

Rapport de la réunion de la Commission des normes sanitaires pour les animaux aquatiques de l'OMSA

Original : anglaise (EN)

13 au 20 septembre 2023

Introduction et contribution des membres

Ce rapport présente les travaux de la Commission des normes sanitaires pour les animaux aquatiques (ci-après désignée par « Commission des animaux aquatiques ») qui s'est réunie à Paris (France), du 13 au 20 septembre 2023.

La Commission des animaux aquatiques de l'OMSA a souhaité remercier les Membres suivants de lui avoir adressé des commentaires écrits portant sur les projets de textes destinés au *Code sanitaire pour les animaux aquatiques* de l'OMSA (ci-après désigné par « *Code aquatique* ») et au *Manuel des tests de diagnostic pour les animaux aquatiques* de l'OMSA (ci-après désigné par « *Manuel aquatique* ») diffusés dans le rapport de février 2023 de la Commission : l'Australie, le Canada, le Chili, la Chine (République populaire de), la Corée (République de), les États-Unis d'Amérique, le Japon, le Mexique, la Norvège, la Nouvelle-Calédonie, la Nouvelle-Zélande, le Royaume-Uni, la Suisse, le Taipei chinois, la Thaïlande, le Bureau interafricain des ressources animales de l'Union africaine (UA-BIRA) et les États membres de l'Union européenne (UE). La Commission a également souhaité remercier les nombreux experts du réseau scientifique de l'OMSA pour leurs précieux conseils et contributions.

La Commission des animaux aquatiques a examiné tous les commentaires qui avaient été transmis dans les délais impartis et étaient étayés par une justification. En raison du grand nombre de commentaires, la Commission n'a pas été en mesure de présenter des explications détaillées quant aux raisons pour lesquelles elle a accepté ou rejeté chacun des commentaires examinés et a axé ses explications sur les questions les plus importantes. Aucun texte explicatif n'a été proposé lorsque les modifications étaient d'ordre rédactionnel. La Commission a souhaité rappeler que les propositions de textes transmises par les Membres visant à améliorer la clarté n'ont pas toutes été acceptées ; elle a considéré que dans ces cas, le texte était clair tel qu'il était rédigé. La Commission a procédé aux modifications des projets de textes de la manière habituelle, c'est-à-dire en ayant recours à la fonction « double souligné » et à la fonction « barré ». Dans les annexes concernées, les modifications proposées lors de cette réunion sont mises en évidence par un surlignage jaune afin de les distinguer de celles proposées antérieurement.

Annexes

Les textes figurant en **annexes 1 à 6 et 8 à 34** sont présentés afin de recueillir les commentaires. L'**annexe 7** est présentée à titre d'information.

Procédure de soumission des commentaires

La Commission des animaux aquatiques encourage vivement les Membres et les Organisations internationales ayant conclu un Accord de coopération avec l'OMSA à participer à l'élaboration des normes internationales de l'OMSA en présentant des commentaires portant sur les annexes pertinentes du présent rapport. Tous les commentaires doivent être transmis à l'OMSA par l'intermédiaire des Délégués de l'OMSA ou par des Organisations avec lesquelles l'OMSA a un Accord de coopération.

La Commission a souhaité attirer l'attention des Membres sur les cas dans lesquels un Groupe *ad hoc* a traité un sujet spécifique à la demande de la Commission des animaux aquatiques. Dans ces cas, les Membres sont invités à examiner ces rapports conjointement au rapport de la Commission. Les rapports des Groupes *ad hoc* ne sont plus joints en annexes du rapport de la Commission. Ils sont en revanche disponibles sur des pages du site internet de l'OMSA, dédiées par exemple aux rapports des Groupes *ad hoc* :

<https://www.l'OMSA.org/fr/ce-que-nous-faisons/normes/processus-detablissement-des-normes/groupes-ad-hoc/>



World Organisation
for Animal Health
Founded as OIE

Standards Department
[ACC.Secretariat@woah.org]

12, rue de Prony
75017 Paris, France

T. +33 (0)1 44 15 18 88
F. +33 (0)1 42 67 09 87
woah@woah.org
www.woah.org

Les commentaires doivent être transmis sous forme de fichiers Word plutôt que de fichiers PDF, en raison des difficultés à incorporer les textes au format PDF dans les documents de travail de la Commission.

Les commentaires doivent être présentés dans les annexes concernées et comporter toutes les modifications du texte proposé, dûment étayées par des justifications structurées ou par des références scientifiques ayant fait l'objet de publications. Les propositions de suppressions doivent être mises en évidence par le recours aux « ~~caractères barrés~~ » et les propositions d'ajout par un « double soulignement ». Les Membres ne doivent pas utiliser la fonction automatique de « suivi des modifications » proposée par le logiciel de traitement de texte Word, car ces modifications sont susceptibles de disparaître lors du processus d'intégration de leurs propositions dans les documents de travail.

Date limite de réception des commentaires

Les commentaires portant sur les textes pertinents du présent rapport doivent parvenir au Secrétariat avant le **5 janvier 2024** afin que la Commission des animaux aquatiques les prenne en considération lors de sa réunion de février 2024.

Destinataire des commentaires

Tous les commentaires doivent être adressés au Service des normes à l'adresse : AAC.Secretariat@l'OMSA.org

Date de la prochaine réunion

La Commission des animaux aquatiques a indiqué que sa prochaine réunion se tiendra du **14 au 21 février 2024**.

Table des matières

1. Accueil	6
1.1. Directrice générale adjointe, pour les Normes internationales et la Science	6
1.2. Directrice générale de l'OMSA	6
1.3. Points d'actualité du Siège de l'OMSA	7
1.3.1. Transparence du processus de l'OMSA d'élaboration des normes.....	7
1.3.2. Outil de navigation en ligne pour les normes de l'OMSA	7
1.3.3. Observatoire de l'OMSA	8
1.3.4. Comité de rédaction de la Revue scientifique et technique.....	8
2. Adoption de l'ordre du jour.....	9
3. Coopération avec la Commission des normes sanitaires pour les animaux terrestres	9
4. Plan de travail et priorités	10
5. Stratégie pour la santé des animaux aquatiques	10
Code sanitaire pour les animaux aquatiques de l'OMSA	10
6. Sujets diffusés aux Membres afin de recueillir leurs commentaires	10
6.1. Définitions du Glossaire : « Services chargés de la santé des animaux aquatiques », « Autorité compétente » et « Autorité vétérinaire ».....	10
6.2. Définitions du Glossaire : « Produits issus d'animaux aquatiques »	11
6.3. Article 1.1.5. du chapitre 1.1. « Notification des maladies et communications des informations épidémiologiques »	11
6.4. Article 1.3.1. du chapitre 1.3. « Maladies listées par l'OMSA ».....	12
6.5. Chapitre 4.3. « Application de la compartimentation » – Document de discussion	13
6.6. Projet de nouveau chapitre 4.X. « Préparation aux situations d'urgence sanitaire » et projet de nouveau chapitre 4.Y. « Gestion des foyers de maladies »	14
6.7. Projet de nouveau chapitre 4.Z. « Contrôle des agents pathogènes dans la laitance et dans les œufs fécondés de poisson faisant l'objet d'échanges commerciaux »	14
6.8. Projet de nouveau chapitre 5.X. « Mouvements d'animaux aquatiques d'ornement »	15
6.9. Marchandises dénuées de risque – Articles X.X.3. destinés aux chapitres spécifiques à des maladies.....	16
6.9.1. Articles 8.X.3. destinés aux chapitres spécifiques à des maladies des amphibiens	17
6.9.2. Articles 9.X.3. destinés aux chapitres spécifiques à des maladies des crustacés	17
6.9.3. Articles 10.X.3. destinés aux chapitres spécifiques à des maladies des poissons	18
6.9.4. Articles 11.X.3. destinés aux chapitres spécifiques à des maladies des mollusques	18
6.10. Modèles d'articles X.X.5. et X.X.6. destinés aux chapitres spécifiques à des maladies	19
6.11. Article 9.3.2. du chapitre 9.3. « Infection par le virus 1 iridescent des décapodes »	20
6.12. Article 10.6.2. du chapitre 10.6. « Infection par le virus de la nécrose hématopoïétique infectieuse »	20
6.13. Article 10.11.2. du chapitre 10.11. « Infection par le virus du tilapia lacustre »	21
6.14. Article 11.5.1. et 11.5.2. du chapitre 11.5. « Infection à <i>Perkinsus marinus</i> »	21
7. Points portés à l'attention des Membres, à titre informatif	22

7.1. Maladies émergentes	22
7.1.1. Covert mortality nodavirus (CMNV)	22
7.1.2. Infection à <i>Enterocytozoon hepatopenaei</i>	23
Manuel des tests de diagnostic pour les animaux aquatiques.....	23
8. Points portés à l'attention des Membres afin de recueillir leurs commentaires.....	24
8.1. Titre 2.2. « Maladies des crustacés »	25
8.1.1. Chapitre 2.2.0. « Informations générales : maladies des crustacés »	25
8.1.2. Chapitre 2.2.2. « Infection à <i>Aphanomyces astaci</i> (peste de l'écrevisse) »	26
8.1.3. Chapitre 2.2.6. « Infection par le nodavirus de <i>Macrobrachium rosenbergii</i> (maladie des queues blanches) »	28
8.1.4. Chapitre 2.2.9. « Infection par le génotype 1 du virus de la tête jaune »	30
8.1.5. Chapitre 2.2.X. « Infection par le virus 1 iridescent des décapodes »	33
8.2. Titre 2.4. « Maladies des mollusques »	33
8.2.1. Chapitre 2.4.0. « Informations générales : maladie des mollusques »	33
8.2.2. Chapitre 2.4.1. « Infection par l'herpèsvirus de l'ormeau »	34
8.2.3. Chapitre 2.4.4. « Infection à <i>Marteilia refringens</i> »	35
8.2.4. Sections 2.2.1. et 2.2.2. du chapitre 2.4.5. « Infection à <i>Perkinsus marinus</i> »	35
9. Points portés à l'attention des Membres à titre informatif	36
9.1. Élaborer un mécanisme visant à accélérer le processus d'actualisation des méthodes de diagnostic dans le <i>Manuel aquatique</i> afin qu'elles soient plus rapidement disponibles pour les Membres	36
10. Groupes ad hoc.....	37
10.1. Groupe <i>ad hoc</i> sur la sensibilité des espèces de mollusques à une infection par une maladie listée par l'OMSA	37
10.2. Groupe <i>ad hoc</i> sur la sensibilité des espèces de poissons à une infection par une maladie listée par l'OMSA.....	37
10.1. Groupe <i>ad hoc</i> sur la sensibilité des espèces de crustacés à une infection par une maladie listée par l'OMSA.....	37
11. Centres de référence ou changement d'experts	37
11.1. Évaluation des candidatures au statut de Centres de référence de l'OMSA pour les questions relatives à la santé animale ou changement d'experts.....	37
11.2. Examen des rapports annuels d'activités de 2022, des Centres de référence de l'OMSA	38
11.3. Amélioration de l'implication des Laboratoires de référence pour les maladies des animaux aquatiques auprès de la Commission des animaux aquatiques	38
11.4. Examen des principaux domaines d'intervention et spécialités des Centres collaborateurs	38
11.5. Appels à candidatures au statut de Laboratoire de référence de l'OMSA	39
12. Autres activités	39
12.1. Enregistrement des kits de diagnostic	39

Liste des annexes

Annexe 1. Point 2 – Ordre du jour adopté.....	40
Annexe 2. Point 2 – Liste des participants.....	43

1. Accueil

1.1. Directrice générale adjointe, pour les Normes internationales et la Science

La Dre Montserrat Arroyo, Directrice générale adjointe de l'OMSA pour les Normes internationales et la Science, a rencontré la Commission des animaux aquatiques le 6 septembre 2023. Elle a souhaité la bienvenue à ses membres et les a remerciés pour leurs contributions durables aux travaux de l'OMSA. La Dre Arroyo a félicité la Commission pour son ordre du jour ambitieux et a également fait part de sa reconnaissance envers les institutions et gouvernements nationaux qui emploient ses membres.

La Dre Arroyo a informé la Commission que, à des fins d'amélioration de la transparence, de la documentation et de la traçabilité du processus d'établissement des normes, la Directrice générale a approuvé une approche par étapes pour la publication des commentaires pris en considération par les Commissions spécialisées concernées (voir le point 1.3.1. du présent rapport).

