevage ou sauvages (Bacharach <i>et al.</i> , 2016; Ferguson <i>et al.</i> , 2014, Gophen <i>et al.</i> , 2015). La diminution des prises de tilapins en mer de Galilée, en particulier de <i>Sarotherodon (Tilapia) galilaeus</i> , a été observée depuis 2007. Dong <i>et al.</i> (2017) ont rapporté un taux de mortalité d'approximativement 90 % chez des alevins de <i>Oreochromis spp.</i> , dès le premier mois d'élevage en cage. Depuis 2009, des épisodes de mortalités de tilapia ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) ont été enregistrés dans les fermes aquacoles en Israël sur l'ensemble du territoire (Eyngor <i>et al.</i> , 2014). Des mortalités observées chez <i>O. niloticus</i> en Équateur ont également été attribuées au TiLV (Ferguson <i>et al.</i> , 2014). Les pertes sont significatives au niveau régional comme au niveau national. <b>Le critère est satisfait</b>
OU			
4	c)	On a montré la présence de la <i>maladie</i> ou on dispose d'éléments de preuve scientifiques indiquant que la maladie affecterait la santé des <i>animaux aquatiques</i> sauvages avec de lourdes conséquences telles que, par exemple, une morbidité ou une mortalité à l'échelle de la population, une baisse de productivité ou des répercussions sur l'écologie.	Des niveaux de mortalités très élevés (> 80 %) ont été observés dans les populations touchées, qu'elles soient d'élevage ou sauvages (Bacharach <i>et al.</i> , 2016; Ferguson <i>et al.</i> , 2014, Gophen <i>et al.</i> , 2015). La diminution des prises de tilapias en mer de Galilée, en particulier de <i>Sarotherodon (Tilapia) galilaeus</i> , a été observée depuis 2007. Depuis 2009, des épisodes de mortalités de tilapia ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) ont été enregistrés dans les fermes aquacoles en Israël sur l'ensemble du territoire (Eyngor <i>et al.</i> , 2014). Des mortalités observées chez <i>O. niloticus</i> en Équateur ont également été attribuées au TiLV (Ferguson <i>et al.</i> , 2014). Les pertes sont significatives au niveau régional comme au niveau national. <b>Le critère est satisfait</b>

### Conclusion

TiLV satisfait aux critères 1, 2, 4b et 4c.

Le virus peut être mis en culture mais aucun test de détection des anticorps ou des acides nucléiques visant à confirmer son identité n'a, à ce jour, fait l'objet d'une validation suffisante. Un kit d'amorces est disponible mais il n'est pas certain qu'il puisse permettre la détection de l'ensemble des souches virales. Par conséquent, la confirmation de l'identité du virus nécessite un séquençage génétique. Il n'est donc pas possible de conclure qu'une méthode pratique et reproductible de diagnostic est actuellement disponible (le critère 3 n'est donc pas satisfait).

La maladie ne satisfait pas aux critères d'inclusion dans la Liste des maladies de l'OIE figurant au chapitre 1.2.

**Références bibliographiques**

- Bacharach, E., Mishra, N., Briese, T., Zody, M. C., Kembou Tsofack, J. E., Zamostiano, R., Lipkin, W. I. (2016). Characterization of a Novel Orthomyxo-like Virus Causing Mass Die-Offs of Tilapia. *mBio*, 7(2), e00431–16. <http://doi.org/10.1128/mBio.00431-16>
- Bwalya1, P. *et al.* (2016). Use of DNA sequencing to map *Streptococcus agalactiae* and *Streptococcus iniae* infections in farmed Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) on Lake Kariba in Zambia. [http://www.frontiersin.org/Community/AbstractDetails.aspx?ABS\\_DOI=10.3389/conf.FVETS.2016.02.00052&eid=3567&sname=AquaEpi\\_I\\_-\\_2016](http://www.frontiersin.org/Community/AbstractDetails.aspx?ABS_DOI=10.3389/conf.FVETS.2016.02.00052&eid=3567&sname=AquaEpi_I_-_2016)
- Dong, H.T., Siriroob, S., Meemetta, W., Santimanawong, W., Gangnonngiw, W., Pirarat, N., Khunrae, P., Rattanarojpong, T., Vanichviriyakit, R., Senapin, S (2017), Emergence of tilapia lake virus in Thailand and an alternative semi-nested RT-PCR for detection. *Aquaculture*, advance online publication oi: 10.1016/j.aquaculture
- Eyngor, M., Zamostiano, R., Tsofack, J. E. K., Berkowitz, A., Bercovier, H., Tinman, S., ... Eldar, A. (2014). Identification of a novel RNA virus lethal to tilapia. *Journal of Clinical Microbiology*, 52(12), 4137–4146. <http://doi.org/10.1128/JCM.00827-14>.
- Fathi, M., Dickson, C., Dickson, M., Leschen, W., Baily, J., Muir, F., Ulrich, K., & Weidmann, M. (2017). Identification of Tilapia Lake Virus in Egypt in Nile tilapia affected by 'summer mortality' syndrome. *Aquaculture* Vol. 472, 430–432.
- Ferguson, H. W., Kabuusu, R., Beltran, S., Reyes, E., Lince, J. A., & del Pozo, J. (2014). Syncytial hepatitis of farmed tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.): A case report. *Journal of Fish Diseases*, 37(6), 583–589. <http://doi.org/10.1111/jfd.12142>.
- Gophen, M., Sonin, Oren, Lev, Menachem, Snovsky, G. (2015). Regulated Fishery Is Beneficial for the Sustainability of Fish Population in. *Open Journal of Ecology*, 5(October), 513–527. Retrieved from [http://file.scirp.org/pdf/OJE\\_2015102614545417.pdf](http://file.scirp.org/pdf/OJE_2015102614545417.pdf)
- Tsofack, J. E. K., Zamostiano, R. Watted, S., Berkowitz, E., Mishra, N., Briese, T., Lipkin, W.I., Kabuusu, R.M., Ferguson, H., del Pozo, J., Eldar, A., and Bacharach, E. (2016) Detection of Tilapia Lake Virus (TiLV) in Clinical Samples by Culturing and Nested RT-PCR. *J. Clin. Microbiol.* JCM.01808-16; Accepted manuscript posted online 14 December 2016, doi:10.1128/JCM.01808-16.



**WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH**  
Protecting animals, preserving our future

## BATRACHOCHYTRIUM SALAMANDRIVORANS

### INFORMATION SUR L'AGENT PATHOGÈNE

#### 1. AGENT CAUSATIF

##### 1.1. Type d'agent pathogène

Champignon.

##### 1.2. Nom de la maladie et synonymes

Infection à *Batrachochytrium salamandrivorans*.

##### 1.3. Noms vernaculaires de l'agent pathogène et synonymes

*B. salamandrivorans*, Bsal

##### 1.4. Affiliation taxonomique

*Batrachochytrium salamandrivorans* (règne des Mycètes, embranchement des Chytridiomycota, ordre des Rhizophydiales, genre des *Batrachochytrium*).

##### 1.5. Autorité (première description scientifique, référence)

*B. salamandrivorans* a été identifié pour la première fois en 2013 à la suite des déclinés importants de populations de salamandres tachetées européennes (*Salamandra salamandra*) observés aux Pays-Bas (Martel *et al.*, 2013).

##### 1.6. Environnement de l'agent pathogène (eau douce, eau saumâtre ou eau de mer)

Eau douce.

#### 2. MODES DE TRANSMISSION

##### 2.1. Modes de transmission (horizontal, vertical, indirect)

La transmission de l'agent pathogène est horizontale. Il peut persister dans l'environnement sous forme de spores mobiles ou non mobiles (Stegen *et al.*, 2017). L'importance, d'un point de vue épidémiologique, du contact direct entre animaux n'est pas connue.

##### 2.2. Réservoir

En se fondant sur les observations réalisées chez *Batrachochytrium dendrobatidis*, il est attendu que les spores non mobiles et résistantes puissent survivre dans l'eau et le sol (Johnson et Speare, 2003). Les individus survivant à la maladie peuvent demeurer infectés de façon permanente (Martel *et al.*, 2013; Martel *et al.*, 2014).

##### 2.3. Facteurs de risque (température, salinité, etc.)

Les températures les plus propices au développement de *B. salamandrivorans* sont proches de 15 °C (Martel *et al.*, 2013). Il a été montré de façon expérimentale qu'à des températures supérieures à 25 °C, *B. salamandrivorans* ne colonisait pas la peau des salamandres (Bloom *et al.*, 2015a).

Les zoospores nagent activement dans l'eau. Le champignon est dépendant du milieu aquatique et la dessiccation est fatale à toutes les phases de son cycle de vie (EFSA, 2017).

#### 3. ESPÈCES HÔTES

##### 3.1. Espèces sensibles

Le spectre d'hôtes de *B. salamandrivorans* est étendu et non totalement caractérisé à ce jour. Il a été montré que 14 espèces d'amphibiens y étaient sensibles (EFSA 2017).

L'infection à *B. salamandrivorans* a également été rapportée chez plusieurs espèces sauvages, captives ou conservées dans un musée (Martel *et al.*, 2014; Spitzen van der Sluijs *et al.*, 2016).

##### 3.2. Stade de développement de l'hôte affecté par la maladie

Aucun travail de recherche sur la sensibilité de l'hôte observée pour chacun de ses différents stades de développement n'a été publié. Il n'existe pas non plus de rapports sur les stades de développement au cours desquels l'hôte serait résistant.

#### 4. DISTRIBUTION GÉOGRAPHIQUE

*B. salamandrivorans* a été détecté pour la première fois aux Pays-Bas en 2013. Par la suite, sa présence a été détectée en plusieurs lieux situés dans des régions proches de la Belgique, en 2013 et 2014 (Martel *et al.*, 2014). Le champignon a également été identifié dans des populations captives de salamandres et de tritons en Allemagne (Spitzen-van der Sluijs *et al.*, 2016) et au Royaume-Uni (Cunningham *et al.*, 2015).

Il est suspecté que *B. salamandrivorans* soit originaire de l'Asie du Sud-Est, avec une distribution au Japon, Thaïlande et Vietnam, pays dans lesquels le champignon a été identifié (Laking *et al.*, 2017; Martel *et al.*, 2014).

En dehors de l'Europe, *B. salamandrivorans* infecte certaines espèces de tritons endémiques en Asie. Toutefois, le champignon ne semble pas être à l'origine de maladie grave ou de mortalités importantes chez ces espèces. Les éléments de preuve disponibles suggèrent fortement que *B. salamandrivorans* est endémique en Asie et que les espèces originaires de cette région pourraient jouer un rôle de réservoir de la maladie (Laking *et al.*, 2017).

#### 5. SIGNES CLINIQUES ET DESCRIPTION DE CAS

##### 5.1. Tissus et organes infectés chez l'hôte

L'organe cible de l'infection est la peau (Martel *et al.*, 2013; Gray *et al.*, 2015).

##### 5.2. Observations et lésions macroscopiques

*B. salamandrivorans* est un parasite des cellules de l'épiderme des salamandres chez lesquelles il provoque des ulcérations cutanées. Ces altérations importantes de l'épiderme affectent les fonctions vitales de la peau et ont pour conséquence la mort des espèces sensibles en deux à trois semaines (Martel *et al.*, 2013; Gray *et al.*, 2015; Laking *et al.*, 2017).

Les signes cliniques associés à la présence d'un champignon appartenant au genre *Batrachomyces* sont généralement variables et non pathognomiques. Toutefois, il convient de noter que les lésions causées par *B. salamandrivorans* (des ulcérations cutanées marquées) diffèrent de celles habituellement causées par *B. dendrobatidis* (hyperplasie et hyperkératose de l'épiderme) (Martel *et al.*, 2013 et 2014). Par conséquent, la présence seule de signes cliniques est insuffisante pour poser un diagnostic.

### 5.3. Lésions microscopiques et anomalies tissulaires

Les lésions histopathologiques observées sont des ulcérations cutanées associées à la présence d'un nombre très élevé de thalles coloniaux de *B. salamandrivorans* (Martel *et al.*, 2013).

### 5.4. Statut au regard de la Liste des maladies de l'OIE

L'infection à *B. salamandrivorans* figure dans la liste des maladies de l'OIE depuis 2017 (voir chapitre 1.3. du *Code sanitaire pour les animaux aquatiques*) (OIE, 2017).

## 6. IMPORTANCE SOCIALE, ÉCONOMIQUE ET ENVIRONNEMENTALE

Les amphibiens font partie des espèces animales les plus communément commercialisées dans de nombreuses régions du globe (Smith *et al.*, 2009 ; Nijman, 2010). Toutefois, il a été rapporté que l'essentiel du commerce des amphibiens demeurerait non déclaré et non réglementé (Rowley *et al.*, 2016).