La Dre Arroyo a informé la Commission que l'Organisation consacre actuellement des efforts à divers projets informatiques, afin de créer des outils qui faciliteront l'accès aux informations et aux mécanismes de saisie de l'OMSA, notamment : i) l'évolution du système permettant de collecter les rapports annuels des Centres de référence ; ii) un système numérisé pour naviguer dans les normes internationales de l'OMSA, comprenant un mécanisme de visualisation des mesures sanitaires recommandées pour les échanges commerciaux internationaux de marchandises concernant les animaux terrestres ; iii) un système amélioré pour l'auto-déclaration d'un statut sanitaire et ; iv) un référentiel pour les rapports PVS. Tous ces projets informatiques visent à améliorer et simplifier l'accès aux informations pertinentes, à assurer la transparence et à renforcer la traçabilité du travail de l'OMSA, ainsi qu'à interconnecter tous les outils.

La Dre Arroyo a informé la Commission que l'appel à experts pour présenter des candidatures à l'élection pour le prochain mandat des Commissions spécialisées de l'OMSA (2024-2027) a été clôturé et que la prochaine étape consiste en l'évaluation de l'éligibilité des candidats par le Comité d'évaluation des candidatures. Elle a indiqué que de plus amples informations seront transmises aux Délégués en temps utile. La Dre Arroyo a pris acte du renforcement de la collaboration avec les autres Commissions spécialisées, et a souligné qu'il est important d'adopter une approche cohérente et harmonisée pour les thèmes de travail communs. La Dre Arroyo a mis l'accent sur les résultats des réunions de 2022 et 2023 des Présidents des Commissions spécialisées et sur l'approche convenue pour la procédure d'élaboration des normes de l'OMSA.

Les membres de la Commission ont remercié la Dre Arroyo pour la présentation de ce point.

1.2. Directrice générale de l'OMSA

La Dre Monique Eloit, Directrice générale de l'OMSA, a rencontré la Commission des animaux aquatiques le 19 septembre et a remercié ses membres pour leur soutien et leur engagement dans la réalisation des objectifs de l'OMSA.

La Dre Eloit a informé la Commission que l'OMSA est actuellement l'objet d'une consultation visant à évaluer les Textes fondamentaux de l'Organisation d'un point de vue technique et juridique. Cette consultation est importante car elle permettra d'introduire une approche plus solide et transparente pour les procédures de l'Organisation, s'appuyant sur une base juridique robuste. La révision des Textes fondamentaux est essentielle pour le maintien de la crédibilité de l'OMSA auprès des parties prenantes et des Membres. La Dre Eloit a indiqué que de plus amples informations seront transmises aux Délégués en temps utile.

La Commission a remercié la Dre Eloit pour la présentation de ce point et est convenue qu'il est important d'évaluer les Textes fondamentaux de l'Organisation. La Commission a souligné l'importance de la sensibilisation au processus d'établissement des normes de l'OMSA au niveau national, afin d'aider les Délégués à établir un engagement durable et efficace dans le processus. La Commission a considéré

que le renforcement de ce lien contribuera à construire un système plus robuste qui permettra également d'améliorer les connaissances au niveau national sur les normes de l'OMSA et les processus y afférents.

1.3. Points d'actualité du Siège de l'OMSA

1.3.1. Transparence du processus de l'OMSA d'élaboration des normes

Le Secrétariat a informé la Commission des animaux aquatiques que la Directrice générale de l'OMSA a approuvé la mise en œuvre d'une approche par étapes visant à améliorer la transparence du processus de l'OMSA pour l'élaboration des normes, qui comprendra la publication des commentaires pris en considération, des réponses et une évolution des rapports de la Commission des animaux aquatiques, de la Commission des normes sanitaires pour les animaux terrestres (Commission des animaux terrestres) et de la Commission des normes biologiques. Ces modifications visent également à s'aligner sur le 7^e Plan stratégique. Le Secrétariat a en outre indiqué que cette proposition avait fait l'objet de discussions avec les Présidents des trois Commissions lors d'une réunion ayant fait suite à la 90^e Session générale, en mai 2023, et qu'ils ont apporté leur soutien à cette approche.

Le Secrétariat a expliqué que ce processus vise également à s'assurer que les Membres puissent acquérir une meilleure compréhension de la complexité et de la diversité des opinions, ainsi que des décisions des Commissions, et que cela se traduira par une meilleure compréhension des préoccupations des Membres. Ce processus doit également améliorer la qualité des commentaires reçus.

Le Secrétariat a expliqué que ce processus sera progressif et qu'il débutera en mars / avril 2024. Les commentaires portant sur les normes nouvelles et les normes révisées qui auront été reçus et examinés lors des réunions de février 2024 des Commissions seront publiés sur le portail des Délégués en même temps que les rapports de février 2024 respectifs de ces Commissions. Ce processus comportera une évolution des rapports des Commissions visant à une complète transparence des commentaires pris en considération et des réponses des Commissions, ce qui se traduira par une meilleure documentation et une meilleure traçabilité du processus de l'OMSA pour l'élaboration des normes. Le Secrétariat a indiqué que les Délégués seront tenus informés tout au long de ce processus et qu'une communication détaillée leur sera adressée après la publication de ce rapport.

1.3.2. Outil de navigation en ligne pour les normes de l'OMSA

Le Service des Normes de l'OMSA a informé la Commission des animaux aquatiques du projet d'élaboration d'un nouvel outil de navigation en ligne concernant les normes de l'OMSA. Ce projet vise à améliorer la manière dont les normes de l'OMSA sont affichées et mises à la disposition des Membres et d'autres utilisateurs. Ce projet permettra d'améliorer l'affichage du *Code aquatique*, du *Code terrestre*, du *Manuel aquatique* et du *Manuel terrestre* sur le site internet de l'OMSA. Il est également attendu que cet outil permette de simplifier le processus annuel de mise à jour du contenu des normes.

Le projet est en ligne avec les objectifs du 7^e Plan stratégique et offrira des bénéfices significatifs aux Membres de l'OMSA, comprenant notamment une accessibilité améliorée aux normes de l'OMSA, une meilleure efficacité dans la recherche des informations, qui aideront à la mise en œuvre des normes de l'OMSA. Le projet sera également bénéfique pour l'Organisation elle-même, l'efficacité des processus internes et l'interopérabilité entre les différents ensembles de données en lien avec les normes de l'OMSA étant améliorées.

La Commission a fait part de son intérêt pour ce projet et de son soutien, et a reconnu qu'il est important de faciliter l'accès des Membres aux normes de l'OMSA, afin de parvenir à une meilleure compréhension et une meilleure utilisation de celles-ci.

1.3.3. Observatoire de l'OMSA

L'Observatoire de l'OMSA a proposé un point sur l'état d'avancement de son programme et a présenté un résumé des principales avancées qui sont intervenues au cours des 12 derniers mois. La Commission des animaux aquatiques a été informée que les productions attendues de l'Observatoire de l'OMSA comprendront désormais les éléments suivants :

- des tableaux de bord : les indicateurs de l'Observatoire feront l'objet d'un suivi sur une base annuelle et les tableaux de bord seront également mis à jour chaque année. La publication d'un rapport annuel complet ne sera pas poursuivie ;
- un rapport de suivi complet : un rapport complet sera désormais publié tous les cinq ans, afin de présenter des informations ayant trait à des aspects spécifiques des plans stratégiques de l'OMSA ;
- un rapport de l'Observatoire à l'intention des Commissions spécialisées : un court rapport sera produit tous les trois ans, afin d'aider les Commissions spécialisées nouvellement élues à élaborer leurs plans de travail ;
- des études thématiques : une ou deux études thématiques seront réalisées chaque année, selon la charge de travail et les besoins. Les résultats de ces études seront publiés sous la forme de rapports ou de tableaux de bord ou d'autres types de productions, en fonction du sujet.

L'Observatoire a informé la Commission de l'avancement relatif aux études thématiques consacrées à la mise en œuvre des normes de l'OMSA sur le bien-être animal lors du transport et sur le zonage et la compartimentation.

La Commission a remercié l'Observatoire pour la présentation de ce point et a plus spécifiquement pris note des informations précieuses que ces études thématiques et ces rapports apporteront, quant au niveau de mise en œuvre des normes. La Commission a en outre reconnu qu'il est important de comprendre les défis auxquels les Membres sont confrontés pour la mise en œuvre de ces normes. Ces informations faciliteront grandement son travail de révision des normes concernées.

1.3.4. Comité de rédaction de la Revue scientifique et technique

La Cheffe de l'Unité des publications de l'OMSA a indiqué pour quelle raison un nouveau comité de rédaction est actuellement mis en place pour le journal de l'OMSA évalué par des pairs, la *Revue scientifique et technique*. Malgré un contenu de grande qualité et bien que des processus éditoriaux et de révision solides soient en vigueur, la publication souffre d'un déficit de gouvernance permettant d'assurer sa crédibilité scientifique.

Le comité de rédaction contrôlera et favorisera la qualité et l'impact de la *Revue scientifique et technique* et formulera également des conseils, à la demande, sur la stratégie globale de publication de l'OMSA. Le rôle du comité sera principalement consultatif, mais il interviendra également de manière occasionnelle dans la révision de contenus, et participera à deux réunions par an.

La Commission des animaux aquatiques a été invitée à désigner un candidat pour le comité de rédaction, susceptible de s'engager dans ce rôle. Étant donné que le mandat de la Commission actuelle prendra fin en mai 2024, le mandat du premier candidat désigné courra jusqu'en mai 2024.

La Commission des animaux aquatiques est convenue que la création d'un nouveau comité de rédaction constitue une avancée positive pour les publications de l'OMSA et a accepté de tenir la Cheffe de l'Unité des publications informée d'un candidat potentiel.

2. Adoption de l'ordre du jour

Le projet d'ordre du jour a été adopté par la Commission des animaux aquatiques. L'ordre du jour et la liste des participants sont présentés respectivement en [annexe 1](#) et en [annexe 2](#).

3. Coopération avec la Commission des normes sanitaires pour les animaux terrestres

Les Bureaux (c'est-à-dire le Président et les deux Vice-présidents) de la Commission des animaux terrestres et de la Commission des animaux aquatiques se sont réunis le 14 septembre 2023, sous la présidence de la Directrice générale adjointe de l'OMSA pour les Normes internationales et la Science. Cette réunion avait pour objectif de partager des informations et de veiller à ce que l'approche appliquée pour la révision des chapitres horizontaux soit harmonisée. Les deux Commissions se sont engagées à organiser des réunions des Bureaux au moins une fois par an pour assurer une meilleure coordination. Les Bureaux ont eu des échanges sur les questions d'intérêt mutuel pour le *Code aquatique* et le *Code terrestre*, concernant notamment :

- l'approche adoptée par les deux Commissions pour l'élaboration de leurs plans de travail et critères respectifs utilisés pour établir les priorités ayant trait aux points, ainsi qu'une procédure par étapes pour l'élaboration des normes de l'OMSA ;
- la mise à jour relative à l'utilisation des termes « Autorité compétente », « Autorité vétérinaire », « Services vétérinaires » et « Services chargés de la santé des animaux aquatiques » afin de s'assurer que l'approche est harmonisée ;
- les travaux d'élaboration d'un cadre pour les chapitres spécifiques à des maladies du *Code terrestre* afin de proposer une structure normalisée pour les chapitres spécifiques à des maladies, en vue d'une rédaction et une compréhension cohérentes de l'ensemble de ces chapitres ;
- la proposition d'un projet de révision du guide de l'Utilisateur du *Code terrestre* afin d'améliorer l'utilité qu'offre cette partie pour les Membres ;
- le nouveau projet de chapitre 4.X. du *Code terrestre* « Sécurité biologique », qui sera diffusé afin de recueillir les commentaires des Membres. Le Bureau de la Commission des animaux terrestres est convenu de partager les documents de travail lorsque des commentaires sont reçus ;
- le nouveau projet de chapitre 4.X. « Préparation aux situations d'urgence sanitaire » et le nouveau projet de chapitre 4.Y. « Gestion des foyers de maladies » du *Code aquatique* qui seront diffusés afin de recueillir les commentaires des Membres. Le Bureau de la Commission des animaux aquatiques est convenu de partager les documents de travail lorsque des commentaires sont reçus ;
- le projet visant à faire progresser les travaux portant sur le chapitre 4.2. « Zonage et compartimentation », et le chapitre 4.3. « Application de la compartimentation » du *Code aquatique*. La Commission des animaux aquatiques élabore actuellement un document de discussion décrivant les propositions de modifications devant être diffusées aux Membres afin de recueillir leurs commentaires. Le Bureau de la Commission des animaux aquatiques est convenu de partager les documents de travail tels qu'ils ont été élaborés ;
- le point sur les travaux de révision des chapitres 5.4. à 5.7. du *Code terrestre*. Le projet de chapitre 5.4. « Mesures et procédures applicables à l'exportation de marchandises » et le projet de chapitre 5.6. « Mesures et procédures applicables à l'importation de marchandises » sont diffusés afin de recueillir les commentaires des Membres. Le Bureau de la Commission des animaux terrestres est convenu de partager les projets de chapitres et de poursuivre la diffusion des documents de travail lorsque des commentaires sont reçus ;
- La révision du chapitre 6.10. du *Code terrestre* « Usage responsable et prudent des agents antimicrobiens en médecine vétérinaire ». Le Bureau de la Commission des animaux terrestres est convenu de continuer de partager les documents de travail lorsque des commentaires sont reçus.