Les investigations effectuées par Martel *et al.* (2013) ont clairement démontré que la présence de *B. salamandrivorans* causait la maladie des salamandres tachetées aux Pays-Bas. Les observations sur le terrain et les études expérimentales indiquent que le taux de létalité avoisine les 100 %. Entre 2010 et 2013, la population de salamandres tachetées des Pays-Bas a été réduite de 96 %.

La maladie pourrait avoir des répercussions négatives sur de nombreuses populations d'amphibiens. Yap *et al.* (2015) ont réalisé des travaux de modélisation destinés à apprécier l'impact vraisemblable qu'aurait *B. salamandrivorans* en Amérique du Nord et en ont conclu que son introduction constituerait une sérieuse menace pour la biodiversité.

*B. salamandrivorans* peut affecter de façon néfaste et significative (jusqu'à l'extinction) les niveaux de populations chez de nombreuses espèces d'amphibiens (Yap *et al.*, 2015).

## 7. IMPORTANCE ZOONOTIQUE

Aucune.

## 8. MÉTHODES DE DIAGNOSTIC

### 8.1. Définition d'une suspicion de cas

Des niveaux de mortalité élevés au sein des populations d'amphibiens qui présentent ou non des érosions cutanées.

### 8.2. Test de présomption

Un diagnostic présomptif peut être réalisé en se fondant sur l'histologie et l'identification des lésions cutanées caractéristiques et des thalles coloniaux (Martel *et al.*, 2013). De ce fait, cette méthode n'est valable que pour le diagnostic d'animaux présentant des signes cliniques.

### 8.3. Tests de confirmation

Le diagnostic peut être confirmé par PCR ou par culture.

Actuellement, la méthode de diagnostic la plus fiable et la plus largement utilisée pour la détection de *B. salamandrivorans* est la qPCR (quantitative Polymerase Chain Reaction) (Bloo *et al.*, 2013).

En outre, Bloo *et al.* (2013) ont développé un protocole de PCR en temps réel duplex (Duplex Real-Time PCR) qui permet la détection et la quantification simultanées de *B. dendrobatidis* and *B. salamandrivorans* dans les échantillons prélevés sur les amphibiens.

Les techniques d'isolement du champignon en culture présentent une faible sensibilité (Martel *et al.*, 2014).

## 9. MÉTHODES DE CONTRÔLE

Un protocole de traitement destiné aux salamandres infectées a été développé (Bloo *et al.*, 2015a ; Bloo *et al.*, 2015b). Il a été démontré que l'infection chez des salamandres ayant été exposées à des températures proches de 25 °C pendant dix jours avait été éliminée. Toutefois, la marge existant entre la température requise pour éliminer *B. salamandrivorans* et la température critique supérieure tolérée par la plupart des urodèles est étroite (Bloo *et al.*, 2015a). Un autre traitement, tout aussi efficace, consiste en l'administration d'une combinaison d'antibiotiques. Ce traitement est toutefois réservé aux animaux maintenus en captivité ou capturés.

Le commerce de salamandres est considéré comme le probable responsable de l'apparition de *B. salamandrivorans* dans de nouvelles régions géographiques (Yap *et al.*, 2015 ; Grant *et al.*, 2016). Les restrictions de mouvements, en vue de limiter l'introduction de l'agent pathogène ainsi que sa détection précoce, au moyen de la surveillance des zones présentant un risque élevé, doivent être mises en place afin de lutter contre son invasion.

## 10. RISQUE DE TRANSMISSION

La transmission horizontale de *B. salamandrivorans* par cohabitation a été mise en évidence. Il est donc probable que la transmission de la maladie s'effectue lors de mouvements d'animaux aquatiques vivants.

Le commerce international de salamandres et de tritons est considéré comme le principal responsable de la propagation mondiale de *B. salamandrivorans* (Martel *et al.*, 2014 ; Stephen *et al.*, 2015 ; Cooper, 2016 ; RAVON Reptielen Amfibieën Onderzoek Nederland 2016 ; U.S. Fish & Wildlife Service 2016). En Europe, les amateurs de ces animaux n'hésitent pas à traverser les frontières pour participer à des manifestations terrariophiles, ce qui constitue un risque potentiel en termes de propagation de l'agent pathogène, difficile à contrôler.

Il est probable que des densités élevées d'animaux, qui provoquent un stress chez les individus et affaiblissent leur système immunitaire, favorisent la propagation de *B. salamandrivorans* (Rachowicz *et al.*, 2005 ; Rowley *et al.*, 2007 ; Rollins-Smith *et al.*, 2011 in: U.S. Fish & Wildlife Service, 2016). L'élimination inadéquate des eaux contaminées ou le matériel de transport des salamandres peut également être à l'origine de l'introduction de *B. salamandrivorans* dans l'environnement (Stephen *et al.*, 2015 ; U.S. Fish & Wildlife Service, 2016). La libération intentionnelle de salamandres non indigènes (souvent utilisées comme des appâts pour la pêche) ou leur fuite accidentelle des installations où elles sont maintenues captives, pourrait également favoriser l'introduction et l'établissement de *B. salamandrivorans* dans les populations de salamandres sauvages (Picco et Collins, 2008 ; Krysko *et al.*, 2011 in: U.S. Fish & Wildlife Service, 2016).

Le fait que les salamandres puissent provenir soit du milieu naturel soit d'élevages en captivité (élevages professionnels, éleveurs amateurs, professionnels de la filière de l'animal de compagnie, etc.) est un aspect à prendre en compte lors de l'évaluation de la faisabilité de la mise en place de mesures de restrictions au commerce.

Dans le cas de *B. dendrobatidis*, il est nécessaire de considérer comme contaminés l'eau et les matériaux utilisés lors du transport (par exemple, les substrats humides et les emballages) et de les traiter à des fins de quarantaine (Johnson et Speare, 2003). Il convient également d'appliquer cette mesure à *B. salamandrivorans*.

## R É F É R E N C E S

- Blooi, M., Pasmans, F., Longcore JE, Spitzen-van der Sluijs A, Vercammen F & Martel A, (2013). Duplex real-time PCR for rapid simultaneous detection of *Batrachochytrium dendrobatidis* and *Batrachochytrium salamandrivorans* in amphibian samples. *Journal of Clinical Microbiology*, 51, 4173-4177. doi: 10.1128/jcm.02313-13
- Blooi, M., Martel, A., Haesebrouck, F., Vercammen, F., Bonte, D. & Pasmans, F. (2015a). Treatment of urodelans based on temperature dependent infection dynamics of *Batrachochytrium salamandrivorans*. *Scientific Reports* 5, 8037
- Blooi, M., Pasmans, F., Rouffaer, L., Haesebrouck, F., Vercammen, F., & Martel, A. (2015b). Successful treatment of *Batrachochytrium salamandrivorans* infections in salamanders requires synergy between voriconazole, polymyxin E and temperature. *Scientific Reports*, 5, 11788. <http://doi.org/10.1038/srep11788>
- Cooper, E.W.T. (2016). Current trade patterns into Canada regarding introduction of fungus *Batrachochytrium salamandrivorans*. *Environment and Climate Change Canada*, Ottawa, Canada
- Cunningham, A. A., Beckmann, K., Perkins, M., Fitzpatrick, L., Cromie, R., Redbond, J., O'Brien, M. F., Ghosh, P., Shelton, J. & Fisher, M. C. (2015). Emerging disease in UK amphibians. *Veterinary Record*: 176:468
- EFSA (European Food Safety Authority), Baláz V, Gortázar Schmidt C, Murray K, Carnesecchi E, Garcia A, Gervelmeyer A, Martino L, Munoz Guajardo I, Verdonck F, Zancanaro G & Fabris C. (2017). Scientific and technical assistance concerning the survival, establishment and spread of *Batrachochytrium salamandrivorans* (Bsal) in the EU. *EFSA Journal* 2017;15(2):4739.
- Grant, E.H.C., Muths E., Katz R.A., Canessa S., Adam M.J., Ballard J.R., Berger L, Briggs C.J., Coleman J., Gray M.J., Harris M.C., Harris R.N., Hossack B., Huyvaert K.P., Kolby J.E., Lips K.R., Lovich R.E., McCallum H.I., Mendelson J.R. III, Nanjappa P., Olson D.H., Powers J.G., Richgels K.L.D., Russell R.E., Schmidt B.R., Spitzen-van der Sluijs A., Watry M.K., Woodhams D.C. & White C.L., (2016). Salamander chytrid fungus (*Batrachochytrium salamandrivorans*) in the United States—Developing research, monitoring, and management strategies: U.S. Geological Survey Open-File Report 2015–1233, 16 p., <http://dx.doi.org/10.3133/ofr20151233.2016a>.
- Gray, M. J., Lewis, J. P., Nanjappa, P., Klocke, B., Pasmans, F., Martel, A., Stephen, C., Olea, G. S., Smith, S. A., Sacerdote-Velat, A., Christman, m. R., Williams, J. M. & Olson, D. H. (2015). *Batrachochytrium salamandrivorans*: the North American response and a call for action. *Plos Pathogens* 11, e1005251. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005251>
- Johnson M. L. & Speare R. (2003). Survival of *Batrachochytrium dendrobatidis* in Water: Quarantine and Disease Control Implications. *Emerging Infectious Diseases*, 9(8), 922–925. <http://doi.org/10.3201/cid0908.030145>
- Krysko, K.L., Burgess, J.P., Burgess, M.R., Gillette, C.R., Cueva, D., Enge, K.M., Somma, L.A., Stabile, J.L., Smith, D.C. & Wasilewski, J.A. (2011). Verified non-indigenous amphibians and reptiles in florida from 1863 through 2010: Outlining the invasion process and identifying invasion pathways and stages. 1-64 pp.
- Laking, A. E., Ngo, H. N., Pasmans, F., Martel, A., & Nguyen, T. T. (2017). *Batrachochytrium salamandrivorans* is the predominant chytrid fungus in Vietnamese salamanders. *Scientific Reports*, 7, 44443. <http://doi.org/10.1038/srep44443>
- Martel A, Spitzen-van der Sluijs A, Blooi M, Bert W, Ducatelle R, Fisher MC, Woeltjes A, Bosman W, Chiers K, Bossuyt F & Pasmans, F, (2013). *Batrachochytrium salamandrivorans* sp nov causes lethal chytridiomycosis in amphibians. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* (PNAS), 110, 15325-15329. doi: 10.1073/pnas.1307356110
- Martel, A., Blooi, M., Adriaensen, C., Van Rooij, P., Beukema, W., Fisher, M. C. & Pasmans, F. (2014). Recent introduction of a chytrid fungus endangers Western Palearctic salamanders. *Science*, 346 (6209), 630–631. <http://doi.org/10.1126/science.1258268>
- Nijman, V. (2010). An overview of international wildlife trade from Southeast Asia. *Biodiversity and Conservation*, 19(4): 1101–1114.
- OIE. (2017). *Aquatic Animal Health Code* (20th ed.). Paris: OIE. Retrieved from <http://www.oie.int/international-standard-setting/aquatic-code/access-online/>
- Picco, A.M. and Collins, J.P. 2008. Amphibian commerce as a likely source of pathogen pollution. *Conservation Biology*, 22(6): 1582–1589.
- Rachowicz, L.J., Hero, J.M., Alford, R.A., Taylor, J.W., Morgan, J.A.T., Vredenburg, V.T., Collins, J.P. & Briggs, C.J. (2005). The novel and endemic pathogen hypotheses: competing explanations for the origin of emerging infectious diseases of wildlife. *Conservation Biology*, 19(5): 1441–1448.
- RAVON Reptielen Amfibieën Onderzoek Nederland 2016. Bsal. Available at: <http://www.ravon.nl/English/Research/Bsal/tabid/3820/Default.aspx#5>. [Accessed: 26/05/2016].
- Rollins-Smith, L.A., Ramsey, J.P., Pask, J.D., Reinert, L.K. & Woodhams, D.C. (2011). Amphibian immune defenses against chytridiomycosis
- Rowley, J.J.L., Chan, S.K.F., Wing, S.T., Speare, R., Skerratt, L.F., Alford, R.A., Ka, S.C., Ching, Y.H. & Campbell, R. (2007). Survey for the amphibian chytrid *Batrachochytrium dendrobatidis* in Hong Kong in native amphibians and in the international amphibian trade. *Diseases of Aquatic Organisms*, 78(2): 87–95.
- Rowley, J.J.L., Shepherd, C.R., Stuart, B.L., Nguyen, T.Q., Hoang, H.D., Cutajar, T.P. Wogan, G.O.U. & Phimmachak, S. (2016). Estimating the global trade in Southeast Asian newts. *Biological Conservation*, 199: 96-100.