4. Plan de travail et priorités

Des commentaires ont été transmis par l'Australie, la Norvège, la Nouvelle-Calédonie, la Nouvelle-Zélande et l'UE.

La Commission des animaux aquatiques a examiné les commentaires reçus et a pris note du soutien apporté à l'élaboration du chapitre 4.X. « Préparation aux situations d'urgence sanitaire », du chapitre 4.Y. « Gestion des foyers de maladie », du chapitre 4.Z. « Contrôle des agents pathogènes dans la laitance et dans les œufs fécondés de poisson faisant l'objet d'échanges commerciaux », et du chapitre 5.X. « Mouvements d'animaux aquatiques d'ornement », et a informé les Membres qu'elle diffusera les quatre projets de nouveaux chapitres dans le cadre de ce rapport, afin de recueillir leurs commentaires.

La Commission a examiné l'état d'avancement des points en cours figurant dans son plan de travail et est convenu des étapes attendues pour leur finalisation. La Commission a examiné l'ordre des priorités établi pour les nouveaux sujets de travail, en tenant compte d'un certain nombre de critères, notamment l'amélioration attendue des normes et leur impact, les bénéfices retirés par les Membres, les commentaires des Membres, la pertinence de ces sujets au regard des activités menées dans le cadre de la Stratégie de l'OMSA pour la santé des animaux aquatiques, les commentaires du Siège de l'OMSA et l'état d'avancement des sujets en cours figurant dans le plan de travail.

La Commission a indiqué que les avancées ayant trait aux points du plan de travail qui dépendent de la constitution de Groupes *ad hoc* devraient correspondre à ce qui a été prévu pour 2023. La liste des Groupes *ad hoc* existants et à établir en 2023 est disponible sur le site internet de l'OMSA.

Le plan de travail mis à jour est présenté en **annexe 3** afin de recueillir les commentaires.

5. Stratégie pour la santé des animaux aquatiques

Le coordonnateur de la Stratégie pour la santé des animaux aquatiques a fait le point sur la mise en œuvre de ladite Stratégie. La Commission a été informée des étapes essentielles et des accomplissements depuis la dernière mise à jour présentée en février 2023, des nouvelles activités en voie de réalisation, des initiatives en matière de communication et des priorités pour 2024. La Commission est également convenue d'apporter sa contribution à un certain nombre de proposition d'activités présentant un intérêt pour l'élaboration de normes et pour les Centres de référence.

Code sanitaire pour les animaux aquatiques de l'OMSA

6. Sujets diffusés aux Membres afin de recueillir leurs commentaires

6.1. Définitions du Glossaire : « Services chargés de la santé des animaux aquatiques », « Autorité compétente » et « Autorité vétérinaire »

Des commentaires ont été transmis par l'Australie, la Chine (Rép. populaire de), le Royaume-Uni, l'UA-BIRA et l'UE.

Contexte

Lors de la 89^e Session générale, en mai 2022, les définitions révisées du Glossaire du *Code aquatique* pour les termes « Services chargés de la santé des animaux aquatiques », « Autorité compétente » et « Autorité vétérinaire » ont été adoptées. La révision de ces définitions a été effectuée de manière coordonnée avec la Commission des animaux terrestres.

Lors de sa réunion de septembre 2022, la Commission des animaux aquatiques et la Commission des animaux terrestres sont convenues de coordonner leurs travaux visant à réviser l'emploi respectif de ces définitions dans le *Code aquatique* et le *Code terrestre*, afin de veiller à leur harmonisation, lorsqu'il y a lieu.

Lors de sa réunion de février 2023, la Commission des animaux aquatiques a passé en revue toutes les occurrences dans le *Code aquatique* des termes « Services chargés de la santé des animaux aquatiques », « Autorité compétente » et « Autorité vétérinaire », et a diffusé les propositions de modifications afin de recueillir les commentaires.

Rapports antérieurs de la Commission dans lesquels ce point a été traité

Rapport de septembre 2022 (point 6.1., page 12) ; rapport de février 2023 (point 8.1., page 17).

Réunion de septembre 2023

La Commission des animaux aquatiques a examiné les commentaires reçus et a relevé que les Membres étaient généralement favorables aux propositions de modifications. La Commission est convenue que le terme « Services chargés de la santé des animaux aquatiques » doit être réintégré dans le point 6 de l'article 4.2.3. car les « Services chargés de la santé des animaux aquatiques » ont la charge du plan de sécurité biologique d'un compartiment.

Les propositions de modifications pour l'usage des termes « Services chargés de la santé des animaux aquatiques », « Autorité compétente » et « Autorité vétérinaire » sont présentés en **annexe 4** afin de recueillir les commentaires.

6.2. Définitions du Glossaire : « Produits issus d'animaux aquatiques »

Réunion de septembre 2023

Tout en garantissant l'harmonisation des termes du Glossaire dans l'ensemble du *Code aquatique* suite aux évaluations ayant trait aux marchandises dénuées de risques, il a été relevé que, dans la version anglaise, certaines occurrences du terme « products of aquatic animal origin » (produits provenant d'animaux aquatiques) doivent être remplacées par le terme du Glossaire « aquatic animal products » (produits issus d'animaux aquatiques). La Commission des animaux aquatiques est convenue de réviser le texte concerné afin de veiller à ce que le terme du Glossaire « produits issus d'animaux aquatiques » soit utilisé dans l'ensemble du *Code aquatique*.

Les propositions de modifications pour l'usage du terme « produits issus d'animaux aquatiques » sont présentés en **annexe 5** afin de recueillir les commentaires.

6.3. Article 1.1.5. du chapitre 1.1. « Notification des maladies et communications des informations épidémiologiques »

Des commentaires ont été transmis par l'Australie, la Norvège, le Royaume-Uni et l'UE.

Contexte

Lors de sa réunion de février 2019, la Commission des animaux terrestres est convenue de supprimer l'article 1.1.5. dans le *Code terrestre* car elle a considéré que ces informations étaient traitées dans le chapitre 1.6. « Procédures pour la reconnaissance officielle d'un statut zoosanitaire ». La modification du chapitre 1.1. du *Code terrestre* consistant en la suppression de l'article 1.1.5., a été adoptée en mai 2021.

Lors de sa réunion de février 2023, la Commission des animaux aquatiques est convenue que les exigences figurant dans l'article 1.1.5. du chapitre 1.1. « Notification des maladies et communication des informations épidémiologiques » sont désormais abordées dans le chapitre 1.4. révisé « Surveillance des maladies des animaux aquatiques » qui a été adopté en mai 2022. La Commission a donc approuvé la suppression de l'article 1.1.5. afin d'éviter les doublons au sein du *Code aquatique* et de veiller à l'harmonisation du texte de ce chapitre avec celui du chapitre 1.1. du *Code terrestre* « Notification des maladies et communication des informations épidémiologiques ».

Réunion de septembre 2023

La Commission a examiné les commentaires reçus et n'a formulé aucune proposition d'amendements supplémentaires ; elle a indiqué que les Membres sont favorables aux modifications proposées.

L'article 1.1.5. du chapitre 1.1. « Notification des maladies et communication des informations épidémiologiques » est présenté en **annexe 6** afin de recueillir les commentaires.

6.4. Article 1.3.1. du chapitre 1.3. « Maladies listées par l'OMSA »

Des commentaires ont été transmis par l'Australie, le Canada, le Chili, la Chine (Rép. populaire de), les États-Unis d'Amérique, le Japon, la Norvège, le Royaume-Uni, le Taipei chinois, la Thaïlande, l'UA-BIRA et l'UE.

Contexte

Lors de sa réunion de février 2022, la Commission des animaux aquatiques a indiqué que d'autres virus du genre *Megalocytivirus*, en plus de l'iridovirus de la daurade rouge (RSIV), peuvent provoquer des maladies graves chez les poissons. Ces virus comprennent deux autres génogroupes de l'espèce virale de la nécrose infectieuse rénale et splénique (ISKNV), à savoir le génogroupe de l'iridovirus du corps rougeâtre du turbot (TRBIV) et le génogroupe du virus de la nécrose infectieuse rénale et splénique (ISKNV). Les génogroupes ISKNV et TRBIV n'entrent pas dans le champ d'application du chapitre 10.8. du *Code aquatique* « Infection par l'iridovirus de la daurade japonaise ».

La Commission a indiqué que l'inscription éventuelle dans la Liste des génogroupes ISKNV et TRBIV (en plus du RSIV), nécessiterait une évaluation préalable des virus au regard des critères figurant dans le chapitre 1.2. « Critères d'inclusion des maladies des animaux aquatiques ». La Commission a procédé à une évaluation de l'espèce virale de la nécrose infectieuse rénale et splénique (espèce ISKNV), comprenant ses trois génogroupes RSIV, ISKNV et TRBIV, au regard des critères figurant dans le chapitre 1.2. « Critères d'inclusion des maladies des animaux aquatiques ». La Commission est convenue que l'espèce ISKNV, comprenant le génogroupe RSIV (actuellement listé dans le *Code aquatique*), ainsi que les deux génogroupes ISKNV et TRBIV satisfont aux critères d'inclusion 1, 2, 3 et 4b. La Commission a par conséquent proposé que la dénomination de la maladie listée soit remplacée par « infection par le virus de la nécrose infectieuse rénale et splénique (ISKNV) » et que sa définition couvre les trois génogroupes de l'espèce ISKNV (c'est-à-dire l'ISKNV, le RSIV et le TRBIV). mais n'inclut pas le virus de la maladie de la perte des écailles (*scale drop disease* - SDDV), l'autre espèce reconnue de *Megalocytivirus*.

Lors de sa réunion de février 2023, la Commission a de nouveau indiqué que la proposition vise à modifier la dénomination de la maladie listée dans l'article 1.3.1. de « infection par l'iridovirus de la daurade japonaise » en « infection par le virus de la nécrose infectieuse rénale et splénique ». Cette proposition permettrait de conserver le génogroupe de l'iridovirus de la daurade japonaise comme maladie listée et d'intégrer également le génogroupe du virus de la nécrose infectieuse rénal et splénique et le génogroupe de l'iridovirus du corps rougeâtre du turbot.

Rapports antérieurs de la Commission dans lesquels ce point a été traité

Février 2022 (partie B, point 3.1.2.3., page 13) ; septembre 2022 (point 5.1., page 7) ; février 2023 (point 8.3., page 19).

Réunion de septembre 2023

La Commission a examiné les commentaires et a relevé que la majorité des commentaires étaient favorables à la proposition de modification de la dénomination listée de « infection par l'iridovirus de la daurade japonaise » en « infection par l'espèce virale de la nécrose infectieuse rénale et splénique ».

La Commission a conclu que les informations figurant dans l'évaluation de l'infection par le virus de la nécrose infectieuse rénale et splénique au regard des critères du chapitre 1.2. « Critères d'inclusion des maladies des animaux aquatiques » sont solides et a de nouveau indiqué que l'évaluation étaye l'inclusion dans la Liste de tous les génogroupes, comprenant le RSIV, l'ISKNV et le TRBIV.

La Commission a examiné des commentaires selon lesquels le Comité international de taxonomie des virus (ICTV) révisé actuellement la classification et la nomenclature du genre *Megalocytivirus* et qu'une nouvelle proposition de nom doit être utilisée pour l'inclusion de la maladie afin d'éviter toute confusion entre l'espèce ISKNV et le génogroupe ISKNV. La Commission a confirmé qu'une nouvelle nomenclature est en cours d'étude par l'ICTV, mais a indiqué que la décision et sa publication sont en attente. La Commission continuera de suivre cette question et adoptera la nouvelle nomenclature lorsqu'elle aura été publiée par l'ICTV.

La Commission est convenue qu'il existe certaines limites en matière de validation des tests de diagnostic pour la détection du génogroupe TRBIV, dues à la disponibilité de tissus infectés par le TRBIV. La Commission a toutefois rappelé qu'il existe diverses méthodes couvrant les trois génogroupes (Kawato *et al.*, 2021a, Koda *et al.*, 2023 et Kim *et al.*, 2022). Des études supplémentaires relatives à la précision du diagnostic sont nécessaires, en particulier en ayant recouru à des tissus infectés par le TRBIV, quoique cela ne constitue pas un obstacle pour que ce critère soit satisfait.