- Smith, K. F., Behrens, M., Schloegel, L. M., Marano, N., Burgiel, S. & Daszak, P. (2009). Reducing the risks of the wildlife trade. *Science*, 324: 594- 595.
- Spitzen-van der Sluijs, A., Martel, A., Asselberghs, J., Bales, E. K., Beukema, W., Bletz, M. C., Dalbeck, L., Goverse, E., Kerres, A., Kinet, T., Kirst, K., Ladelout, A., Marin da Fonte, L. F., Nöllert, A., Ohlhoff, D., Sabino-Pinto, J., Schmidt, B. R., Speybroek, J., Spikmans, F., Steinfartz, S., Veith, M., Vences, M., Wagner, N., Pasmans, F. & Lötters, S. (2016). Expanding Distribution of Lethal Amphibian Fungus *Batrachochytrium salamandrivorans* in Europe. *Emerging Infectious Diseases*, 22(7), 1286–1288. <http://doi.org/10.3201/eid2207.160109>
- Stegen, G., Pasmans, F., Schmidt, B. R., Rouffaer, L. O., Van Praet, S., Schaub, M., Canessa, S., Laudelout, A., Kinet, T., Adriaensen, C., Haesebrouck, F., Bert, W., Bossuyt, F. & Martel, A. (2017). Drivers of salamander extirpation mediated by *Batrachochytrium salamandrivorans*, *Nature*, 544(7650), 353–356.
- Stephen, C., Forzan, M.J., Redford, T. & Zimmer, M. (2015). *Batrachochytrium salamandrivorans*, a threat assessment of salamander chytrid disease. The Canadian Wildlife Health Cooperative. 30 pp
- U.S. Fish & Wildlife Service (2016). Injurious wildlife species; listing salamanders due to risk of salamander chytrid fungus. Federal Register, 81(8): 1534–1556.
- Yap, A., Michelle S. Koo, Richard F. Ambrose, David B. Wake, & V. T. V. (2015). Averting a North American biodiversity crisis. *Science*, 349, 6247–6248.



Organisation  
Mondiale  
de la Santé  
Animale

World  
Organisation  
for Animal  
Health

Organización  
Mundial  
de Sanidad  
Animal

Original : anglais  
Août 2017

**RAPPORT DE RÉUNION DU GROUPE AD HOC DE L'OIE  
SUR LA SENSIBILITÉ DES ESPÈCES DE POISSONS  
À L'INFECTION PAR DES MALADIES DE LA LISTE DE L'OIE**

**Paris, 25 - 27 avril 2017**

---

Le Groupe *ad hoc* de l'OIE sur la sensibilité des espèces de poissons à l'infection par des maladies de la liste de l'OIE (le groupe *ad hoc*) s'est réuni, pour la seconde fois, au siège de l'OIE, du 25 au 27 avril 2017. (Il convient de noter que le rapport de la première réunion de ce groupe *ad hoc*, qui s'est tenue du 17 au 19 janvier 2017, n'a pas été publié.)

La liste des participants ainsi que les termes de référence figurent respectivement aux annexes I et II.

La docteure Gillian Mylrea, adjointe au chef du service des normes, a accueilli les membres du groupe *ad hoc* participant à cette seconde réunion et les a remerciés d'avoir accepté de travailler sur cet important sujet.

Le président du groupe *ad hoc*, le docteur Marc Crane, a rappelé que l'objectif de cette réunion était d'une part de finaliser les évaluations commencées lors de la précédente réunion pour l'infection par le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique, l'infection à *Gyrodactylus salaris* (*G. salaris*) ainsi que l'infection par l'herpès-virose de la carpe et d'autre part d'initier les travaux d'évaluation pour l'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon. Il a expliqué que le groupe *ad hoc* avait l'intention d'appliquer ces critères à l'ensemble des maladies des poissons de l'OIE, mais de façon progressive, ce qui nécessiterait l'organisation ultérieure de plusieurs autres réunions pour achever cette tâche. À l'issue de la présente réunion, le groupe *ad hoc* a été en mesure de finaliser les évaluations pour l'infection par le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique, l'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon et l'infection à *G. salaris*.

Le groupe *ad hoc* a appliqué l'approche en trois étapes décrite à l'article 1.5.3. du chapitre 1.5. du *Code sanitaire pour les animaux aquatiques (Code aquatique)* afin d'évaluer la sensibilité des espèces à une infection par un agent pathogène spécifique. Les critères d'inclusion dans la liste des espèces sensibles à une infection par un agent pathogène spécifique figurant dans le *Code aquatique* sont les suivants :

1. critères permettant de déterminer si la voie de transmission correspond aux voies de transmission naturelle de l'infection (tels que décrits à l'article 1.5.4.) ;
2. critères permettant de déterminer si l'agent pathogène a été identifié de façon adéquate (tels que décrits à l'article 1.5.5.) ;
3. critères permettant de déterminer si les preuves de la présence de l'agent pathogène suffisent pour conclure à l'infection (tels que décrits à l'article 1.5.6.).

Le groupe *ad hoc* proposera d'inclure dans l'article 10.X.2. des chapitres traitant des maladies concernées du *Code aquatique* les espèces hôtes qui auront été évaluées comme étant sensibles (conformément à l'article 1.5.7.).

Le groupe *ad hoc* proposera d'inclure dans le nouveau paragraphe 2.2.2 « Species with incomplete evidence for susceptibility » du *Manuel des tests de diagnostic pour les animaux aquatiques (Manuel aquatique)* les espèces hôtes pour lesquelles les preuves permettant de démontrer la sensibilité ont été jugées insuffisantes (conformément à l'article 1.5.8. du *Code aquatique*).

Annexe 30 (suite)

Les évaluations détaillées réalisées par le groupe *ad hoc* pour chaque agent pathogène sont présentées dans les annexes III à V.

Maladie	Numéro d'annexe
Infection par le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique	Annexe III
Infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon	Annexe IV
Infection à <i>Gyrodactylus salaris</i>	Annexe V

Le groupe *ad hoc* a souhaité formuler les remarques suivantes :

1. Dans plusieurs des anciennes publications, l'identification précise de l'agent pathogène n'a pas pu être effectuée en raison de l'indisponibilité des techniques de séquençage moléculaires à cette époque. Par conséquent, l'approche utilisée dans la plupart de ces cas pour évaluer la sensibilité des espèces était fondée sur le poids de la preuve, en combinant les données des études jugées pertinentes.
2. Le groupe *ad hoc* est parti de l'hypothèse selon laquelle les auteurs avaient correctement identifié les espèces hôtes décrites dans les articles.
3. Les références décrivant la mise en œuvre de procédures expérimentales invasives comme voie de transmission n'ont été utilisées que pour l'étape 1 (c'est-à-dire l'article 1.5.4.). Dans ces conditions, les critères A à D ont été considérés comme non applicables et le résultat non concluant.
4. À des fins d'évaluation de la sensibilité des espèces, le groupe *ad hoc* a utilisé les catégories de résultats suivantes :

*1 : L'espèce satisfait aux critères permettant de conclure à sa sensibilité à l'infection et est proposée pour inclusion dans l'article X.X.2. du chapitre traitant de la maladie concernée du Code aquatique.*

*2 : L'espèce satisfait à une partie seulement des critères permettant de conclure à sa sensibilité à l'infection et est proposée pour inclusion dans le paragraphe 2.2.2. « Species with incomplete evidence for susceptibility » du chapitre traitant de la maladie concernée du Manuel aquatique.*

*3 : L'espèce ne satisfait pas aux critères permettant de conclure à sa sensibilité à l'infection (par exemple, il n'y a aucune autre preuve qu'un résultat de PCR positif au niveau branchial ou intestinal ou alors la méthodologie des études disponibles est questionnable ou bien encore les résultats sont incohérents) et n'est proposée pour inclusion ni dans le Code aquatique ni dans le Manuel aquatique.*

*4 : Il y a des preuves de l'absence de sensibilité de l'espèce, qui n'est proposée pour inclusion ni dans le Code aquatique ni dans le Manuel aquatique.*

5. Lorsque les preuves décrites dans la littérature scientifique pour la même espèce hôte se révélaient contradictoires ou que les résultats des évaluations divergeaient (par exemple, résultats d'évaluation appartenant aux catégories comprises entre « 1 » et « 3 »), le groupe *ad hoc* fournissait alors des explications dans le texte de l'annexe concernée afin de justifier du résultat définitif.
6. Lorsque les résultats des évaluations s'avéraient incohérents au regard de l'épidémiologie connue de l'agent pathogène (par exemple, s'il a été démontré qu'un virus, qui avait été considéré jusqu'ici comme hautement spécifique d'une espèce donnée, pouvait infecter un groupe taxonomique éloigné), le groupe *ad hoc* avait recours à au moins deux études indépendantes pour justifier qu'une nouvelle espèce hôte fût considérée comme sensible.
7. Le groupe *ad hoc* a identifié de façon séparée les hôtes pour lesquels il existait des preuves pour les critères figurant à l'article 1.5.4. (critères permettant de déterminer si la voie de transmission correspond aux voies de transmission naturelle de l'infection) et à l'article 1.5.5. (critères permettant de déterminer si l'agent pathogène a été identifié de façon adéquate) mais pas pour les critères figurant à l'article 1.5.6. (critères permettant de déterminer si les preuves de la présence de l'agent pathogène suffisent pour conclure à l'infection). Par exemple, l'obtention d'un résultat positif à la PCR mais sans possibilité d'isoler le virus groupe conduisait le groupe *ad hoc* à attribuer à l'espèce un résultat appartenant à la catégorie « 3 ».

Annexe 30 (suite)

Le groupe *ad hoc* a recommandé que ces espèces ne soient pas incluses dans le paragraphe 2.2.2. « Species with incomplete evidence for susceptibility » du chapitre traitant de la maladie spécifique concernée du *Manuel aquatique*, contrairement à ce qui a été pratiqué par le groupe *ad hoc* en charge de la révision des chapitres des maladies des crustacés du *Manuel aquatique*. Cette différence de traitement des résultats d'évaluation s'explique par le fait que contrairement aux virus des crustacés, les virus des poissons peuvent être mis en culture *in vitro*. Par conséquent, il est également nécessaire de les isoler des organes internes pour conclure de façon probante à la présence de l'infection virale chez le poisson hôte.

Le groupe *ad hoc* a formulé les recommandations suivantes :

- Le groupe *ad hoc* a décidé de commencer, par voie électronique, les travaux sur l'herpèsvirose de la carpe koï, la virémie printanière de la carpe et l'infection par l'alphavirus des salmonidés.
- Le groupe *ad hoc* a demandé qu'une autre réunion physique soit organisée en 2017 afin qu'il finalise ces évaluations et continue d'appliquer les critères aux maladies des poissons listées par l'OIE pour lesquelles les évaluations n'ont pas encore été réalisées.

---

.../Annexes



**RÉUNION DU GROUPE AD HOC DE L'OIE  
SUR LA SENSIBILITÉ DES ESPÈCES DE POISSONS  
À L'INFECTION PAR DES MALADIES DE LA LISTE DE L'OIE**

**Paris, 25 - 27 avril 2017**

---

**Liste des participants**

**MEMBRES DU GROUPE AD HOC**

---

**Dr Mark Crane (Chair)**

Senior Principal Research Scientist  
Research Group Leader | AAHL Fish  
Diseases Laboratory  
CSIRO Australian Animal Health  
Laboratory  
5 Portarlington Road Geelong  
VIC 3220  
Private Bag 24 Geelong VIC 3220  
AUSTRALIE  
Tél. : +61 3 5227 5118  
mark.crane@csiro.au

**Dr Niels Jørgen Olesen**

National Veterinary Institute, Technical  
University of Denmark  
Bülowsvej 27,  
1870 Frederiksberg C  
DANEMARK  
Tél. : +45 292 44310  
njol@vet.dtu.dk

**Dr Lori Gustafson**

Surveillance Design and Analysis  
USDA/APHIS/VS/CEAH  
2150 Centre Ave, Bldg B, Mail Stop 2E6  
Fort Collins, CO 80526-8117  
ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE  
lori.l.gustafson@aphis.usda.gov

**Dr Kei Yuasa**

National Research Institute of  
Aquaculture Fisheries Research  
Agency  
422-1 Nakatsuhamaura  
Minami-ise, Watarai  
Mie 516-0193  
JAPON  
Tél. : +81 599 661830  
yuasa@fra.affrc.go.jp  
keiyuasa@hotmail.co.jp

**Dr Sophie St-Hilaire**

Department of Health Management  
Atlantic Veterinary College  
University of Prince Edward Island,  
Charlottetown, PEI  
CANADA  
Tél. : +902 620 5190  
ssthilaire@upeil.ca

**SIÈGE DE L'OIE**

---

**Dr Gillian Mylrea**

Adjointe au chef de Service  
Service des normes  
g.mylrea@oie.int

**Dr Stian Johnsen**

Chargé de mission  
Services des normes  
s.johnsen@oie.int



**RÉUNION DU GROUPE AD HOC DE L'OIE  
SUR LA SENSIBILITÉ DES ESPÈCES DE POISSONS  
À L'INFECTION PAR DES MALADIES DE LA LISTE DE L'OIE**

**Paris, 25 - 27 avril 2017**

---

**Termes de référence**

**Contexte**

Un nouveau chapitre 1.5. « Critères d'inclusion dans la liste des espèces sensibles à une infection par un agent pathogène spécifique » a été ajouté dans l'édition de 2014 du *Code aquatique*. Ce chapitre a pour objet d'exposer les critères permettant de déterminer les espèces hôtes devant être listées en tant qu'espèces sensibles dans l'article X.X.2. de chaque chapitre du *Code aquatique* dédié à une maladie spécifique. Les critères seront progressivement appliqués à chacun des chapitres du *Code aquatique* traitant d'une maladie spécifique.