S'agissant de la demande de révision du libellé du critère 2 de l'article 1.2.2. concernant la démonstration de l'absence de la maladie dans un pays indemne et le remplacement de « peut » par « a », la Commission a indiqué que des commentaires similaires avaient été pris en considération lors de la révision du chapitre 1.2. en 2015 - 2016. La Commission a redit que le terme « peut » est plus approprié afin d'éviter qu'un Membre se voit obligé de démontrer l'absence de la maladie (en l'absence de normes spécifiques à la maladie) avant que les critères d'inclusion puissent être appliqués. Un Membre a en outre indiqué dans un commentaire qu'il dispose d'un programme de surveillance en vigueur pour l'espèce ISKNV et qu'il est indemne d'infection par cette espèce virale chez une des espèces sensibles détenue en élevage.

Dans le document d'évaluation pour l'inclusion dans la Liste, la Commission est convenue d'ajouter que chaque génogroupe est en outre subdivisé en deux clades, en mentionnant les références pertinentes.

L'évaluation révisée de l'infection par l'ensemble des génogroupes de l'espèce virale de la nécrose infectieuse rénale et splénique au regard des critères du chapitre 1.2. « Critères d'inclusion des maladies des animaux aquatiques » est présentée en **annexe 7** pour information.

L'article 1.3.1. révisé du chapitre 1.3. « Maladies listées par l'OMSA » est présenté en **annexe 8** afin de recueillir les commentaires.

6.5. Chapitre 4.3. « Application de la compartimentation » – Document de discussion

Réunion de septembre 2023

La Commission des animaux aquatiques est convenue d'élaborer un document de discussion visant à impliquer les Membres sur les questions pertinentes ayant trait à la révision du chapitre 4.3. « Application de la compartimentation ».

La Commission a souligné que la compartimentation offre la possibilité de pratiquer des échanges commerciaux de marchandises issues d'animaux aquatiques exempts de maladies, en provenance de zones ou de pays qui ne sont pas déclarés indemnes des maladies suscitant les préoccupations. Si la compartimentation est particulièrement pertinente pour les maladies des animaux aquatiques – étant donné que l'éradication est souvent impossible – elle n'a pas été mise en œuvre ou largement reconnue par les Membres. La Commission a mis l'accent sur le fait que la révision du chapitre 4.3. vise à apporter des précisions relatives aux exigences en matière de compartiments, à améliorer leur acceptation ainsi qu'à augmenter l'attractivité des investissements du secteur privé dans ce domaine.

Le document de discussion propose un ensemble d'objectifs pour l'application des compartiments, des principes de haut niveau pour orienter leur mise en œuvre et décrit le concept de compartiments dépendants et indépendants. Globalement, ces propositions sont destinées à clarifier l'application des compartiments en vue d'une gestion efficace des risques, tout en élargissant également l'ensemble des circonstances dans lesquelles ils seraient susceptibles d'être appliqués.

Ce document de discussion a tiré parti des informations issues des réponses de Membres à un court questionnaire diffusé dans le rapport de la réunion de septembre 2022 de la Commission, ainsi que sur les retours d'informations des ateliers des Points focaux.

La Commission a expliqué que des questions sont proposées tout au long du document de travail afin d'inciter les Membres à réagir à des problèmes particulièrement importants pour l'orientation de la révision du chapitre. Les Membres sont invités à formuler des commentaires portant sur le document de travail, en transmettant notamment des réponses aux questions posées, ainsi que sur d'autres questions concernant la révision du chapitre 4.3.

Le document de discussion consacré au chapitre 4.3. « Application de la compartimentation » est présenté en [annexe 9](#) afin de recueillir les commentaires.

6.6. Projet de nouveau chapitre 4.X. « Préparation aux situations d'urgence sanitaire » et projet de nouveau chapitre 4.Y. « Gestion des foyers de maladies »

Contexte

Lors de sa réunion de septembre 2022, la Commission des animaux aquatiques a discuté des travaux du Groupe *ad hoc* sur la préparation aux situations d'urgence sanitaire et sur la gestion des foyers de maladie chez les animaux aquatiques, qui s'est réuni à deux reprises en 2021-2022, et est convenue de poursuivre les travaux consacrés à l'élaboration d'un projet de nouveau chapitre 4.X. « Préparation aux situations d'urgence sanitaire » et d'un projet de nouveau chapitre 4.Y. « Gestion des foyers de maladie ».

Ces chapitres viendront étayer la mise en œuvre d'autres normes du *Code aquatique*, en particulier de celles traçant la voie vers le retour à l'absence de maladie.

Réunion de septembre 2023

La Commission a finalisé les travaux consacrés au projet de nouveau chapitre 4.X. « Préparation aux situations d'urgence sanitaire » et au projet de nouveau chapitre 4.Y. « Gestion des foyers de maladie ».

La Commission a indiqué que ces deux projets de nouveaux chapitres sont étroitement liés. Le chapitre 4.X. décrit les éléments essentiels d'un cadre de préparation aux situations d'urgence sanitaire qui couvre tous les éléments qui permettront à l'Autorité compétente d'activer une réponse efficace face à un foyer de maladie. Le chapitre 4.Y. décrit les actions spécifiques nécessaires pour rendre le cadre opérationnel en cas de foyer de maladie.

Le projet de nouveau chapitre 4.X. « Préparation aux situations d'urgence sanitaire » et le projet de nouveau chapitre 4.Y. « Gestion des foyers de maladie » sont présentés respectivement en [annexe 10](#) et en [annexe 11](#) afin de recueillir les commentaires.

6.7. Projet de nouveau chapitre 4.Z. « Contrôle des agents pathogènes dans la laitance et dans les œufs fécondés de poisson faisant l'objet d'échanges commerciaux »

Réunion de septembre 2023

La Commission des animaux aquatiques a examiné le projet de nouveau chapitre 4.Z. « Contrôle des agents pathogènes dans la laitance et dans les œufs fécondés de poisson faisant l'objet d'échanges commerciaux », qui a été élaboré en collaboration avec l'industrie. La Commission a rappelé aux Membres que ce chapitre a pour objectif de proposer des recommandations en vue d'échanges

commerciaux dénués de risques de la laitance et des œufs fécondés de poisson provenant de zones qui n'ont pas été déclarées indemnes d'infection par une maladie listée.

Pour prendre en compte les dispositions figurant dans le projet de nouveau chapitre 4.Z., la Commission est convenue de réviser le modèle d'article 10.X.10. pour l'infection par l'alphavirus des salmonidés (SAV), l'infection par le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique (IHNV) et l'infection par le virus de la septicémie hémorragique virale (VHSV) et l'article 10.4.15. pour l'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon (ISAV) et d'ajouter une option dans les points 1 et 2 afin de respecter les exigences décrites dans le chapitre 4.Z.

La Commission a révisé les modèles d'articles 10.X.15. pour l'infection par le SAV, l'infection par l'IHNV et l'infection par le VHSV, et l'article 10.4.20. pour l'infection par le virus de l'ISAV afin qu'ils soient en ligne avec les recommandations figurant dans le nouveau chapitre 4.Z.

La Commission est convenue d'ajouter une nouvelle définition dans le Glossaire du *Code aquatique* pour le terme « centre de collecte et d'incubation » afin de garantir une compréhension commune de ce terme, compte tenu de l'importance de son utilisation dans le projet de nouveau chapitre 4.Z.

La Commission est convenue qu'elle discutera plus en détail lors de sa réunion de février 2024 de toute modification appropriée des articles figurant dans les chapitres consacrés aux maladies des poissons autres que l'infection par le SAV, l'infection par le IHNV, l'infection par le VHSV et l'infection par le ISAV.

Le nouveau chapitre 4.Z. « Contrôle des agents pathogènes dans la laitance et les œufs fécondés de poisson faisant l'objet d'échanges commerciaux » est présenté en **annexe 12** afin de recueillir les commentaires.

Le modèle révisé d'article 10.X.10. pour le chapitre 10.5. « Infection par l'alphavirus des salmonidés », le chapitre 10.6. « Infection par le virus de la nécrose hématopoïétique infectieuse » et le chapitre 10.10. « Infection par le virus de la septicémie hémorragique virale », ainsi que l'article 10.4.15. pour le chapitre 10.4. « Infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon » sont présentés en **annexe 13** afin de recueillir les commentaires.

Le modèle révisé d'article 10.X.15. pour le chapitre 10.5. « Infection par l'alphavirus des salmonidés », le chapitre 10.6. « Infection par le virus de la nécrose hématopoïétique infectieuse » et le chapitre 10.10. « Infection par le virus de la septicémie hémorragique virale », ainsi que l'article 10.4.20. pour le chapitre 10.4. « Infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon » sont présentés en **annexe 14** afin de recueillir les commentaires.

Le nouveau terme du Glossaire est présenté en **annexe 15** afin de recueillir les commentaires.

6.8. Projet de nouveau chapitre 5.X. « Mouvements d'animaux aquatiques d'ornement »

Réunion de septembre 2023

La Commission des animaux aquatiques a examiné le projet de nouveau chapitre 5.X. « Mouvements d'animaux aquatiques d'ornement », qui a été élaboré au sein de la Commission, en prenant également en compte les informations en retour des séminaires des points focaux au cours desquels la proposition relative au besoin, à l'objectif et au champ d'application a été l'objet de discussions.

La Commission a rappelé aux Membres l'importance de l'élaboration de ce nouveau projet de chapitre étant donné que les mouvements internationaux d'animaux aquatiques d'ornement se caractérisent par le transfert de nombreux animaux isolés, appartenant à de nombreuses espèces de poissons, crustacés, mollusques et amphibiens provenant d'environnements variés. Les chaînes d'approvisionnement peuvent comprendre le regroupement d'animaux provenant de sources multiples ainsi que leur dissémination à la faveur du commerce de détail comme animaux de compagnie, ce qui crée ainsi des occasions de transmission de maladies. Ces caractéristiques relatives aux mouvements d'animaux aquatiques

d'ornement sont susceptibles de constituer des défis en matière de gestion des risques afférents aux maladies des animaux aquatiques.

Le chapitre 5.X. présente des recommandations pour la gestion des risques de maladies associés aux mouvements d'animaux aquatiques d'ornement et constitue un complément à d'autres dispositions du *Code aquatique*, comprenant les mesures énoncées dans les chapitres spécifiques à des maladies.

La Commission est convenue d'ajouter une nouvelle définition du Glossaire du *Code aquatique* pour le terme « animal aquatique d'ornement » afin de s'assurer de la compréhension commune de ce terme, compte tenu de l'importance de son utilisation dans le projet de nouveau chapitre 5.X.

Le nouveau chapitre 5.X. « Mouvements d'animaux aquatiques d'ornement » est présenté en **annexe 16** afin de recueillir les commentaires.

La nouvelle définition du Glossaire pour le terme « animal aquatique d'ornement » est présentée en **annexe 15** afin de recueillir les commentaires.

6.9. Marchandises dénuées de risque – Articles X.X.3. destinés aux chapitres spécifiques à des maladies

Contexte

Lors de sa réunion de septembre 2020, la Commission des animaux aquatiques a révisé l'article X.X.3. de tous les chapitres spécifiques à des maladies afin de répondre aux commentaires selon lesquels les couples temps / température recommandés dans ces articles correspondaient à différents niveaux de traitements thermiques et que certains n'étaient pas réalisables d'un point de vue commercial, car ils occasionneraient une baisse de la qualité des produits.

Entre septembre 2020 et février 2022, la Commission a diffusé des propositions de modifications des articles X.X.3. dans tous les chapitres spécifiques à des maladies du *Code aquatique*, afin qu'ils prennent en compte cette approche révisée. En mai 2022, les propositions de modifications des articles 9.X.3. et 10.X.3. ont été adoptées.

Lors de sa réunion de février 2022, la Commission a relevé que les évaluations entreprises antérieurement au regard des « critères d'évaluation de la sécurité des produits issus d'animaux aquatiques importés (ou en transit) à quelque fin que ce soit, et indépendamment du statut du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation sanitaire au regard de la maladie X » (tel que décrit à l'article 1.4.1.) nécessitaient d'être revues sur la base de nouvelles preuves de la stabilité thermique, et elle a demandé qu'un consultant soit engagé afin qu'il procède à cette révision.