Les évaluations réalisées par les groupes *ad hoc* seront communiquées aux États Membres afin de recueillir leurs commentaires avant d'introduire la moindre modification dans la liste des espèces sensibles figurant dans les articles X.X.2. des chapitres du *Code aquatique* traitant des maladies spécifiques.

Les espèces, dont la sensibilité est démontrée par un certain nombre d'éléments sans toutefois que ces éléments soient suffisamment probants au sens de l'approche décrite dans l'article 1.5.3. du *Code aquatique*, seront incluses dans le chapitre pertinent du *Manuel aquatique* dédié à cette maladie et accompagnées des justifications nécessaires.

**Objectif**

Le groupe *ad hoc* de l'OIE sur la sensibilité des espèces des poissons à l'infection par des maladies de la liste de l'OIE sera chargé de réaliser l'évaluation pour les dix maladies des poissons listées par l'OIE.

**Termes de référence**

- 1) Prendre en compte les éléments probants requis pour satisfaire aux critères décrits dans le chapitre 1.5.
- 2) Étudier la littérature scientifique consacrée à la sensibilité des espèces aux maladies des poissons listées par l'OIE.
- 3) Proposer les espèces sensibles pour les maladies des poissons listées par l'OIE, en vertu de l'article 1.5.7.
- 4) Proposer les espèces sensibles pour les maladies des poissons listées par l'OIE, en vertu de l'article 1.5.8.

**Résultats attendus du Groupe *ad hoc***

- 1) Établir la liste des espèces sensibles destinée à figurer dans l'article X.X.2. de chacun des chapitres du *Code aquatique* traitant des maladies spécifiques des poissons.
  - 2) Établir la liste des espèces pour lesquelles la sensibilité n'a pu être explicitement démontrée, destinée à figurer dans le paragraphe 2.2.2. de chacun des chapitres du *Manuel aquatique* traitant des maladies des poissons.
  - 3) Rédiger un rapport et le soumettre à la Commission des animaux aquatiques afin que celle-ci l'examine lors de sa réunion de septembre 2017.
-



Annexe 30 (suite)

Annexe III

## ÉVALUATION DE LA SENSIBILITÉ DES HÔTES À L'INFECTION PAR LE VIRUS DE LA NÉCROSE HÉMATOPOÏÉTIQUE ÉPIZOOTIQUE

Les critères permettant de déterminer la sensibilité à l'infection par le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique sont précisés dans le tableau 1 (conformément aux dispositions de l'article 1.5.6. du *Code aquatique*). Ces critères sont : la capacité de réplication de l'agent pathogène dans l'hôte (A), la viabilité ou l'infectiosité de l'agent pathogène (B), les modifications cliniques ou pathologiques induites par l'agent pathogène (C) et la localisation de l'agent pathogène dans les tissus cibles attendus (D). Les hôtes pour lesquels il existe des preuves permettant de satisfaire soit au critère A, soit à au moins deux des critères B, C et D (conformément au point 3 de l'article 1.5.7. du *Code aquatique*) ont été considérés comme étant infectés par le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique.

**Tableau 1.** Critères permettant de déterminer la sensibilité à l'infection par le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique

A : Réplication	B : Viabilité ou infectiosité	C : Manifestations cliniques ou pathologiques	D : Localisation de l'agent pathogène dans les tissus
<p>Le titrage séquentiel du virus met en évidence l'augmentation des titres viraux.</p> <p>Ou</p> <p>Mise en évidence de l'augmentation du nombre de copies des gènes cibles de l'agent pathogène dans le temps par RT-qPCR et confirmation par PCR/ séquençage.</p> <p>Ou</p> <p>Présence de virions dans les cellules hôtes observée par microscopie en transmission (MET).</p> <p>Ou</p> <p>Détection des produits de la réplication virale (par exemple, les antigènes).</p>	<p>Isolement viral en culture cellulaire.</p> <p>Ou</p> <p>Cohabitation avec transmission de l'infection à une espèce hôte sensible, confirmée chez les espèces sentinelles par PCR et par au moins une des méthodes suivantes :</p> <p>i) la détection de manifestations cliniques, avec ou sans mortalités associées ;</p> <p>ii) l'histopathologie ;</p> <p>iii) l'isolement à nouveau du virus sur culture cellulaire.*</p>	<p>Tropisme pour l'endothélium vasculaire et présence de nécrose du tissu hématopoïétique.</p> <p>Le foie est le siège d'une réponse inflammatoire avec infiltration périovasculaire de cellules mononuclées.</p>	<p>L'agent pathogène est localisé dans les branchies, le système cardiovasculaire, le rein et le foie.**</p>

Note explicative :

- \* Pour démontrer la viabilité ou l'infectiosité de l'agent pathogène cible dans l'hôte faisant l'objet de l'évaluation, un seul passage dans n'importe quelle espèce hôte SPF reconnue comme étant sensible est requis.
- \*\* Il convient de noter que les organes cibles peuvent différer de ceux décrits pour les espèces reconnues sensibles. La surface des branchies étant contaminée, elle doit être exclue lors des prélèvements de tissus branchiaux.

Annexe 30 (suite)

Annexe III (suite)

### ÉVALUATION DE LA SENSIBILITÉ DES HÔTES

Le tableau 2 présente les résultats de l'évaluation de la sensibilité des hôtes à l'infection par le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique.

**Tableau 2.** Résultats de l'évaluation de la sensibilité de l'hôte à l'infection par le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique

Genre	Espèce	Nom vernaculaire	Étape 1 : Voie de transmission*	Étape 2 : Identification de l'agent pathogène	Étape 3 : Preuve de l'infection				Catégorie des résultats**	Références
					A	B	C	D		
<i>Oncorhynchus</i>	<i>mykiss</i>	Truite arc-en-ciel	N/E	PCR/IFAT/ELISA	OUI	OUI	OUI	OUI	1	4, 3, 10, 11
<i>Perca</i>	<i>fluviatilis</i>	Perche européenne	N/E	PCR/IFAT	OUI	OUI	OUI	OUI	1	2, 4, 9, 11
<i>Macquaria</i>	<i>australasica</i>		E	PCR	OUI	OUI	OUI	OUI	1	2, 11
<i>Bidyanus</i>	<i>bidyanus</i>		E	PCR	OUI	OUI	OUI	OUI	1	2, 11
<i>Galaxias</i>	<i>olidus</i>		E	Incomplète	OUI	OUI	OUI	OUI	1	11 (virus caractérisé par la suite dans la référence 2)
<i>Gambusia</i>	<i>affinis</i>		E	Incomplète	OUI	OUI	OUI	OUI	1	11 (virus caractérisé par la suite dans la référence 2)
<i>Ameiurus</i>	<i>melas</i>	Poisson-chat	E	IFAT	NON	OUI	OUI	OUI	1	5
<i>Esox</i>	<i>lucius</i>	Brochet du Nord	E	IHC	OUI	OUI	OUI	OUI	1	6
<i>Sander</i>	<i>lucioperca</i>	Sandre	E	PCR/séquençage	NON	OUI	OUI	OUI	1	7
<i>Melanotaenia</i>	<i>fluviatilis</i>		E	PCR	NON	OUI	OUI	OUI	1	2
<i>Gambusia</i>	<i>holbrooki</i>		E	PCR	NON	OUI	OUI	OUI	1	2
<i>Macquaria</i>	<i>ambigua</i>		E	PCR	NON	NON	NON	NON	3	2

Annexe 30 (suite)

Annexe III (suite)

Genre	Espèce	Nom vernaculaire	Étape 1 : Voie de transmission *	Étape 2 : Identification de l'agent pathogène	Étape 3 : Preuve de l'infection				Catégorie des résultats**	Références
					A	B	C	D		
<i>Tandanus</i>	<i>tandanus</i>		EI	PCR	NA	NA	NA	NA	3	2
<i>Mogurnda</i>	<i>adspersa</i>		E	PCR	NON	OUI	NON	NON	3	2
<i>Salmo</i>	<i>salar</i>	Saumon de l'Atlantique	EI	Décrite pour la première fois	NA	NA	NA	NA	3	10
<i>Maccullochella</i>	<i>peelii</i>		E/EI	PCR	NON	NON	NON	NON	3/4	2, 11
<i>Nannoperca</i>	<i>australis</i>		E	PCR	NON	NON	NON	NON	4	2
<i>Maccullochella</i>	<i>macquariensis</i>		E	PCR	NON	NON	NON	NON	4	2
<i>Hypseleotris</i>	<i>species</i>		E	PCR	NON	NON	NON	NON	4	2
<i>Craterocephalus</i>	<i>stercusmuscarum fulvus</i>		E	PCR	NON	NON	NON	NON	4	2
<i>Cyprinus</i>	<i>carpio</i>	Carpe commune	E	PCR/séquençage	NON	NON	NON	NON	4	6
<i>Carassius</i>	<i>auratus</i>	Cyprin doré	E	PCR/séquençage	NON	NON	NON	NON	4	6, 9

**Modalités de la transmission\* :**

N : Infection naturelle.

E : Infection par la mise en œuvre de procédures expérimentales non invasives.

EI : Infection par la mise en œuvre de procédures expérimentales invasives.

NA : Non applicable (par exemple, un résultat de PCR négatif ; aucune autre donnée).

Les hôtes pour lesquels il existe des preuves permettant de satisfaire soit au critère A, soit à au moins deux des critères B, C et D ont été considérés comme étant infectés par le virus de la nécrose hématoïétique épizootique.

**Catégories de résultats d'évaluation\*\* :**

1 : Satisfaction des critères permettant de conclure à la sensibilité de l'hôte à l'infection.

2 : Satisfaction d'une partie des critères permettant de conclure à la sensibilité de l'hôte à l'infection.

3 : Absence de satisfaction des critères (par exemple, il n'y a aucune autre preuve qu'un résultat de PCR positif au niveau branchial ou intestinal ou alors la méthodologie des études disponibles est questionnable ou bien encore les résultats sont incohérents).

4 : Preuve de l'absence de sensibilité de l'hôte à l'infection.

Annexe 30 (suite)Annexe III (suite)**Informations complémentaires concernant le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique et à prendre en compte dans le cadre de la présente évaluation**Macquaria australasica

L'examen de deux références par le groupe *ad hoc* lui a permis de classer les résultats des évaluations à la fois dans les catégories « 1 » et « 3 ». Il a finalement décidé d'inclure cette espèce dans la liste des espèces sensibles figurant dans le chapitre concerné du *Code aquatique*. En effet, dans la première référence, l'article de Becker *et al.* (2013), il est décrit que la seule preuve en faveur de la transmission de l'infection par baignade est un résultat positif à l'examen histopathologique pour l'un des poissons (un de ceux ayant été suffisamment testés) ; cette preuve ayant été considérée comme non concluante, le groupe *ad hoc* a donc classé ce résultat dans la catégorie « 3 ». En revanche, le groupe *ad hoc* a estimé que la seconde référence, l'article de Langdon *et al.* (1989), se révélait être une étude fiable. Il s'est donc fondé sur cette étude ainsi que sur la caractérisation de la souche décrite par Becker *et al.* (2013) pour classer le résultat final dans la catégorie « 1 ».