Lors de sa réunion de février 2023, la Commission a examiné les évaluations relatives aux marchandises dénuées de risque qui avaient été réalisées pour l'ensemble des produits issus d'animaux aquatiques listés dans l'article X.X.3. de tous les chapitres spécifiques à des maladies et est convenue d'appliquer la nouvelle approche et d'utiliser les nouvelles informations scientifiques, le cas échéant.

Réunion de septembre 2023

La Commission a examiné un commentaire visant à intégrer plusieurs couples temps / température des traitements thermiques pour l'inactivation concernant les produits issus d'animaux aquatiques listés dans les articles X.X.3., lorsque cet ajout est étayé par l'évaluation. La Commission est convenue qu'il s'agit d'une proposition satisfaisante et qu'elle la prendrait en considération lors d'une prochaine réunion.

La Commission a rappelé aux Membres que toutes les informations relatives aux évaluations ayant trait aux marchandises dénuées de risques peuvent être consultées sur le site internet de l'OMSA à l'adresse : <https://www.l'OMSA.org/en/document/safe-commodity-assessments-for-l'OMSA-listed-aquatic-animal-diseases-2023/>

6.9.1. Articles 8.X.3. destinés aux chapitres spécifiques à des maladies des amphibiens

Des commentaires ont été transmis par l'Australie, la Corée (Rép. de), la Norvège, la Nouvelle-Calédonie, le Royaume-Uni, la Thaïlande et l'UE.

Contexte

Lors de sa réunion de février 2022, la Commission a modifié les articles 8.X.3. afin qu'ils soient en ligne avec les amendements adoptés en 2022 dans les articles 9.X.3. et 10.X.3. selon l'approche révisée des couples temps / température ; les articles ont été diffusés afin de recueillir les commentaires.

Lors de sa réunion de février 2023, la Commission a examiné les évaluations révisées ayant trait aux marchandises dénuées de risques pour les produits listés dans les articles 8.X.3., a modifié ces articles en conséquence et les a diffusés afin de recueillir les commentaires.

Rapports antérieurs de la Commission dans lesquels ce point a été traité

Septembre 2020 (point 4.7., page 10) ; février 2021 (partie B : point 1.4., page 8) ; septembre 2021 (point 5.1.5., page 24) ; rapport de février 2022 (partie B : point 2.1.1.1., page 5) ; rapport de février 2023 (point 8.4.1., page 23).

Réunion de septembre 2023

La Commission a examiné les commentaires reçus et n'a proposé aucune modification supplémentaire, en relevant que les Membres sont favorables aux modifications proposées.

Les articles révisés 8.1.3., 8.2.3. et 8.3.3. sont présentés en **annexe 17** respectivement avec et sans marques de modifications, afin de recueillir les commentaires.

6.9.2. Articles 9.X.3. destinés aux chapitres spécifiques à des maladies des crustacés

Des commentaires ont été transmis par l'Australie, la Chine (Rép. populaire de), la Corée (Rép. de), les États-Unis d'Amérique, la Norvège, la Nouvelle-Calédonie, le Royaume-Uni, la Thaïlande et l'UE.

Contexte

Lors de sa réunion de février 2023, la Commission a examiné les évaluations révisées ayant trait aux marchandises dénuées de risques pour les produits listés dans les articles 9.X.3., a modifié les articles 9.3.3., 9.4.3., 9.6.3., 9.8.3. et 9.10.3. en conséquence, et les a diffusés afin de recueillir les commentaires.

Rapports antérieurs de la Commission dans lesquels ce point a été traité

Rapport de février 2023 (point 8.4.2., page 23).

Réunion de septembre 2023

La Commission a accepté d'ajouter « that » qui était manquant dans la version anglaise du point 1 de l'article 9.4.3.

La Commission a approuvé la correction d'une erreur dans la version anglaise de l'article 9.7.3., afin de lire cinq minutes et non 50 minutes.

Les articles révisés 9.3.3., 9.4.3., 9.6.3., 9.7.3. et 9.8.3. sont présentés en **annexe 18** afin de recueillir les commentaires.

6.9.3. Articles 10.X.3. destinés aux chapitres spécifiques à des maladies des poissons

Des commentaires ont été transmis par l'Australie, la Chine (Rép. populaire de), la Corée (Rép. de), les États-Unis d'Amérique, la Norvège, la Nouvelle-Calédonie, le Royaume-Uni, la Thaïlande et l'UE.

Contexte

Lors de sa réunion de février 2023, la Commission a examiné les évaluations révisées ayant trait aux marchandises dénuées de risques pour les produits listés dans les articles 10.X.3., a modifié ces articles en conséquence et les a diffusés afin de recueillir les commentaires.

Rapports antérieurs de la Commission dans lesquels ce point a été traité

Rapport de février 2023 (point 8.4.3., page 23).

Réunion de septembre 2023

La Commission n'a pas accepté d'ajouter « en utilisant un procédé qui atténue la possible contamination des produits à base de poisson réfrigérés » à la fin du point 7 de l'article 10.3.3., car elle a considéré que le retrait de la peau, des nageoires et des branchies des produits à base de poisson réfrigérés est suffisant.

La Commission n'a pas accepté d'ajouter une virgule après i.e. car cela n'est pas conforme au guide en matière de style du *Code aquatique*.

À l'article 10.9.3., la Commission a refusé de modifier le couple temps / température d'inactivation du SVCV de 60°C pendant 60 minutes à 60°C pendant 15 minutes, en s'appuyant sur une référence de Dixon, 2019 (DIXON, P. (2019). Spring viraemia of carp. CAB International. doi:10.1079/cabcompendium.96466). La Commission a indiqué qu'il s'agit d'un article de synthèse et que ni la Commission ni le consultant ayant effectué les évaluations ayant trait aux marchandises dénuées de risques n'ont été en mesure de trouver des éléments de preuves scientifiques pour étayer la déclaration figurant dans la publication.

La Commission a rappelé aux Membres que lors de la Session générale de 2023, les points 1 et 2 de l'article 10.11.3. du chapitre 10.11. « Infections par le virus du tilapia lacustre » ont été mis à l'étude suite à une intervention concernant le couple temps / température permettant l'inactivation. La Commission a examiné les préoccupations qui ont été soulevées et est convenue d'ajouter l'article 10.11.3. parmi les textes diffusés avec ce rapport afin de recueillir les commentaires en reprenant le couple temps / température d'inactivation identifié dans l'évaluation ayant trait aux marchandises dénuées de risques.

Les articles révisés 10.1.3., 10.2.3., 10.3.3., 10.4.3., 10.5.3., 10.6.3., 10.7.3., 10.8.3., 10.9.3. 10.10.3. et 10.11.3., sont présentés en **annexe 19** afin de recueillir les commentaires.

6.9.4. Articles 11.X.3. destinés aux chapitres spécifiques à des maladies des mollusques

Des commentaires ont été transmis par l'Australie, la Corée (Rép. de), les États-Unis d'Amérique, la Norvège, la Nouvelle-Calédonie, le Royaume-Uni, la Thaïlande et l'UE.

Contexte

Lors de sa réunion de février 2022, la Commission a modifié les articles 11.X.3. afin de les harmoniser avec les amendements des articles 9.X.3. et 10.X.3. adoptés en 2022, portant sur une approche révisée des couples temps / température caractérisant les traitements thermiques. Les articles 11.X.3. révisés ont été diffusés afin de recueillir les commentaires.

Lors de sa réunion de février 2023, la Commission a examiné les évaluations révisées ayant trait aux marchandises dénuées de risques pour les produits listés dans les articles 11.X.3., a modifié ces articles en conséquence et les a diffusés afin de recueillir les commentaires.

Rapports antérieurs de la Commission dans lesquels ce point a été traité

Septembre 2020 (point 4.7., page 10) ; février 2021 (partie B : point 1.4., page 8) ; septembre 2021 (point 5.1.5., page 24) ; rapport de février 2022 (partie B : point 2.1.1.2., page 5), rapport de février 2023 (point 8.4.4., page 24).

Réunion de septembre 2023

La Commission a examiné les commentaires reçus et n'a proposé aucune modification supplémentaire, en relevant que les Membres étaient favorables aux propositions de modifications.

Les articles révisés 11.1.3., 11.2.3., 11.3.3., 11.4.3., 11.5.3., 11.6.3. et 11.7.3. sont présentés en **annexe 20**, respectivement avec et sans marques de modifications, afin de recueillir les commentaires.

6.10. Modèles d'articles X.X.5. et X.X.6. destinés aux chapitres spécifiques à des maladies

Contexte

Lors de sa réunion de février 2023, la Commission des animaux aquatiques a effectué des modifications dans le dernier paragraphe du point 4 de l'article 10.11.5. pour des raisons de clarté et pour décrire les actions qui doivent être réalisées avant de déclarer une nouvelle zone indemne située à l'extérieur des zones infectées et de protection. La Commission est également convenue d'ajouter un nouveau paragraphe final dans l'article 10.11.6., en recourant à la même formulation que dans le point 4 de l'article 10.11.5., afin de veiller à la cohérence entre les statuts indemnes des pays et des zones.

Lors de la Session générale de 2023, les Membres ont fait part de leurs préoccupations concernant les propositions de modifications du dernier paragraphe des articles 10.11.5. et 10.11.6. du chapitre 10.11. « Infection par le virus du tilapia lacustre », qui étaient en contradiction avec le texte du point 1 de l'article 1.4.14. En conséquence, ces propositions de modifications ont été placées « à l'étude » et la Commission a accepté de revoir les modèles d'articles X.X.5. et X.X.6. destinés aux chapitres spécifiques à des maladies lors de sa réunion de septembre 2023.

Réunion de septembre 2023

La Commission a examiné le dernier paragraphe du point 4 du modèle d'article X.X.5. et a accepté d'utiliser la formulation du dernier paragraphe de l'article 10.11.5. du chapitre 10.11. « Infection par le virus du tilapia lacustre », en supprimant la partie de la phrase qui était incompatible avec le texte du point 1 de l'article 1.4.14. La Commission est convenue d'appliquer également cette modification dans le modèle d'article X.X.6. en recourant à la même formulation que dans le point 4 de l'article X.X.5. pour le nouveau paragraphe final, afin d'assurer la cohérence entre les statuts indemnes des pays et des zones.

La Commission a indiqué que, étant donné que l'harmonisation de ces articles entre tous les chapitres spécifiques à des maladies a été effectuée, ces modifications, après qu'elles auront été adoptées, seront appliquées à tous les chapitres spécifiques à des maladies.

Les modèles révisés des articles X.X.5. et X.X.6. sont présentés en **annexe 21** afin de recueillir les commentaires.

6.11. Article 9.3.2. du chapitre 9.3. « Infection par le virus 1 iridescent des décapodes »

Contexte

Le Groupe *ad hoc* sur la sensibilité des espèces de crustacés à une infection par une maladie listée par l'OMSA s'est réuni en mars 2023 afin d'évaluer la sensibilité des espèces de crustacés à l'infection par le virus 1 iridescent des décapodes en ayant recours aux critères du chapitre 1.5. « Critères d'inclusion dans la liste des espèces sensibles à une infection par un agent pathogène spécifique ».

Réunion de septembre 2023

La Commission des animaux aquatiques a examiné le rapport du Groupe *ad hoc* sur la sensibilité des espèces de crustacés à une infection par une maladie listée par l'OMSA et a félicité ses membres pour leur travail approfondi.

La Commission a accepté de supprimer la mention « à l'étude » et de modifier la liste des espèces sensibles dans l'article 9.3.2., conformément aux recommandations du Groupe *ad hoc*, c'est-à-dire :

- six espèces actuellement listées dans l'article 9.3.2. comme étant « à l'étude », le bouquet géant (*Macrobrachium rosenbergii*), le bouquet nippon (*Macrobrachium nipponense*), *Cherax quadricarinatus*, l'écrevisse rouge de marais (*Procambarus clarkii*), le bouquet quille (*Palaemon carinicauda*) et la crevette pattes blanches (*Penaeus vannamei*), ont été évaluées comme satisfaisant aux critères d'inclusion dans la liste des espèces sensibles à une infection par le virus 1 iridescent des décapodes et il est donc proposé de les conserver dans l'article 9.3.2. ;
- trois nouvelles espèces sensibles, la crevette charnue (*Penaeus chinensis*), le crabe gazami (*Portunus trituberculatus*) et la crevette kuruma (*Penaeus japonicus*), ont été évaluées comme satisfaisant aux critères d'inclusion dans la liste des espèces sensibles à une infection par le virus 1 iridescent des décapodes et il est donc proposé de les ajouter dans l'article 9.3.2. ;
- une espèce actuellement listée à l'article 11.5.2. comme étant « à l'étude », la crevette géante tigrée (*Penaeus monodon*), a été évaluée et ne satisfaisait pas aux critères d'inclusion dans la liste des espèces sensibles à une infection par le virus 1 iridescent des décapodes et il est donc proposé de la supprimer de l'article 9.3.2.