**Références bibliographiques**

1. ARIEL, E., & JENSEN, B. B. (2009). Challenge studies of European stocks of redbfin perch, *Perca fluviatilis* L., and rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), with epizootic haematopoietic necrosis virus. *Journal of Fish Diseases*, **32**(12), 1017–1025.
2. BECKER, J. A., TWEEDIE, A., GILLIGAN, D., ASMUS, M., & WHITTINGTON, R. J. (2013). Experimental infection of Australian freshwater fish with epizootic haematopoietic necrosis virus (EHNV). *Journal of Aquatic Animal Health*, **25**(1), 66–76.
3. BECKER, J. A., TWEEDIE, A., GILLIGAN, D., ASMUS, M., & WHITTINGTON, R. J. (2016). Susceptibility of Australian redbfin perch *Perca fluviatilis* experimentally challenged with epizootic hematopoietic necrosis virus (EHNV). *Journal of Aquatic Animal Health*, **28**(2), 122–130.
4. BORZYM, E., & MAJ-PALUCH, J. (2015). Experimental infection with epizootic haematopoietic necrosis virus (EHNV) of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and European perch (*Perca fluviatilis*). *Bull Vet Inst Pulawy* **59**, 473–477.
5. GOBBO, F., CAPPELLOZZA, E., PASTORE, M. R., & BOVO, G. (2010). Susceptibility of black bullhead *Ameiurus melas* to a panel of ranavirus isolates. *Diseases of Aquatic Organisms*, **90**(3), 167–174.
6. JENSEN, B. B., ERSBØL, A. & ARIEL, E. (2009). Susceptibility of pike *Esox lucius* to a panel of Ranavirus isolates. *Diseases of Aquatic Organisms*, **83**, 169–179.
7. JENSEN, B. B., HOLOPAINEN, R., TAPIOVAARA, H., & ARIEL, E. (2011a). Susceptibility of pike-perch *Sander lucioperca* to a panel of ranavirus isolates. *Aquaculture*, **313**(1–4), 24–30.
8. JENSEN, B. B., RESKOVA, S., CINKOVA, K., ARIEL, E., & VESELY, T. (2011b). Common carp (*Cyprinus carpio*) and goldfish (*Carassius auratus*) were not susceptible to challenge with ranavirus under certain challenge conditions. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, **31**(3), 112.
9. LANGDON J.S., HUMPHREY J.D., WILLIAMS L.M., HYATT A.D. & WESTBURY H.A. (1986). First virus isolation from Australian fish: an iridovirus-like pathogen from redbfin perch, *Perca fluviatilis* L. *Journal of Fish Diseases*, **9**, 263–268.

Annexe 30 (suite)

Annexe III (contd)

10. LANGDON, J. S., HUMPHREY, J. D., & WILLIAMS, L. M. (1988). Outbreaks of an EHNV-like iridovirus in cultured rainbow trout, *Salmo gairdneri*, in Australia. *Journal of Fish Diseases*, **11**(1), 93–96.
  11. LANGDON, J. S. (1989). Experimental transmission and pathogenicity of epizootic haematopoietic necrosis virus (EHNV) in redfin perch, *Perca fluviatilis* L., and 11 other teleosts. *Journal of Fish Diseases*, **12**(4), 295–310.
  12. WHITTINGTON R.J., PHILBEY A., REDDACLIFF G.L. & MACGOWN A.R. (1994). Epidemiology of epizootic haematopoietic necrosis virus (EHNV) infection in farmed rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum): findings based on virus isolation, antigen capture ELISA and serology. *Journal of Fish Diseases*, **17**, 205–218.
-



Annexe 30 (suite)

Annexe IV

### ÉVALUATION DE LA SENSIBILITÉ DES HÔTES À L'INFECTION PAR LE VIRUS DE L'ANÉMIE INFECTIEUSE DU SAUMON

Les critères permettant de déterminer la sensibilité à l'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon sont précisés dans le tableau 1 (conformément aux dispositions de l'article 1.5.6. du *Code aquatique*). Ces critères sont : la capacité de réplication de l'agent pathogène dans l'hôte (A), la viabilité ou l'infectiosité de l'agent pathogène (B), les modifications cliniques ou pathologiques induites par l'agent pathogène (C) et la localisation de l'agent pathogène dans les tissus cibles attendus (D). Les hôtes pour lesquels il existe des preuves permettant de satisfaire soit au critère A, soit à au moins deux des critères B, C et D (conformément à l'alinéa 3 de l'article 1.5.7. du *Code aquatique*) ont été considérés comme étant infectés par le virus de l'anémie infectieuse du saumon.

**Tableau 1. Critères permettant de déterminer la sensibilité à l'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon**

A : Réplication	B : Viabilité ou infectiosité	C : Manifestations cliniques ou pathologiques	D : Localisation de l'agent pathogène dans les tissus
<p>Le titrage séquentiel du virus met en évidence l'augmentation des titres viraux.</p> <p>Ou</p> <p>Mise en évidence de l'augmentation du nombre de copies des gènes cibles de l'agent pathogène dans le temps par RT-qPCR et confirmation par PCR/séquençage.</p> <p>Ou</p> <p>Présence de virions dans les cellules hôtes observée par la microscopie en transmission (MET).</p> <p>Ou</p> <p>Détection des produits de la réplication virale (par exemple, mise en évidence de la présence d'antigènes viraux par dosage immunologique enzymatique avec compétition sur des calques tissulaires ou des coupes de tissus fixés).</p>	<p>Culture du virus préalablement isolé d'un organe interne sur une lignée cellulaire.</p> <p>Ou</p> <p>Cohabitation avec transmission de l'infection à une espèce hôte sensible, confirmée chez les espèces sentinelles par PCR et par au moins une des méthodes suivantes :</p> <p>i) la détection de manifestations cliniques, avec ou sans mortalités associées ;</p> <p>ii) l'histopathologie ;</p> <p>iii) l'isolement à nouveau du virus sur culture cellulaire.</p>	<p>Fluide jaunâtre ou teinté de sang dans les cavités péritonéale et péricardique.</p> <p>Œdème de la vessie natatoire.</p> <p>Présence de petites hémorragies sur les feuillets viscéral et pariétal du péritoine.</p> <p>Coloration hépatique rouge sombre focale ou diffuse. Une mince couche de fibrine peut être présente en surface.</p> <p>Splénomégalie, coloration rouge sombre de la rate qui présente des extrémités arrondies.</p> <p>Apparition d'une coloration rouge sombre au niveau de la muqueuse de la paroi du caecum, de l'intestin moyen et du gros intestin, sans présence de sang dans la lumière intestinale des spécimens frais.</p> <p>Néphromégalie, coloration rouge sombre du rein dont la coupe en surface provoque une effusion de liquide.</p> <p>Piqueté hémorragique au niveau du muscle squelettique.</p> <p>Hématocrite basse (traduisant une anémie sévère).</p>	<p>L'agent pathogène est localisé dans les branchies, le cœur, la partie moyenne du rein, la rate, le foie, le pancréas/l'intestin. *</p>

Note explicative :

\* Il convient de noter que les organes cibles peuvent différer de ceux décrits pour les espèces reconnues sensibles. La surface des branchies et du pancréas ou des intestins étant contaminée, elle doit être exclue lors des prélèvements de tissus branchiaux, pancréatiques ou intestinaux.

Annexe 30 (suite)

Annexe IV (suite)

## ÉVALUATION DE LA SENSIBILITÉ DES HÔTES

Le tableau 2 présente les résultats de l'évaluation de la sensibilité des hôtes à l'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon.

**Tableau 2.** Résultats de l'évaluation de la sensibilité des hôtes à l'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon

Genre	Espèce	Nom vernaculaire	Étape 1 : Voie de transmission*	Étape 2 : Identification de l'agent pathogène	Étape 3 : Preuve de l'infection				Catégorie des résultats**	Références
					A	B	C	D		
<i>Oncorhynchus</i>	<i>mykiss</i>	Truite arc-en-ciel	E et EI	RT-PCR et culture cellulaire	NON	OUI	OUI	OUI	1	2, 22
<i>Salmo</i>	<i>salar</i>	Saumon de l'Atlantique	E	RT-PCR	OUI	NON	OUI	OUI	1	11
<i>Salmo</i>	<i>trutta</i>	Truite de mer	N	RT-PCR	NON	OUI	NON	OUI	1	17
<i>Oncorhynchus</i>	<i>masou</i>	Saumon du Japon	I et E	RT-PCR	NON	NON	OUI	OUI	2	3
<i>Clupea</i>	<i>harengus</i>	Hareng de l'Atlantique	E	RT-PCR et culture -ve	NON	OUI	NON	NON	2	14
<i>Oncorhynchus</i>	<i>kisutch</i>	Saumon argenté	N	RT-PCR	NON	OUI	NON	NON	3	5, 6, 7, 8, 9, 24
<i>Gadus</i>	<i>morhua</i>	Morue de l'Atlantique	I et N	Culture cellulaire et RT-PCR	NON	NON	NON	NON	4	10, 21
<i>Pollachius</i>	<i>virens</i>	Lieu noir	I et E	- veRT-PCR	NON	NON	NON	NON	4	23
<i>Mytilus</i>	<i>edulis</i>	Moule commune	N	RT-PCR	NON	NON	NON	NON	4	13, 19
<i>Oncorhynchus</i>	<i>tshawytscha</i>	Saumon royal	I	Culture cellulaire	NON	NON	NON	NON	4	18
<i>Cyprinus</i>	<i>carpio</i>	Carpe commune	I	RT-PCR	NON	NON	NON	NON	4	4
<i>Carassius</i>	<i>auratus</i>	Cyprin doré	I	RT-PCR	NON	NON	NON	NON	4	4

[Annexe 30](#) (suite)[Annexe IV](#) (suite)

Genre	Espèce	Nom vernaculaire	Étape 1 : Voie de transmission*	Étape 2 : Identification de l'agent pathogène	Étape 3 : Preuve de l'infection				Catégorie des résultats**	Références
					NON	NON	NON	NON		
<i>Hippoglossus</i>	<i>hippoglossus</i>	Flétan de l'Atlantique	I	RT-PCR	NON	NON	NON	NON	4	21
<i>Caligus</i>	<i>rogercresseyi</i>	Pou de mer	N	RT-PCR et culture cellulaire	NON	NON	NON	NON	4	15
<i>Pollachius</i>	<i>virens</i>	Lieu noir	N	RT-PCR	NON	NON	NON	OUI	4	10, 12
<i>Cyclopterus</i>	<i>lumpus L.</i>	Lompe	N	RT-PCR et culture cellulaire	NON	NON	NON	NON	4	10
<i>Salvelinus</i>	<i>alpinus</i>	Ombre-chevalier	I	RT-PCR	NON	NON	NON	NON	N/A	22
<i>Oncorhynchus</i>	<i>keta</i>	Saumon chien	I	Culture cellulaire	NON	OUI	NON	NON	N/A	18
<i>Oncorhynchus</i>	<i>nerka</i>	Saumon rouge	I	RT-PCR	NON	NON	NON	NON	NA	4
<i>Salvelinus</i>	<i>leucomaenis</i>		I	RT-PCR	NON	OUI	NON	NON	NA	4
<i>Plecoglossus</i>	<i>altivelis</i>	Ayu	I	RT-PCR	NON	NON	NON	NON	NA	4
<i>Gnathopogon</i>	<i>elongatus</i> <i>/caerulescens</i>		I	RT-PCR	NON	NON	NON	NON	NA	4
<i>Anguilla</i>	<i>anguilla</i>	Anguille d'Europe							Non évalué	
<i>Alosa</i>	<i>pseudoharengus</i>	Gaspereau							Non évalué	

**Modalités de la transmission\* :***N* : Infection naturelle.*E* : Infection par la mise en œuvre de procédures expérimentales non invasives.*EI* : Infection par la mise en œuvre de procédures expérimentales invasives.*NA* : Non applicable (par exemple, résultat de PCR négatif ; aucune autre donnée).

Les hôtes pour lesquels il existe des preuves permettant de satisfaire soit au critère A, soit à au moins deux des critères B, C et D ont été considérés comme étant infectés par le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique.

**Catégories de résultats d'évaluation\*\* :***1* : Satisfaction des critères permettant de conclure à la sensibilité à l'infection.*2* : Satisfaction d'une partie des critères permettant de conclure à la sensibilité à l'infection.*3* : Absence de satisfaction des critères permettant de conclure à la sensibilité à l'infection (par exemple, il n'y a aucune autre preuve qu'un résultat de PCR positif au niveau branchial ou intestinal ou alors la méthodologie des études disponibles est questionnable ou bien encore les résultats sont incohérents).*4* : Preuve de l'absence de sensibilité à l'infection.

Annexe 30 (suite)

Annexe IV (suite)

### **Informations complémentaires concernant les évaluations du virus de l'anémie infectieuse du saumon et à prendre en compte dans le cadre de la présente évaluation**

Aux fins de la présente évaluation, le groupe *ad hoc* est parti de l'hypothèse selon laquelle les espèces hôtes étaient aussi sensibles aux variants pathogènes du virus de l'anémie infectieuse du saumon (délétés dans la RHP du virus) qu'aux variants non pathogènes (RHP0) (EFSA Journal 2012; 10 (11):2971. [22 pp.]). Des explications plus détaillées concernant certaines de ces évaluations figurent dans le texte ci-dessous.

#### Saumon du Japon (*Oncorhynchus masou*)

Le groupe *ad hoc* a classé le résultat de l'évaluation pour *Oncorhynchus masou* dans la catégorie « 2 ». Il s'est fondé sur le fait que 6 des 20 poissons ont donné un résultat positif à la PCR, qu'un poisson présentant des signes cliniques était mort et que le virus n'a pas été transmis au saumon de l'Atlantique. En raison du nombre limité de preuves (une unique étude sur cette espèce et des résultats ne reposant que sur un seul poisson), le groupe *ad hoc* a considéré que la sensibilité de l'espèce n'avait pas pu être explicitement démontrée et qu'il n'était donc pas possible de l'inclure dans la liste des espèces sensibles du *Code aquatique*. Par conséquent, il est nécessaire de disposer de preuves corroborantes afin de pouvoir classer *Oncorhynchus masou* dans la liste des espèces sensibles.

#### Saumon argenté (*Oncorhynchus kisutch*)

Un foyer d'anémie infectieuse du saumon, survenu naturellement chez le saumon argenté, est rapporté dans le chapitre 2.3.5. du *Manuel aquatique*. L'étude de ce cas a été publiée par Kibenge *et al.* (2001), qui a mis en évidence la présence du virus de l'anémie infectieuse du saumon dans les homogénats de tissus provenant d'animaux touchés par des mortalités. Par la suite, il y a eu d'autres publications sur la sensibilité du saumon argenté à cet agent pathogène. Dans ces publications figurent des preuves substantielles selon lesquelles cette espèce n'est pas un hôte viable pour le virus de l'anémie infectieuse du saumon, ce qui contredit le résultat de la première étude.

Au regard des informations récentes fournies par les données de surveillance et par d'autres chercheurs et en supposant que les observations de la première étude (Kibenge *et al.*, 2001) résultent d'une contamination de laboratoire, le groupe *ad hoc* a proposé d'inclure le saumon argenté dans le paragraphe 2.2.2. « Species with incomplete evidence for susceptibility » du *Manuel aquatique* jusqu'à ce que des informations plus concluantes soient disponibles.

Ci-dessous figure une compilation des informations utilisées dans le cadre de l'évaluation du saumon argenté et étayant l'hypothèse selon laquelle cette espèce n'est pas sensible au virus de l'anémie infectieuse du saumon.

Selon la première étude sur le sujet (Kibenge *et al.*, 2001) :

- L'isolat détecté chez un saumon argenté au Chili en 1999 correspondait parfaitement à un isolat du laboratoire canadien ayant identifié le virus chez le saumon argenté et l'ayant utilisé couramment dans ses études d'exposition (Kibenge *et al.*, 2002 ; Kibenge *et al.*, 2006).
  - Depuis cette première étude, les analyses génétiques conduites sur des isolats prélevés dans les fermes aquacoles situées dans les environs proches ont rarement permis de mettre en évidence une correspondance parfaite (Kibenge *et al.*, 2009 ; Lyngstad *et al.*, 2011), suggérant ainsi la faible probabilité de correspondance entre les isolats du Canada et du Chili.
- Plusieurs foyers d'anémie infectieuse du saumon sont apparus au Canada pendant la période au cours de laquelle les saumons argentés subissaient des tests dans le cadre de la première étude. La possibilité qu'il y ait eu, au sein du laboratoire, une contamination croisée entre les spécimens utilisés pour la recherche et ceux prélevés sur le terrain, ne peut pas être exclue.
  - Par la suite, le laboratoire a fait l'objet d'une inspection qui a mis en évidence un défaut d'application des bonnes pratiques de laboratoire (BPL), à savoir la séparation insuffisante des échantillons (inspection réalisée par l'OIE à l'Université de l'Île du Prince Édouard, Canada, 2012).
- La culture du virus dans cette étude n'a pu être réalisée qu'à partir d'un échantillon d'homogénat de tissus et seules des lignées cellulaires TO avec ajout de trypsine ont été utilisées. En raison du risque non négligeable de contamination croisée et du manque de répliquabilité des résultats, il est probable qu'il s'agisse d'un faux positif.

Annexe 30 (suite)

Annexe IV (suite)

D'autres éléments de preuve suggèrent également que le saumon argenté n'est pas un hôte sensible pour le virus de l'anémie infectieuse du saumon :

- Il existe une autre infection désormais bien décrite chez le saumon argenté et désignée par le terme « Jaundice disease » (maladie de l'ictère), qui est similaire à la description fournie par Kibenge *et al.* (2001). Bien que les données suggèrent qu'il s'agit d'une maladie infectieuse (Smith *et al.*, 2006), aucun agent pathogène (y compris le virus de l'anémie infectieuse du saumon) n'a été isolé des poissons malades, en dépit des investigations poussées entreprises sur cette maladie (Alba *et al.*, article soumis pour publication).
- En 1999, aucun foyer d'anémie infectieuse du saumon n'a été rapporté au Chili. À la même époque, Kibenge *et al.* (2001) rapportait qu'un saumon argenté présentait un résultat positif à la présence de ce virus alors que les millions de saumons de l'Atlantique présents dans la zone et reconnus comme étant des hôtes sensibles au virus, notamment à la souche virale identifiée dans le saumon argenté, n'étaient pas affectés par la maladie. Ce n'est que huit ans plus tard que le premier cas d'anémie infectieuse du saumon a été identifié au Chili.
- L'isolat chilien du virus de l'anémie infectieuse de 2007, dont la présence était associée aux signes cliniques de l'anémie infectieuse du saumon, était plus étroitement apparenté aux isolats norvégiens qu'aux isolats nord-américains.
- Une étude de Kibenge *et al.* (2006) a montré qu'en dépit d'une exposition du saumon argenté à un fort titre viral par voie intrapéritonéale, il n'a pas été possible d'induire la maladie chez le saumon argenté. Bien que cela n'ait pas été rapporté dans l'article, il est présumé que le virus n'a pas pu être détecté par RT-PCR à la fin de l'étude. Les observations sur les tests PCR n'ont pas été présentées dans l'article mais il est supposé que les résultats obtenus étaient négatifs car ils n'ont pas été évoqués par les auteurs dans la partie « discussion ». Faire figurer les résultats de la PCR aurait peut-être permis de conclure que les saumons argentés sont des porteurs asymptomatiques du virus de l'anémie infectieuse du saumon.
- Une autre étude, au cours de laquelle des concentrations importantes de virus de l'anémie infectieuse du saumon ont été administrées à des saumons argentés par injection intrapéritonéale, a permis d'isoler à nouveau le virus d'un des cinq poissons prélevés 13 jours post-injection. Toutefois, les dix autres poissons prélevés ultérieurement pendant l'étude ne se sont pas révélés positifs. Dans le second volet expérimental de cette étude, aucun des saumons argentés auxquels le virus de l'anémie infectieuse avait été injecté (n=15) n'a donné de résultat positif à la culture cellulaire. Dans le même temps, la transmission de l'infection aux saumons de l'Atlantique participant à l'étude a été concluante.
- Enfin, le gouvernement chilien a pratiqué des tests sur les saumons argentés dans le cadre du programme de surveillance de l'anémie infectieuse du saumon. À ces fins, la Taqman RT-PCR telle que décrite par Snow *et al.* (2006) a été utilisée. Entre 2008 et 2012, alors que des cas reconnus d'anémie infectieuse du saumon ont été recensés au Chili, Sernapesca a testé 39 214 pools de saumons argentés, ce qui a représenté 118 864 échantillons de poissons dont aucun ne s'est révélé positif pour la présence du virus. Pendant la même période, 144 472 pools de poissons de l'Atlantique ont été testés, ce qui a représenté 414 583 échantillons de poissons. Le virus a été détecté dans 3105 de ces pools. Le gouvernement du Chili a également testé plusieurs pools de poissons provenant de fermes aquacoles élevant plusieurs espèces de poissons, dont le saumon argenté (n=28 873). Le virus a été détecté dans 19 échantillons. Les analyses pratiquées de façon individuelle sur les poissons ont révélé que les résultats positifs étaient attribuables aux seuls saumons de l'Atlantique inclus dans ces pools (communication personnelle de M. Lara Sernapesca). Ceci suggère que le saumon argenté ne donne pas de résultat positif à la RT-PCR, même dans des fermes aquacoles où il cohabite avec des saumons de l'Atlantique répondant positivement au test.
  - Les données du gouvernement ont également fait l'objet d'analyses statistiques afin de déterminer la probabilité d'absence de la maladie chez les saumons argentés d'élevage au Chili (Alba *et al.*, article soumis pour publication). Les auteurs ont conclu, d'après leurs modèles et avec un niveau de certitude élevé, que le saumon argenté au Chili était indemne de l'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon.

Annexe 30 (suite)Annexe IV (suite)

Au regard des informations récentes fournies par les données de surveillance et par d'autres chercheurs, et en supposant que les premières observations sur le sujet (Kibenge *et al.*, 2001) résultent d'une contamination de laboratoire, le groupe *ad hoc* a proposé d'inclure le saumon argenté (*Oncorhynchus kisutch*) dans le paragraphe 2.2.2. « Species with incomplete evidence for susceptibility » du *Manuel aquatique* jusqu'à ce que des informations plus concluantes soient disponibles.

**Références bibliographiques**

1. ALBA *et al.*, under review.
2. BIACCHESSI, S., LE BERRE, M., LE GUILLOU, S., BENMANSOUR, A., BREMONT, M., QUILLET, E., & BOUDINOT, P. (2007). Fish genotype significantly influences susceptibility of juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), to waterborne infection with infectious salmon anaemia virus. *Journal of Fish Diseases*, **30**(10), 631–636.
3. ITO, T., OSEKO, N., & OTOTAKE, M. (2015a). Susceptibility of Amago trout, *Oncorhynchus masou macrostomus* (Günther) to an isolate of infectious salmon anaemia virus. *Journal of Fish Diseases*, **38**(2), 237–240.
4. ITO, T., OSEKO, N., & OTOTAKE, M. (2015b). Virulence of Infectious Salmon Anemia Virus (ISAV) in Six Japanese Fish Species by Intraperitoneal Injection. *Fish Pathology*, **50**(3), 115–118.
5. KIBENGE, F. S., GÁRATE, O. N., JOHNSON, G., ARRIAGADA, R., KIBENGE, M. J., & WADOWSKA, D. (2001). Isolation and identification of infectious salmon anaemia virus (ISAV) from Coho salmon in Chile. *Diseases of Aquatic Organisms*, **45**(1), 9–18.
6. KIBENGE, M. J. T., OPAZO, B., ROJAS, A. H. & KIBENGE, F. S. (2002). Serological evidence of infectious salmon anaemia virus (ISAV) infection in farmed fishes, using an indirect enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Diseases of Aquatic Organisms*, **51**, 1–11.
7. KIBENGE, F. S., KIBENGE, M. J. T., GROMAN, D., & MCGEACHY, S. (2006). In vivo correlates of infectious salmon anemia virus pathogenesis in fish. *Journal of General Virology*, **87**(9), 2645–2652.
8. KIBENGE, F. S., GODOY, M. S., WANG, Y., KIBENGE, M. J. T., GHERARDELLI, V., MANSILLA, S., JARPA, M., AVENDAÑO, F., LARA, M. & GALLARDO, A. (2009). Infectious salmon anaemia virus (ISAV) isolated from the ISA disease outbreaks in Chile diverged from ISAV isolates from Norway around 1996 and was disseminated around 2005, based on surface glycoprotein gene sequences. *Virology Journal* **6**, 88.
9. LYGSTAD, T. M., HJORTAAS, M. J., KRISTOFFERSEN, A.B., MARKUSSEN, T., KARLSEN, E. T., JONASSEN, C. M. & JANSEN, P. A. (2011). Use of molecular epidemiology to trace transmission pathways for infectious salmon anaemia virus (ISAV) in Norwegian salmon farming. *Epidemics* **3**, 1–11.
10. MACLEAN, S. A., BOUCHARD, D. A., & ELLIS, S. K. (2003). Survey of Nonsalmonid Marine Fishes for Detection of Infectious Salmon Anemia Virus and Other Salmonid Pathogens. *International Response to Infectious Salmon Anemia: Prevention, Control, and Eradication*.
11. MCBEATH, A. J. A., HO, Y. M. AI, AAMELFOT, M., HALL, M., CHRISTIANSEN, D. H., MARKUSSEN, T., FALK, K. & MATEJUSOVA, I. (2014). Low virulent infectious salmon anaemia virus (ISAV) replicates and initiates the immune response earlier than a highly virulent virus in Atlantic salmon gills. *Veterinary Research*, **45**, 83.
12. MCCLURE, C. A., HAMMELL, K. L., DOHOO, I. R. & GAGNÉ, N. (2004). Lack of evidence of infectious salmon anemia virus in pollock *Pollachius virens* cohabitating with infected farmed Atlantic salmon *Salmo salar*. *Diseases of Aquatic organisms*, **61**, 149–152.
13. MOLLOY, S. D., PIETRAK, M. R., BOUCHARD, D. A., & BRICKNELL, I. (2014). The interaction of infectious salmon anaemia virus (ISAV) with the blue mussel, *Mytilus edulis*. *Aquaculture Research*, **45**(3), 509–518.