La Commission a indiqué que *P. monodon* avait fait l'objet de déclaration en tant qu'espèce affectée lors de foyers d'infection par le virus 1 iridescent des décapodes et a demandé des informations complémentaires afin d'étayer l'évaluation de cette espèce.

La Commission a invité les Membres à se référer au rapport de mars 2023 du Groupe *ad hoc*, qui est disponible sur le site internet de l'OMSA, pour des informations plus détaillées ayant trait aux évaluations menées par le Groupe *ad hoc*.

L'article 9.3.2. révisé du chapitre 9.3. « Infection par le virus 1 iridescent des décapodes » est présenté en **annexe 22** afin de recueillir les commentaires.

6.12. Article 10.6.2. du chapitre 10.6. « Infection par le virus de la nécrose hématopoïétique infectieuse »

Réunion de septembre 2023

À l'article 10.6.2., la Commission est convenue de modifier la liste des espèces sensibles, conformément à la convention utilisée dans l'article X.X.2. du *Code aquatique*, qui consiste à lister les espèces sensibles dans un tableau lorsque le nombre d'espèces sensibles est supérieur à dix.

L'article 10.6.2. révisé du chapitre 10.6. « Infection par le virus de la nécrose hématopoïétique infectieuse » est présenté en **annexe 23** afin de recueillir les commentaires.

6.13. Article 10.11.2. du chapitre 10.11. « Infection par le virus du tilapia lacustre »

Contexte

Le Groupe *ad hoc* sur la sensibilité des espèces de poissons à une infection par une maladie listée par l'OMSA s'est réuni en avril 2023 afin de poursuivre ses travaux visant à appliquer les critères figurant dans le chapitre 1.5. « Critères d'inclusion dans la liste des espèces sensibles à une infection par un agent pathogène spécifique ». Lors de cette réunion, le Groupe *ad hoc* a procédé aux évaluations ayant trait à la sensibilité des espèces de poissons au virus du tilapia lacustre (TiLV).

Réunion de septembre 2023

La Commission des animaux aquatiques a pris en considération le rapport du Groupe *ad hoc* sur la sensibilité des espèces de poissons à une infection par une maladie listée par l'OMSA et a félicité ses membres pour leur travail approfondi.

La Commission est convenue de supprimer la mention « à l'étude » et de modifier la liste des espèces sensibles dans l'article 10.11.2., en se conformant aux recommandations du Groupe *ad hoc*, c'est-à-dire :

- cinq espèces actuellement listées dans l'article 10.11.2. comme étant « à l'étude », *Oreochromis aureus* x *O. niloticus*, *Sarotherodon galilaeus*, le tilapia du Mozambique (*Oreochromis mossambicus*), *Oreochromis niloticus* et *Oreochromis niloticus* x *O. mossambicus*, ont été évaluées comme satisfaisant aux critères d'inclusion dans la liste des espèces sensibles à une infection par le virus du tilapia lacustre et il est donc proposé de les conserver dans l'article 10.11.2. ;
- trois espèces actuellement listées dans l'article 10.11.2. comme étant « à l'étude », *Oreochromis aureus*, *Tilapia zillii* et *Tristramella simonis*, ont été évalués et ne satisfaisaient pas aux critères d'inclusion dans la liste des espèces sensibles à une infection par le virus du tilapia lacustre et il est donc proposé de les supprimer de l'article 10.11.2.

La Commission a invité les Membres à se référer au rapport d'avril 2023 du Groupe *ad hoc*, qui est disponible sur le site internet de l'OMSA, pour des informations plus détaillées ayant trait aux évaluations menées par le Groupe *ad hoc*.

L'article 10.11.2. du chapitre 10.11. « Infection par le virus du tilapia lacustre » est présenté en **annexe 24** afin de recueillir les commentaires.

6.14. Article 11.5.1. et 11.5.2. du chapitre 11.5. « Infection à *Perkinsus marinus* »

Des commentaires ont été transmis par l'Australie, la Chine (Rép. populaire de), la Norvège, le Royaume-Uni et l'UE.

Contexte

Lors de sa réunion de février 2023, la Commission des animaux aquatiques a examiné le rapport du Groupe *ad hoc* sur la sensibilité des espèces de mollusques à une infection par une maladie listée par l'OMSA, qui a procédé à des évaluations des espèces sensibles à une infection à *Perkinsus marinus* au regard des critères figurant au chapitre 1.5. « Critères d'inclusion dans la liste des espèces sensibles à une infection par un agent pathogène spécifique ».

La Commission est convenue de modifier la liste des espèces sensibles figurant dans l'article 11.5.2., en se conformant aux recommandations du Groupe *ad hoc*. Les parties pertinentes du chapitre 2.4.4. du *Manuel aquatique* « Infection à *Perkinsus marinus* », ont également été modifiées conformément aux recommandations du Groupe *ad hoc* (voir le point 11.2.1.).

Rapports antérieurs de la Commission dans lesquels ce point a été traité

Rapport de février 2023 (point 8.5., page 24).

Réunion de septembre 2023

La Commission est convenue d'ajouter « aux espèces ci-après, satisfaisant aux critères permettant de les lister comme étant sensibles, conformément au chapitre 1.5. : » après « Les recommandations du présent chapitre s'appliquent », par souci d'harmonisation avec d'autres chapitres spécifiques à des maladies.

Pour la liste des espèces sensibles de l'article 11.5.2., la Commission n'a pas consenti à ajouter plusieurs noms communs pour une espèce car cela ne serait pas en ligne avec la convention utilisée dans l'article X.X.2. du *Code aquatique*, et elle a indiqué que les noms communs sont en conformité avec FAOTERM : <https://www.fao.org/faoterm/collections/faoterm/fr/>.

Les articles révisés 11.5.1. et 11.5.2. du chapitre 11.5. « Infections à *Perkinsus marinus* » sont présentées en **annexe 25** afin de recueillir les commentaires.

7. Points portés à l'attention des Membres, à titre informatif

7.1. Maladies émergentes

Contexte

Un point permanent de l'ordre du jour consiste en l'examen, lors de chaque réunion de la Commission des animaux aquatiques, des informations scientifiques ayant trait aux maladies émergentes afin de déterminer si une maladie doit être considérée comme une maladie émergente par les Membres de l'OMSA ou si d'autres actions sont nécessaires. La Commission a également pris en considération des informations provenant d'autres sources, telles que les Membres de l'OMSA, des experts et les Centres de référence.

7.1.1. Covert mortality nodavirus (CMNV)

Contexte

Des commentaires ont été transmis par l'UE.

Lors de sa réunion de septembre 2022, la Commission des animaux aquatiques a examiné les informations scientifiques disponibles ayant trait au « covert mortality nodavirus - (CMNV) » et est convenue qu'une infection par le CMNV satisfait à la définition d'une maladie émergente et doit être déclarée à l'OMSA, conformément à l'article 1.1.4. du *Code aquatique*.

Lors de sa réunion de février 2023, la Commission a passé en revue les informations scientifiques et a convenu que l'infection par le CMNV satisfait toujours à la définition d'une « maladie émergente » ; elle a invité les Membres à enquêter sur les événements de mortalité et de morbidité chez l'ensemble des espèces d'animaux aquatiques affectées.

Rapports antérieurs de la Commission dans lesquels ce point a été traité

Rapport de septembre 2022 (point 6.2.2., page 13) ; rapport de février 2023 (point 9.1.2., page 26).

Réunion de septembre 2023

La Commission a étudié les nouveaux éléments de preuves scientifiques ayant trait au CMNV et mettra à jour en conséquence la fiche technique relative à la maladie.

La Commission est convenue que le CMNV satisfait toujours à la définition de l'OMSA d'une « maladie émergente ». La Commission a une nouvelle fois demandé aux Membres de lui transmettre toute information pertinente ayant trait au CMNV afin d'étayer son prochain examen de cette maladie ; elle a invité les Membres à enquêter sur les événements de mortalité et de morbidité chez l'ensemble des espèces d'animaux aquatiques affectées.

La Commission a souhaité informer les Membres qu'une fiche technique dédiée à l'infection par le CMNV est disponible sur le site internet de l'OMSA à l'adresse : <https://www.woah.org/fr/document/infection-par-le-covert-mortality-nodavirus-cmnv/>.

7.1.2. Infection à *Enterocytozoon hepatopenaei*

Contexte

Lors de sa réunion de septembre 2021, la Commission des animaux aquatiques a pris en considération les informations scientifiques disponibles ayant trait à l'infection à *Enterocytozoon hepatopenaei* et est convenue que l'infection à *Enterocytozoon hepatopenaei* satisfait à la définition d'une maladie émergente et doit être déclarée à l'OMSA conformément à l'article 1.1.4. du Code aquatique.

Lors de sa réunion de février 2022, la Commission a passé en revue les informations scientifiques et est convenue que l'infection à *Enterocytozoon hepatopenaei* satisfait toujours à la définition d'une « maladie émergente » et a invité les Membres à enquêter sur les événements de mortalité et de morbidité chez l'ensemble des espèces d'animaux aquatiques affectées.

Rapports antérieurs de la Commission dans lesquels ce point a été traité

Septembre 2021 (point 5.2.1.2., page 28) ; février 2022, partie B (point 2.2.1.2., page 8).

Réunion de septembre 2023

La Commission a examiné les nouveaux éléments de preuves scientifiques ayant trait à une infection à *Enterocytozoon hepatopenaei* et mettra à jour en conséquence la fiche technique dédiée à cette maladie.

La Commission est convenue que l'infection à *Enterocytozoon hepatopenaei* satisfait toujours à la définition de l'OMSA d'une « maladie émergente ». La Commission a demandé une nouvelle fois aux Membres de lui transmettre toute information pertinente ayant trait à l'infection à *Enterocytozoon hepatopenaei* pour appuyer son prochain examen de cette maladie, et a encouragé les Membres à enquêter sur les événements de mortalité et de morbidité chez l'ensemble des espèces d'animaux aquatiques affectées.

La Commission a souhaité informer les Membres qu'une fiche technique dédiée à l'infection à *Enterocytozoon hepatopenaei* est disponible sur le site internet de l'OMSA à l'adresse : <https://www.woah.org/fr/document/infection-a-enterocytozoon-hepatopenaei/>.

Manuel des tests de diagnostic pour les animaux aquatiques

La Commission des animaux aquatiques a débuté le processus consistant en un reformatage progressif des chapitres spécifiques à des maladies du *Manuel aquatique* selon un nouveau modèle. Étant donné que les chapitres reformatés et les chapitres mis à jour ont été l'objet de modifications substantielles, la Commission est convenue, lors de sa réunion de septembre 2019, que seules des versions exemptes de marques de

révisions des chapitres modifiés seraient présentées dans son rapport. Les modifications effectuées ultérieurement à ces révisions initiales, suite à des commentaires des Membres, seraient mises en évidence de la manière habituelle (c'est-à-dire par l'utilisation des fonctions « ~~barré~~ » pour signaler les suppressions et « double souligné » pour signaler les ajouts).

Un document comparant le texte de la version adoptée d'un chapitre et la proposition de nouveau texte, peut être généré informatiquement. Ce document permettant la comparaison n'est pas inclus dans le rapport de la Commission, mais sera disponible sur demande auprès du Service des normes de l'OMSA (AAC.Secretariat@L'OMSA.org).

8. Points portés à l'attention des Membres afin de recueillir leurs commentaires

Certaines discussions portant sur les commentaires des Membres impliquent des modifications horizontales du modèle du *Manuel aquatique* et de l'ensemble des chapitres. Ces commentaires sont les suivants :

Section / paragraphe	Commentaire	Décision
Les trois chapitres d'introduction des maladies des crustacés, des poissons ou des mollusques (2.2.0 ; 2.3.0 ou 2.4.0), partie « Use of molecular techniques for confirmatory testing and diagnosis »	Aucun commentaire, ces modifications résultent des discussions au sein de la Commission	Ajouter un texte d'orientation pour la PCR nichée : « Nested PCR involves two rounds of PCR and may be used to achieve increased sensitivity and specificity; however, it increases the risk of contamination. Contaminants from previous reactions can carry over and lead to false-positive results. Strict laboratory practices such as separate workspaces, dedicated equipment, and meticulous pipetting techniques are essential to mitigate this risk. In conclusion, nested PCR is not recommended for surveillance but may sometimes be used for confirmative studies. »
3.6. Pooling of samples	Aucun commentaire, ces modifications résultent de l'examen par la Commission du paragraphe normalisé	Modifier la première phrase du texte normalisé : « Pooling of samples from more than one individual animal for a given purpose should only be <u>is only</u> recommended where robust supporting data on diagnostic sensitivity and diagnostic specificity have been evaluated and found to be suitable. »
4.4. Nucleic acid amplification	Dans les tableaux des séquences des amorces et des sondes, ainsi que des paramètres des cycles de la PCR, préciser qu'une étape initiale de dénaturation et une étape finale d'élongation ne sont pas incluses.	Accepté ; ajouter une note de bas de page à ces tableaux dans tous les chapitres
6.3. Diagnostic sensitivity and specificity for diagnostic test	Dans les situations où aucune donnée n'est présentée dans les tableaux 6.3.1 et 6.3.2, supprimer le texte ayant trait à la manière dont les données peuvent être utilisées dans les enquêtes.	Accepté

8.1. Titre 2.2. « Maladies des crustacés »

8.1.1. Chapitre 2.2.0. « Informations générales : maladies des crustacés »

Des commentaires ont été transmis par l'Australie, les États-Unis d'Amérique, le Mexique, la Norvège, le Taipei chinois, la Thaïlande et l'UA-BIRA.

Contexte

Lors de sa réunion de septembre 2022, la Commission des animaux aquatiques a modifié le chapitre 2.2.0. « Informations générales (maladies des crustacés) », en concertation avec des experts des Laboratoires de référence pour les maladies des crustacés.

Lors de sa réunion de février 2023, la Commission a modifié la proposition de chapitre après avoir pris les commentaires des Membres en considération.

Rapports antérieurs de la Commission dans lesquels ce point a été traité

Rapport de septembre 2022 (point 7.1.1., page 15) ; rapport de février 2023 (point 11.1.1., page 43).

Réunion de septembre 2023

Section / paragraphe	Commentaire	Décision
1.2. Specifications according to crustacean populations	Indiquer la manière permettant de déterminer que l'échantillon est représenté proportionnellement.	Rejeté ; il n'est pas nécessaire d'intégrer des explications supplémentaires, la formulation proposée étant déjà explicite en elle-même.
2.2. Virological examination	Préciser et corriger le texte.	Accepté ; modifier la première phrase et supprimer la deuxième phrase car elle est incorrecte : le nodavirus est isolé et non la crevette <i>Macrobrachium rosenbergii</i> .
2.3. Bacteriological examination	Préciser de quelle manière la méthode de test doit être utilisée.	Rejeté ; selon le chapitre 2.2.3. « Infection à <i>Hepatobacter penaei</i> (hépatopancréatite nécrosante) », la culture d' <i>H. penaei</i> n'a pas été réalisée et le texte indique que l'examen bactériologique n'est pas utilisé de manière systématique.

Section / paragraphe	Commentaire	Décision
5. Techniques	Demander de conserver les exemples numériques car ils fournissent des indications plus claires sur l'échantillonnage / la taille des échantillons.	Rejeté ; le texte sur le regroupement d'échantillons a pour objectif de souligner qu'un volume d'échantillon suffisant est nécessaire pour le test en question. Des orientations numériques spécifiques sont proposées dans les chapitres spécifiques à des maladies : les valeurs indiquées ici pourraient ne pas être applicables à toutes les espèces sensibles et leur suppression est donc proposée. Le volume de l'échantillon n'influe pas sur le nombre de tests requis pour l'objectif de l'utilisation.
5.5.1. Sample preparation and types, point vi) <i>Fixed tissues for in-situ hybridisation:</i>	Demander de préciser la concentration d'éthanol.	Accepté ; modifier le texte en conséquence et préciser également les temps de fixation dans le fixateur de Davidson.
5.5.2. Preservation of RNA and DNA in tissues	Préciser le texte concernant le délai durant lequel les échantillons conservés peuvent être stockés et l'acceptabilité d'autres produits disponibles dans le commerce destinés au même usage.	Accepté.
5.5.4. Preparation of slides for <i>in-situ</i> hybridisation	Demander de préciser la concentration d'éthanol.	Accepté.
6. Additional information to be collected	Supprimer la section.	Rejeté ; le titre de la section 6 est « Additional information to be collected » et le texte actuel correspond à ce titre. Le commentaire s'éloigne du thème central de la section.

Le chapitre 2.2.0 révisé « Informations générales (maladies des crustacés) » est présenté en **annexe 26** afin de recueillir les commentaires.

8.1.2. Chapitre 2.2.2. « Infection à *Aphanomyces astaci* (peste de l'écrevisse) »

Des commentaires ont été transmis par l'Australie, la Chine (Rép. populaire de), les États-Unis d'Amérique, le Mexique, la Norvège, l'UA-BIRA et l'UE.

Contexte

Lors de sa réunion de septembre 2022, la Commission des animaux aquatiques a examiné le chapitre 2.2.2. « Infection à *Aphanomyces astaci* (peste de l'écrevisse) », qui a été mis à jour par des experts des Laboratoires de référence de l'OMSA et reformaté en ayant recours au nouveau modèle de chapitre spécifique à des maladies.

Lors de sa réunion de février 2023, la Commission a modifié la proposition de chapitre après avoir pris en considération les commentaires des Membres.

Rapports antérieurs de la Commission dans lesquels ce point a été traité

Rapport de septembre 2022 (point 7.1.3., page 17) ; rapport de février 2023 (point 11.1.2., page 44).

Réunion de septembre 2023

Section / paragraphe	Commentaire	Décision
2.2.3. Likelihood of infection by species, host life stage, population or sub-population	Supprimer la phrase indiquant que la seule espèce de crustacés autres que les écrevisses connue pour être sensible est <i>Eriocheir sinensis</i> , car il n'y a aucun élément de preuve scientifique à l'appui de cette affirmation.	Rejeté ; la référence correspondante a été ajoutée.
2.2.5. Aquatic animal reservoirs of infection	Présenter des informations sur la nature et l'état sanitaire des espèces constituant des réservoirs d'infection à <i>Aphanomyces astaci</i> .	De telles informations ne peuvent pas être ajoutées actuellement dans le chapitre car toutes les espèces d'écrevisses n'ont pas été testées.
2.3.2. Clinical signs, including behavioural changes et 2.3.3. Gross pathology	Remplacer le sous-titre « Susceptible species » par « Species prone to clinical disease ».	Accepté ; car la signification est différente de celle des espèces sensibles telles que définies dans le chapitre 1.5. du <i>Code aquatique</i> « Critères d'inclusion dans la liste des espèces sensibles à une infection par un agent pathogène spécifique »
	Remplacer le sous-titre « North American crayfish species » par « Species that do not normally develop clinical disease ».	Accepté.
2.3.6. Geographical distribution	Ajouter une référence et un texte supplémentaire ayant trait à la distribution en Amérique du Nord.	Accepté, s'agissant de l'ajout de la référence, mais rejeté en ce qui concerne l'ajout du texte car l'information figure déjà dans la phrase.
4.4.1. Real-time PCR	Corriger les conditions des paramètres des cycles pour la PCR en temps réel, conformément à la référence.	Accepté.
	Supprimer la méthode 2 car elle n'a pas encore été publiée, et modifier le texte qui l'accompagne en conséquence.	Accepté.

Section / paragraphe	Commentaire	Décision
	Modifier le texte du paragraphe situé après le tableau afin d'apporter des précisions relatives aux données scientifiques et aux étapes nécessaires pour identifier de manière précise l'agent pathogène listé.	Accepté.
6.1.1. Definition of suspect case in apparently healthy animals	Remplacer « at least » par « one of », sinon les critères ne sont pas précis.	Accepté.

Le chapitre révisé 2.2.2. Infection à *Aphanomyces astaci* (peste de l'écrevisse) » est présenté en [annexe 27](#) afin de recueillir les commentaires.

8.1.3. Chapitre 2.2.6. « Infection par le nodavirus de *Macrobrachium rosenbergii* (maladie des queues blanches) »

Des commentaires ont été transmis par l'Australie, le Canada, la Chine (Rép. populaire de), les États-Unis d'Amérique le Mexique, la Norvège et la Thaïlande.

Contexte

Lors de sa réunion de février 2023, la Commission des animaux aquatiques a examiné le chapitre 2.2.6. « Infection par le nodavirus de *Macrobrachium rosenbergii* (maladie des queues blanches) », qui a été mis à jour par des experts des Laboratoires de référence du L'OMSA et un membre de la Commission, et reformaté en ayant recours au nouveau modèle de chapitre sur les maladies.

Rapports antérieurs de la Commission dans lesquels ce point a été traité

Rapport de février 2023 (point 11.1.3., page 46).

Réunion de septembre 2023

Section / paragraphe	Commentaire	Décision
Commentaire général	Revoir le chapitre afin de mieux préciser quels agents pathogènes (nodavirus de <i>Macrobrachium rosenbergii</i> [MrNV] et l'extra small virus [XSV]) doivent être pris en compte, et à quels moments, pour des activités telles que la surveillance, la définition de cas, la déclaration, les demandes de statut indemne, etc.	La maladie est définie dans le champ d'application comme une infection par le MrNV. Inclure un texte dans le champ d'application indiquant que le XSV est associé à la maladie, mais que son rôle n'a pas été déterminé. Conserver les informations relatives au XSV dans le chapitre, hormis dans le tableau 4.1 sur les méthodes de test recommandées pour le MrNV et la section 6 sur les définitions de cas. Son rôle étant inconnu, les informations sur le XSV apportent une valeur ajoutée au chapitre et de nombreuses références bibliographiques mentionnent à la fois le MrNV et le XSV.
2.1.1. Aetiological agent	Supprimer la mention relative au XSV.	Rejeté ; voir le commentaire général.
2.1.2 Survival and stability in processed or stored samples	Supprimer la mention relative au XSV.	Rejeté ; voir le commentaire général.
2.2.2 Species with incomplete evidence for susceptibility	Supprimer les espèces d'insectes aquatiques du tableau de cette section car elles ont déjà été définies comme étant des vecteurs dans la section 2.2.6.	Accepté.
	Supprimer le tableau de cette section car il n'est pas approprié d'exiger des tests de dépistage d'une maladie chez des espèces pour lesquelles les éléments de preuves de sensibilité sont incomplets.	Rejeté ; l'explication est présentée dans des rapports antérieurs et les Membres de l'OMSA ont fait part de leur accord avec cette approche. Le champ d'application des normes relatives aux échanges commerciaux, qui figurent dans le <i>Code aquatique</i> , s'applique uniquement aux espèces sensibles ; toute mesure appliquée à des espèces pour lesquelles les preuves de sensibilité sont incomplètes (qui sont incluses uniquement dans le <i>Manuel aquatique</i>) devrait être étayée par une appréciation du risque.
	Ajouter un texte et une référence relatifs à la découverte des génomes de MrNV chez <i>Cyprinus carpio carpio</i>	À prendre en compte par le Groupe <i>ad hoc</i> sur la sensibilité des espèces de crustacés à une infection par une maladie listée par l'OMSA, qui étudiera la référence.

Section / paragraphe	Commentaire	Décision
2.2.3. Likelihood of infection by species, host life stage, population or sub-populations	Ajouter une référence ayant trait à la mortalité provoquée par le MrNV chez des crevettes d'eau douce lors d'études expérimentales.	Accepté.
2.2.5. Aquatic animal reservoirs of infection	Ajouter un texte et une référence ayant trait aux déclarations récentes d'infections par le MrNV et le XSV chez la crevette pattes blanches	Accepté en ce qui concerne l'ajout d'une référence, mais rejeté s'agissant de l'ajout d'un nouveau texte, car la sensibilité et la transmission n'ont probablement pas été démontrées dans l'étude (résultat positif de la PCR uniquement) : modifier la phrase actuelle afin qu'elle reflète précisément la situation.
2.3.6. Geographical distribution	Ajouter deux références et mentionner l'expansion de l'aire géographique aux Membres nommés et potentiellement à une nouvelle région.	Rejeté : une des deux références figure déjà dans le texte et la seconde n'est pas celle d'un article évalué par des pairs. Cette section mentionne les survenues de la maladie au niveau régional et non au niveau national.
Tableau 4.1.	Demander la révision de l'ensemble des données du tableau 4.1.	Accepté ; préciser d'abord dans le titre du tableau que les méthodes de diagnostic recommandées concernent uniquement le MrNV. Ajouter que le niveau de validation de l'histopathologie pour le diagnostic présomptif des animaux affectés cliniquement est NA (Not Available).
4.4.1. Real-time PCR	Envisager de conserver le XSV dans le tableau consacré à la RT-PCR en temps réel	Maintien accepté ; voir le commentaire général.
4.4.2. Conventional RT-PCR	Examiner et compléter ou corriger les informations figurant dans le tableau, notamment la suppression de la référence à une méthode de test qui n'est pas présentée dans le tableau.	Accepté, hormis en ce qui concerne l'ajout des étapes de dénaturation initiale et d'extension finale (voir la décision portant sur les modifications horizontales du <i>Manuel aquatique</i> ci-dessus).