Annexe 30 (suite)Annexe IV (suite)

14. NYLUND, A., DEVOLD, M., MULLINGS, J. & PLARRE, H. (2002). Herring (*Clupea harengus*): a host for salmon anemia virus (ISAV). *Bulletin of European Association of Fish Pathologists*, **22** (5) 311.
15. OELCKERS, K., VIKE, S., DUESUND, H., GONZALEZ, J., WADSWORTH, S., & NYLUND, A. (2014). *Caligus rogercresseyi* as a potential vector for transmission of Infectious Salmon Anaemia (ISA) virus in Chile. *Aquaculture*, **420–421**, 126–132.
16. PLARRE, H., DEVOLD, M., SNOW, M., & NYLUND, A. (2005). Prevalence of infectious salmon anaemia virus (ISAV) in wild salmonids in western Norway. *Diseases of Aquatic Organisms*, **66**(1), 71–79.
17. RAYNARD, R. S., MURRAY, A. G., & GREGORY, A. (2001). Infectious salmon anaemia virus in wild fish from Scotland. *Diseases of Aquatic Organisms*, **46**(2), 93–100.
18. ROLLAND, J. B., & WINTON, J. R. (2003). Relative resistance of Pacific salmon to infectious salmon anaemia virus. *Journal of Fish Diseases*, **26**(9), 511–520.
19. SKÅR, C. K., & MORTENSEN, S. (2007). Fate of infectious salmon anaemia virus (ISAV) in experimentally challenged blue mussels *Mytilus edulis*. *Diseases of Aquatic Organisms*, **74**(1), 1–6.
20. SMITH, P. A., LARENAS, J., CONTRERAS, J. CASSIGOLI, J., VENEGAS, C., ROJAS, M. E., Guajardo, A., Prez, S. & Daz, S. (2006). Infectious haemolytic anaemia causes jaundice outbreaks in seawater-cultured coho salmon, *Oncorhynchus kisutch* (Walbaum), in Chile. *Journal of Fish Diseases*, **29**, 709–715.)
21. SNOW, M. & RAYNARD, R. S. (2005). An investigation into the susceptibility of Atlantic cod (*Gadus morhua*) and Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) to infectious salmon anaemia virus (ISAV). *Bulletin of European Association of Fish Pathologists*, **25**(5), 189.
22. SNOW, M., RAYNARD, R. S., INGLIS, J., & BRUNO, D. W. (2001). Investigation into the potential for seawater rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to act as vectors of infectious salmon anaemia virus (ISAV). *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, **21**(6), 252–262.
23. SNOW, M., RAYNARD, R., BRUNO, D. W., VAN NIEUWSTADT, A. P., OLESEN, N. J., LØVOLD, T., & WALLACE, C. (2002). Investigation into the susceptibility of saithe *Pollachius virens* to infectious salmon anaemia virus (ISAV) and their potential role as a vector for viral transmission. *Diseases of Aquatic Organisms*, **50**(1), 13–18.
24. SNOW, M., MCKAY, P., MCBEATH, A. J., BLACK, J., DOIG, F., KERR, R., CUNNINGHAM, C. O., NYLUND, A., & DEVOLD M. (2006). Development, application and validation of a Taqman real-time RT-PCR assay for the detection of infectious salmon anaemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Developmental Biology (Basel)*, **126**, 133–45.



Annexe 30 (suite)

Annexe V

### ÉVALUATION DE LA SENSIBILITÉ DES HÔTES À L'INFECTION À *GYRODACTYLUS SALARIS*

Le groupe *ad hoc* a noté que dans le cas de *G. salaris*, le seul critère utilisable à l'étape 3 (conformément aux dispositions de l'article 1.5.6. du *Code aquatique*) était le critère (A), c'est-à-dire la capacité de réplication de l'agent pathogène dans l'hôte, car l'attachement du parasite se produit de façon transitoire chez de nombreuses espèces. Par conséquent, les modifications cliniques induites par l'agent pathogène et la localisation de l'infection ne constituent pas des critères valables pour conclure à l'infection.

Le critère concernant la capacité de réplication doit permettre de différencier la réplication de la maturation des parasites présents. Parce que *G. salaris* est vivipare et pratique la polyembryonie, les parasites adultes sont susceptibles de porter des embryons lorsqu'ils sont transférés sur des espèces test. Ainsi, lors du transfert, l'augmentation limitée du nombre de parasites peut s'expliquer par la maturation des embryons présents plutôt que par un nouveau cycle de reproduction ou réplication. Par conséquent, le groupe *ad hoc* a défini le terme « réplication » comme étant le doublement au moins du nombre de parasites dont la durée de vie excède ce qui est attendu pour *G. salaris* chez un hôte sensible à une température d'eau donnée. Jensen et Bakke (1999) décrivent les durées de vie ainsi que les taux de reproduction de *G. salaris* infectant *Salmo salar* (leur hôte de prédilection) pour différentes températures de l'eau.

**Tableau 1.** Critères permettant de déterminer la sensibilité à l'infection à *G.salaris*

A: Réplication	B : Viabilité ou infectiosité	C : Manifestations cliniques ou pathologiques	D : Localisation de l'agent pathogène dans les tissus
Observation séquentielle de la population montrant le doublement au moins du nombre de parasites dont la durée de vie excède celle attendue dans des conditions similaires.	N/A	N/A	N/A

Annexe 30 (suite)

Annexe V (suite)

### ÉVALUATION DE LA SENSIBILITÉ DES HÔTES

Le tableau 2 présente les résultats de l'évaluation de la sensibilité des hôtes à l'infection à *G. salaris*

**Tableau 2.** Résultats de l'évaluation de la sensibilité de l'hôte à l'infection à *G. salaris*.

Genre	Espèce	Nom vernaculaire	Étape 1 : Voie de transmission *	Étape 2 : Identification de l'agent pathogène	Étape 3 : Preuve de l'infection				Catégorie des résultats**	Références
					A	B	C	D		
<i>Salmo</i>	<i>salar</i>	Saumon de l'Atlantique	N/E	PCR/génotypage	OUI	NA	NA	NA	1	7, 9, 11, 12
<i>Oncorhynchus</i>	<i>mykiss</i>	Truite arc-en-ciel	N/E	PCR/ génotypage	OUI	NA	NA	NA	1	10
<i>Salvelinus</i>	<i>alpinus</i>	Ombre-chevalier	N/E	PCR/ génotypage	OUI	NA	NA	NA	1	9, 12, 16
<i>Salvelinus</i>	<i>fontinalis</i>	Saumons de fontaine	N	PCR/ génotypage	OUI	NA	NA	NA	1	4, , 15
<i>Thymallus</i>	<i>thymallus</i>	Ombre commun	E	PCR/ génotypage	OUI	NA	NA	NA	1	11
<i>Salmo</i>	<i>trutta</i>	Truite de mer	N/E	PCR/ génotypage	OUI	NA	NA	NA	1	11
<i>Coregonus</i>	<i>lavaretus</i>		E	Morphologie	NON	NA	NA	NA	3	14
<i>Anguilla</i>	<i>anguilla</i>	Anguille de l'Atlantique	E	Morphologie	NON	NA	NA	NA	3	3
<i>Salvelinus</i>	<i>namaycush</i>	Ombre du Canada (=Touladi)	E	Morphologie	NON	NA	NA	NA	3	5, 6
<i>Gasterosteus</i>	<i>aculeatus</i>	Epinoche à trois épines	E	Morphologie	NON	NA	NA	NA	3	13
<i>Pungitius</i>	<i>pungitius</i>		E	Morphologie	NON	NA	NA	NA	3	13
<i>Platichthys</i>	<i>flesus</i>	Flet d'Europe	E	Morphologie	NON	NA	NA	NA	3	13
<i>Coregonus</i>	<i>lavaretus</i>		E	Morphologie	NON	NA	NA	NA	3	14
<i>Lampetra</i>	<i>planeri</i>	Lamproie de ruisseau d'Europe	E	Morphologie	NON	NA	NA	NA	3	2
<i>Rutilus</i>	<i>rutilus</i>	Gardon	E	Morphologie	NON	NA	NA	NA	3	2
<i>Phoxinus</i>	<i>phoxinus</i>		E	Morphologie	NON	NA	NA	NA	3	1
<i>Perca</i>	<i>fluviatilis</i>		E	Morphologie	NON	NA	NA	NA	3	2

Annexe 30 (suite)

Annexe V (suite)

**Modalités de la transmission\* :**

*N : Infection naturelle.*

*E : Infection par la mise en œuvre de procédures expérimentales non invasives.*

*EI : Infection par la mise en œuvre de procédures expérimentales invasives.*

*NA : Non applicable (par exemple, résultat de PCR négatif ; aucune autre donnée).*

Les hôtes pour lesquels il existe des preuves permettant de satisfaire soit au critère A, soit à au moins deux des critères B, C et D ont été considérés comme étant infectés par *G. salaris*.

**Catégories de résultats d'évaluation\*\* :**

*1 : Satisfaction des critères permettant de conclure à la sensibilité à l'infection.*

*2 : Satisfaction d'une partie des critères permettant de conclure à la sensibilité à l'infection.*

*3 : Absence de satisfaction des critères permettant de conclure à la sensibilité à l'infection (par exemple, il n'y a aucune autre preuve qu'un résultat de PCR positif au niveau branchial ou intestinal ou alors la méthodologie des études disponibles est questionnable ou bien encore les résultats sont incohérents).*

*4 : Preuve de l'absence de sensibilité à l'infection.*

Annexe 30 (suite)Annexe V (suite)**Informations complémentaires concernant *G. salaris* et à prendre en compte dans le cadre de la présente évaluation**

Le groupe *ad hoc* a accepté l'identification de l'agent pathogène reposant sur des critères morphologiques lorsque celle-ci avait été réalisée par un expert (et donc n'a pas exigé de confirmation par des techniques moléculaires).

Le groupe *ad hoc* a pris acte que de nombreuses espèces contribuaient au maintien de populations viables de *G. salaris* pendant de courtes durées. En effet, ces espèces peuvent temporairement jouer le rôle de vecteurs et disséminer le parasite, alors même qu'elles ne satisfont pas aux critères utilisables à l'étape 3 car il n'existe aucune preuve de leur capacité de réplication dans l'hôte, telle qu'elle est définie par le groupe *ad hoc*.

**Références bibliographiques**

1. BAKKE, T. A. & SHARP, L. A. (1990). Susceptibility and resistance of minnows, *Phoxinus phoxinus* (L.) to *Gyrodactylus salaris* Malmberg, 1957 (Monogenea) under laboratory conditions. *Fauna norv.*, **11** (A), 51–55.
2. BAKKE, T. A., JANSEN, P. A., BRABRAND, A. (1990). Susceptibility and resistance of brook lamprey, *Lampetra planan* (Bloch), roach, *Rutilus rutilus* (L.) and perch, *Perca fluviatilis* L. to *Gyrodactylus salaris* Malmberg (Monogenea). *Fauna norv.* **11** (A), 23–26.
3. BAKKE, T. A., JANSEN, P. A. & HANSEN, L. P. (1991). Experimental transmission of *Gyrodactylus salaris* Malmberg 1957 from the Atlantic salmon (*Salmo salar*) to the European eel (*Anguilla anguilla*). *Canadian Journal of Zoology* **69**, 733–737.
4. BAKKE, T. A., HARRIS, P. D., & JANSEN, P. A. (1992a). The susceptibility of *Salvelinus fontinalis* (Mitchill) to *Gyrodactylus salaris* Malmberg (Platyhelminthes; Monogenea) under experimental conditions. *Journal of Fish Biology*, **41**(3), 499–507.
5. BAKKE, T. A., HARRIS, P. D., JANSEN, P. A., & HANSEN, L. P. (1992b). Host specificity and dispersal strategy in gyrodactylid monogeneans, with particular reference to *Gyrodactylus salaris* (Platyhelminthes, Monogenea). *Diseases of Aquatic Organisms*, **13**(1), 63–74.
6. BAKKE, T. A., JANSEN, P. A. & GRANDE, M. (1992c). The susceptibility of *Salvelinus namaycush* (Walbaum) to *Gyrodactylus salaris* Malmberg (Platyhelminthes; Monogenea) under experimental conditions. *Fauna norv. Ser. A.* **13**, 1–7.
7. BAKKE, T. A., SOLENG, A., & HARRIS, P. D. (1999). The susceptibility of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) × brown trout (*Salmo trutta* L.) hybrids to *Gyrodactylus salaris* Malmberg and *Gyrodactylus derjavini* Mikailov. *Parasitology*, **119**, 467–81.
8. HARRIS, P. D., BACHMANN, L., & BAKKE, T. A. (2011). Freshwater charr (*Salvelinus alpinus*) as hosts for *Gyrodactylus salaris*: implications for management. *The Veterinary Record*, **168**(6), 161.
9. JANSEN, P.A. & BAKKE T.A. 1991. Temperature-dependent reproduction and survival of *Gyrodactylus salaris* Malmberg, 1957 (Platyhelminthes: Monogenea) on Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Parasitology* **102**, 105–112.
10. JØRGENSEN, T. R., LARSEN, T. B., JØRGENSEN, L. G., BRESCIANI, J., KANIA, P. W., & BUCHMANN, K. (2007). Characterisation of a low pathogenic form of *Gyrodactylus salaris* from rainbow trout. *Diseases of Aquatic Organisms*, **73**(3), 235–244.
11. PALADINI, G., HANSEN, H., WILLIAMS, C. F., TAYLOR, N. G., RUBIO-MEJÍA, O. L., DENHOLM, S. J., HYTTERØD, S., BRON, J. E. & SHINN, A. P. (2014). Reservoir hosts for *Gyrodactylus salaris* may play a more significant role in epidemics than previously thought. *Parasites & Vectors*, **7**(1), 1–13.

Annexe 30 (suite)

Annexe V (suite)

12. RAMIREZ, R., BAKKE, T. A., & HARRIS, P. D. (2014). Same barcode, different biology: Differential patterns of infectivity, specificity and pathogenicity in two almost identical parasite strains. *International Journal for Parasitology*, **44**(8), 543–549.
  13. SOLENG, A., & BAKKE, T. A. (1998). The susceptibility of three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*), nine-spined stickleback (*Pungitius pungitius*) and flounder (*Platichthys flesus*) to experimental infections with the monogenean *Gyrodactylus salaris*. *Folia Parasitologica*, **45**(4), 270–274.
  14. SOLENG, A. & BAKKE, T. A. (2001). The susceptibility of whitefish (*Coregonus lavaretus* L.) to experimental infections with the monogenean *Gyrodactylus salaris* Malmberg, 1957. *Bulletin of the Scandinavian Society of Parasitology*, **11** (1-2), 32–36.
  15. STERUD, E., HARRIS, P. D., & BAKKE, T. A. (1998). The influence of *Gyrodactylus salaris* Malmberg, 1957 (Monogenea) on the epidermis of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., and brook trout, *Salvelinus fontinalis* (Mitchill): Experimental studies. *Journal of Fish Diseases*, **21**(4), 257–263.
  16. WINGER, A. C., KRISTOFFERSEN, R., & KNUDSEN, R. (2012). Rapid transmission of *Gyrodactylus salaris* (Malmberg, 1957) between live arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.), fry. *Journal of Fish Diseases*, **35**(10), 781–784.
-



**PLAN DE TRAVAIL COUVRANT LA PÉRIODE 2017 – 2018  
DE LA COMMISSION DES NORMES SANITAIRES POUR LES ANIMAUX AQUATIQUES**

<i>CODE AQUATIQUE</i>		
<b>Tâche</b>	<b>Septembre 2017</b>	<b>Février 2018</b>
Guide de l'utilisateur	Examen et mises à jour en ligne avec les modifications apportées au <i>Code terrestre</i> et ayant été adoptées en 2016. Amendements le cas échéant et soumission du document pour avis.	Examiner les commentaires des États membres
Glossaire	Amendements de plusieurs définitions et soumission du document pour avis.	Examiner les commentaires des États membres
Évaluation du virus du tilapia lacustre au moyen des critères d'inclusion dans la Liste des maladies	Évaluation du virus du tilapia lacustre au moyen des nouveaux critères d'inclusion dans la Liste figurant au chapitre 1.2. Soumission du document pour avis.	Examiner les commentaires des États membres
Maladies listées par l'OIE (chapitre 1.3.)	Amendement des noms de maladies des poissons selon le modèle « Infection par le pathogène X ».	Examiner les commentaires des États membres
Critères d'inclusion dans la liste des espèces sensibles à une infection par un agent pathogène spécifique (chapitre 1.5.)	Examen des observations des États membres et mise en circulation du chapitre pour recueillir des commentaires.	Examiner les commentaires des États membres
Procédures internes à l'OIE en rapport avec l'Accord sur l'application des mesures phytosanitaires et sanitaires de l'Organisation mondiale du commerce (chapitre 5.3.)	Examen des modifications d'intérêt apportées au <i>Code terrestre</i> et ayant été adoptées en 2017. Amendements le cas échéant et soumission pour avis.	Examiner les commentaires des États membres
Critères d'évaluation de la sécurité sanitaire des marchandises issues d'animaux aquatiques (chapitre 5.4.)	Examen des observations des États membres et mise en circulation du chapitre pour recueillir des commentaires.	Examiner les commentaires des États membres
Nouveau chapitre sur l'infection à <i>Batrachochytrium salamandrivorans</i> (chapitre 8.X.)	Élaboration d'un nouveau projet de chapitre en y intégrant les modifications ayant un caractère horizontal. Soumission du document pour avis.	Examiner les commentaires des États membres
Infection à <i>Batrachochytrium dendrobatidis</i> (chapitre 8.1.) et Infection à ranavirus (chapitre 8.2.)	Intégration des modifications ayant un caractère horizontal au chapitre 8.X ainsi qu'aux chapitres traitant des maladies spécifiques des poissons afin de garantir l'harmonisation des trois chapitres sur les maladies des amphibiens. Soumission du document pour avis.	Examiner les commentaires des États membres
Maladie de nécrose hépatopancréatique aiguë (chapitre 9.1.)	Examen du champ d'application au regard des publications récentes. Décision de ne pas apporter de modifications car rien ne le justifie.	
Infection par le virus de la nécrose hypodermique et hématopoïétique infectieuse (chapitre 9.4.)	Examen de l'évaluation de la sensibilité de <i>M. rosenbergii</i> réalisée par le groupe <i>ad hoc</i> et suppression de l'article 9.4.2.	Examiner les commentaires des États membres
Nécrose hématopoïétique épizootique (chapitre 10.1.)	Examen de la liste des espèces sensibles figurant à l'article 10.1.2. à la lumière des travaux réalisés par le groupe <i>ad hoc</i> . En outre, intégration au texte des modifications ayant un caractère horizontal et soumission du document pour avis.	Examiner les commentaires des États membres

## Annexe 31 (suite)

<b>CODE AQUATIQUE (suite)</b>		
<b>Tâche</b>	<b>Septembre 2017</b>	<b>Février 2018</b>
Infection à <i>Gyrodactylus salaris</i> (chapitre 10.3.)	Examen de la liste des espèces sensibles figurant à l'article 10.3.2. à la lumière des travaux réalisés par le groupe <i>ad hoc</i> . En outre, intégration au texte des modifications ayant un caractère horizontal et soumission du document pour avis.	Examiner les commentaires des États membres
Infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon (chapitre 10.4.)	Examen de la liste des espèces sensibles figurant à l'article 10.4.2. à la lumière des travaux réalisés par le groupe <i>ad hoc</i> . En outre, intégration au texte des modifications ayant un caractère horizontal et soumission du document pour avis.	Examiner les commentaires des États membres
Modèles d'articles X.X.8., X.X.9., X.X.10. et X.X.11.	Élaboration de modèles d'articles intégrant l'ensemble des modifications ayant un caractère horizontal et soumission du document pour avis.	Examiner les commentaires des États membres
Fiche technique sur le virus du tilapia lacustre	Examen de la fiche technique à l'issue duquel aucune modification n'a été jugée nécessaire.	Examiner la fiche technique et la mettre à jour si nécessaire.
Fiche technique sur <i>Batrachochytrium salamandrivorans</i>	Élaboration d'une fiche technique. Mise en ligne du document sur le site Internet de l'OIE.	Examiner la fiche technique et la mettre à jour si nécessaire.
Document d'orientation sur l'application des critères d'inclusion dans la liste des maladies	Examen du projet de document élaboré par les équipes du siège de l'OIE.	Finaliser le document.
Développer des principes permettant de déterminer les périodes de surveillance dans chacun des chapitres spécifiques des maladies	La Commission des animaux aquatiques a demandé que le groupe <i>ad hoc</i> sur l'absence de maladie se réunisse de façon électronique avant février 2018 afin d'élaborer des principes permettant de déterminer les périodes de surveillance pour chacun des chapitres spécifiques des maladies.	Examiner le rapport du groupe <i>ad hoc</i> électronique.
Nouveau chapitre 4.X .sur la sécurité biologique	La Commission des animaux aquatiques a demandé que le groupe <i>ad hoc</i> se réunisse une seconde fois afin de finaliser le projet de chapitre avant février 2018.	Examiner le rapport du groupe <i>ad hoc</i> .
<b>MANUEL AQUATIQUE</b>		
<b>Tâches</b>	<b>Septembre 2017</b>	<b>Février 2018</b>
Nécrose hématopoïétique épizootique (chapitre 2.3.1.)	Amendement du paragraphe 2.2.2. «Species with incomplete evidence for susceptibility » selon les recommandations de groupe <i>ad hoc</i> . Examen du chapitre, propositions d'amendements supplémentaires et soumission du document pour avis.	Examiner les commentaires des États membres
Infection à <i>Gyrodactylus salaris</i> (chapitre 2.3.3)	Amendement du paragraphe 2.2.2. «Species with incomplete evidence for susceptibility » selon les recommandations de groupe <i>ad hoc</i> . Examen du chapitre, propositions d'amendements supplémentaires et soumission du document pour avis.	Examiner les commentaires des États membres
Infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon (chapitre 2.3.5.)	Amendement du paragraphe 2.2.2. «Species with incomplete evidence for susceptibility » selon les recommandations de groupe <i>ad hoc</i> . Examen du chapitre, propositions d'amendements supplémentaires et soumission du document pour avis.	Examiner les commentaires des États membres

## Annexe 31 (suite)

<b>MANUEL AQUATIQUE (suite)</b>		
<b>Tâches</b>	<b>Septembre 2017</b>	<b>Février 2018</b>
Infection par le virus de la nécrose hypodermique et hématopoïétique infectieuse (chapitre 5.5.4., paragraphes 2.2.1. et 2.2.2.)	Suppression de <i>Macrobrachium rosenbergii</i> de la liste des espèces sensibles. Soumission de la proposition pour avis.	Examiner les commentaires des États membres
Évaluation de la sensibilité de la crevette kuruma ( <i>Penaeus japonicas</i> ) à la maladie de nécrose hépatopancréatique aiguë (chapitre 2.2.1.).	Décision d'inclure la crevette kuruma ( <i>Penaeus japonicas</i> ) dans le paragraphe 2.2.2. « Species with incomplete evidence for susceptibility » du <i>Manuel aquatique</i> . Soumission de la proposition pour avis.	Examiner les commentaires des États membres
Nouveau projet de chapitre sur l'infection à <i>Batrachochytrium salamandrivorans</i> (chapitre 2.1.X.)	En l'absence de Laboratoire de référence pour <i>Batrachochytrium salamandrivorans</i> , la Commission des animaux aquatiques a proposé qu'un expert soit mandaté afin de préparer un projet de chapitre.	
Examiner le modèle de chapitre destiné au <i>Manuel aquatique</i> proposé par le groupe <i>ad hoc</i>	Examen du modèle de chapitre de maladie ayant fait l'objet d'amendements supplémentaires par le groupe <i>ad hoc</i> en réponse aux commentaires de la Commission des animaux aquatiques lors de sa réunion en février 2017. Le groupe <i>ad hoc</i> examinera à nouveau le modèle de chapitre à la lumière des commentaires lui ayant été adressés par la Commission des animaux aquatiques.	Examiner et finaliser le modèle de chapitre ainsi que les trois exemples de chapitres. Les soumettre aux États membres à titre informatif.

---

© **Organisation mondiale de la santé animale (OIE), 2017**

Le présent document a été préparé par des spécialistes réunis par l'Organisation mondiale de la santé animale (OIE). En attendant son adoption par l'Assemblée mondiale des Délégués, les points de vue qui y sont exprimés traduisent exclusivement l'opinion de ces spécialistes.

Toutes les publications de l'OIE sont protégées par la législation internationale sur les droits d'auteur. Des extraits peuvent être copiés, reproduits, traduits, adaptés ou publiés dans des périodiques, documents, ouvrages, supports électroniques ou tout autre média destiné au public, dans un but informatif, éducatif ou commercial, sous réserve de l'autorisation écrite préalable de l'OIE.

Les désignations et dénominations employées ainsi que la présentation des données de cette publication ne reflètent aucune prise de position de l'OIE quant au statut de quelque pays, territoire, ville ou zone que ce soit, à leurs autorités, aux délimitations de leur territoire ou au tracé de leurs frontières.

Les points de vue exprimés dans les articles signés relèvent de la seule responsabilité de leurs auteurs. La mention de sociétés commerciales ou de produits fabriqués, brevetés ou non, n'implique pas que ces sociétés ou produits soient approuvés ou recommandés par l'OIE de préférence à d'autres, de nature similaire et non cités.