Le chapitre révisé 2.2.6. « Infection par le nodavirus de *Macrobrachium rosenbergii* (maladie des queues blanches) » est présenté en **annexe 28** afin de recueillir les commentaires.

8.1.4. Chapitre 2.2.9. « Infection par le génotype 1 du virus de la tête jaune »

Des commentaires ont été transmis par l'Australie, la Chine (Rép. populaire de), les États-Unis d'Amérique, le Japon, le Mexique, la Norvège, le Taipei chinois, l'UA-BIRA et l'UE.

Contexte

Lors de sa réunion de février 2023, la Commission des animaux aquatiques a examiné le chapitre 2.2.9. « Infection par le génotype 1 du virus de la tête jaune », qui a été mis à jour par l'expert du Laboratoire de référence de l'OMSA et reformaté en ayant recours au nouveau modèle de chapitres sur les maladies.

Rapports antérieurs de la Commission dans lesquels ce point a été traité

Rapport de février 2023 (point 11.1.4., page 46).

Réunion de septembre 2023

Section / paragraphe	Commentaire	Décision
2.2.2. Species with incomplete evidence for susceptibility	Supprimer le tableau de cette section car il n'est pas approprié d'exiger des tests de dépistage d'une maladie chez des espèces pour lesquelles les éléments de preuves de la sensibilité sont incomplets.	Rejeté ; l'explication est présentée dans des rapports antérieurs et les Membres de l'OMSA ont fait part de leur accord avec l'approche. Le champ d'application des normes relatives aux échanges commerciaux, qui figurent dans le <i>Code aquatique</i> , s'applique uniquement aux espèces sensibles ; toute mesure appliquée à des espèces pour lesquelles les preuves de la sensibilité sont incomplètes (qui sont incluses uniquement dans le <i>Manuel aquatique</i>) devrait être étayée par une appréciation du risque.
2.2.5. Aquatic animal reservoirs of infection	Supprimer la dernière phrase car elle n'utilise pas les voies d'exposition appropriées pour démontrer l'infection due à l'utilisation d'une infection expérimentale par injection.	Accepté.
2.3.6. Geographical distribution	Insérer une mention concernant le génotype 7 (YHV-7).	Rejeté ; le sujet de ce chapitre est l'YHV-1. Par souci d'exhaustivité et afin de distinguer les génotypes, l'YHV-7 est mentionné dans la section 2.1.1. Aetiological agent.
3.1. Selection of populations and individual specimens	Supprimer le texte de cette section, hormis si des références peuvent être présentées.	Rejeté ; ce texte est clair et utile, et est en ligne avec le contenu d'autres chapitres.

Section / paragraphe	Commentaire	Décision
3.2. Selection of organs or tissues	Supprimer le texte de cette section, sauf si des références peuvent être fournies.	Rejeté ; ce texte est clair et la référence n'est pas nécessaire : le choix du tissu dépend de nombreux facteurs, notamment de la méthode à utiliser, de la prédilection du tissu, de la fiabilité / facilité du prélèvement d'échantillon, de la validation de la méthode, de la probabilité de contamination, du stockage, des inhibiteurs, etc.
3.3. Samples or tissues not suitable for pathogen detection	Le texte actuel est en contradiction avec la section 3.1 : ajouter une explication ayant trait au type de tissu et aux stades de vie précoces des post-larves.	Rejeté : les échantillons et les spécimens ne sont pas identiques – l'adéquation du type d'échantillon n'est pas nécessairement binaire.
4.4.1. Real-time PCR	Ajouter la méthode PCR en temps réel qui est développée par le Laboratoire de référence de l'OMSA. Elle doit en particulier remplacer la RT-PCR nichée conventionnelle dans la section 4.4.2. en tant que test recommandé pour la surveillance.	Accepté ; le test sera ajouté après qu'il aura été publié ou que l'expert pourra présenter un modèle de rapport de validation finalisé (voir le point 9.1.).
4.4.2. Conventional RT-PCR	Préciser le nom du génotype détecté.	Accepté : génotype YHV-8.
	Trois méthodes de RT-PCR figurent dans les tableaux de cette section, mais elles ne sont pas explicitement désignées dans le tableau 4.1 ou dans la section 6. Afin d'éviter toute confusion, ces protocoles de test doivent être spécifiés dans les sections correspondantes.	Rejeté ; le choix de la RT-PCR dépend de l'objectif recherché par l'utilisateur. Les trois épreuves de RT-PCR sont toutes recommandées pour les deux objectifs, et offrent le même niveau de validation.
4.4.3. Other nucleic acid amplification methods	Ajouter un texte et une référence à une RT-PCR en temps réel présentant une sensibilité et une spécificité plus élevées que celles des méthodes figurant déjà dans le chapitre.	Rejeté ; l'examen de la référence a indiqué qu'aucune comparaison directe des méthodes n'a été effectuée sur le même ensemble d'échantillons / la même matrice.
4.8. Bioassay	Ajouter un nouveau paragraphe sur la manière d'interpréter les résultats des essais biologiques, en ligne avec le texte normalisé des autres chapitres.	Accepté.

Section / paragraphe	Commentaire	Décision
6.1. Apparently healthy animals or animals of unknown health status	Dans la deuxième phrase du paragraphe introductif, insérer « suspect or » avant « known infected population », car un suivi serait nécessaire si un lien épidémiologique existait avec une population connue pour être infectée ou suspectée de l'être.	Rejeté ; le texte est consacré aux populations devenues suspectes en raison de leur proximité hydro-géographique ou de leur lien épidémiologique avec une population infectée. Cela implique que toutes les populations présentant un lien sont donc suspectes et ne le deviennent pas par proximité avec une autre population suspecte qui est en lien avec une population infectée.
6.1.1. Definition of suspect case in apparently healthy animals	Remplacer « recommended » par « conventional » RT-PCR, afin de refléter la recommandation du tableau 1.4.	Accepté.
6.1.2. Definition of confirmed case in apparently healthy animals	Modifier, pour des raisons d'harmonisation avec la section 6.2.2.	Accepté.
6.2.2. Definition of confirmed case in clinically affected animals	Supprimer « targeting non-overlapping parts of the genome » après « RT-PCR ».	Accepté ; la PCR et l'analyse de séquence des amplicons suffisent pour la confirmation.

Le chapitre révisé 2.2.9. « Infection par le génotype 1 du virus de la tête jaune » est présenté en **annexe 29** afin de recueillir les commentaires.

8.1.5. Chapitre 2.2.X. « Infection par le virus 1 iridescent des décapodes »

Réunion de septembre 2023

La Commission des animaux aquatiques a examiné le chapitre 2.2.X. « Infection par le virus 1 iridescent des décapodes », qui a été élaboré par l'expert du Laboratoire de référence de l'OMSA et formaté en ayant recours au nouveau modèle de chapitre sur les maladies.

Le nouveau chapitre 2.2.X. « Infection par le virus 1 iridescent des décapodes » est présenté en **annexe 30** afin de recueillir les commentaires.

8.2. Titre 2.4. « Maladies des mollusques »

8.2.1. Chapitre 2.4.0. « Informations générales : maladie des mollusques »

Réunion de septembre 2023

La Commission des animaux aquatiques a examiné le chapitre 2.4.0. « Informations générales : maladies des mollusques », qui a été mis à jour par l'expert du Laboratoire de référence de l'OMSA. Lorsqu'il y avait lieu, la Commission a aligné le texte sur les recommandations des chapitres 2.2.0. et 2.3.0., les chapitres d'information générale consacrés respectivement aux maladies des crustacés et des poissons.

Les principales modifications comprennent :

Section / paragraphe	Modification
A.1.2. Specifications according to mollusc populations	Modifications visant à assurer la cohérence avec les chapitres 2.2.0 et 2.3.0, les chapitres d'information générale consacrés respectivement aux maladies des crustacés et des poissons.
A.1.3. Specifications according to clinical status	Clarification du texte et suppression des détails inutiles.
A.1.4. Specifications according to mollusc size	Suppression des informations spécifiques à des maladies, car elles sont présentées dans les chapitres spécifiques respectifs.
A.2. General processing of samples	Remplacement du dernier paragraphe dans la section B.6. « Additional information to be collected ».
B.5. Techniques	Suppression des informations qui sont répétées dans d'autres parties du chapitre et simplification du texte dédié au transport et à l'expédition.
B.5.5. Molecular methods	Alignement du titre avec celui des chapitres 2.2.0 et 2.3.0, renommé par conséquent « Use of molecular techniques for surveillance, confirmatory testing and diagnosis ».
B.5.5.2. Preservation of DNA in tissues	Modification du texte visant à l'aligner sur les chapitres 2.2.0 et 2.3.0.

Le chapitre 2.4.0. révisé « Informations générales : maladies des mollusques », est présenté en [annexe 31](#) afin de recueillir les commentaires.

8.2.2. Chapitre 2.4.1. « Infection par l'herpèsvirus de l'orveau »

Réunion de septembre 2023

La Commission des animaux aquatiques a examiné le chapitre 2.4.1. « Infection par l'herpèsvirus de l'orveau », qui avait été mis à jour par l'expert du Laboratoire de référence de l'OMSA et reformaté en ayant recours au nouveau modèle des chapitres sur les maladies.

Les principales modifications comprennent :

Section / paragraphe	Modifications
1. Scope	Mise à jour de la taxonomie de l'agent pathogène.
2.2.1 Susceptible host species et 2.2.2 Species with incomplete evidence for susceptibility	Ces deux sections ont été complétées en se conformant aux conclusions du Groupe <i>ad hoc</i> sur la sensibilité des espèces de mollusques à une infection par une maladie listée par l'OMSA.
Tableau 4.1.	Le tableau 4.1. a été complété et aligné sur les définitions de cas figurant dans la section 6.
4.6. <i>In-situ</i> hybridisation	Suppression des informations détaillées ayant trait à la méthode de test, car elles figurent dans la référence.

Section / paragraphe	Modifications
6. Corroborative diagnostic criteria	Révision des définitions pour les termes « suspicion de cas » et « cas confirmés » chez des animaux apparemment sains et des animaux atteints cliniquement.
7. References	Mise à jour des références.

Le chapitre révisé 2.4.1. « Infection par l'herpèsvirus de l'ormeau » est présenté en **annexe 32** afin de recueillir les commentaires.

8.2.3. Chapitre 2.4.4. « Infection à *Marteilia refringens* »

Réunion de septembre 2023

La Commission des animaux aquatiques a examiné le chapitre 2.4.4. « Infection à *Marteilia refringens* », qui a été mis à jour par l'expert du Laboratoire de référence de l'OMSA et reformaté en ayant recours au nouveau modèle destiné aux chapitres sur les maladies.

Les principales modifications comprennent :

Section / paragraphe	Modifications
1. Scope	Modification du champ d'application afin de l'harmoniser avec celui du <i>Code aquatique</i> . Remplacement de la majeure partie du texte du deuxième paragraphe dans la section 2.1.1 « Aetiological agent ».
2.2.5 Aquatic animal reservoirs of infection et 2.2.6 Vectors	Modifications visant à s'aligner sur le modèle destiné aux chapitres sur les maladies.
Tableau 4.1.	Le tableau 4.1. a été complété et aligné sur les définitions de cas de la section 6.
4.5. Nucleic acid amplification	Les tableaux des séquences d'amorces et de sondes et des paramètres des cycles pour l'examen PCR ont été complétés et les informations détaillées ayant trait aux méthodes PCR ont été supprimées.
6. Corroborative diagnostic criteria	Révision des définitions pour les termes « suspicion de cas » et « cas confirmé » chez les animaux apparemment sains et atteints cliniquement.
7. References	Mise à jour des références.

Le chapitre révisé 2.4.4. « Infection à *Marteilia refringens* » est présenté en **annexe 33** afin de recueillir les commentaires.

8.2.4. Sections 2.2.1. et 2.2.2. du chapitre 2.4.5. « Infection à *Perkinsus marinus* »

Des commentaires ont été transmis par l'Australie, les États-Unis d'Amérique, le Royaume-Uni, le Taipei chinois et l'UE.

Contexte

Lors de sa réunion de février 2023, la Commission des animaux aquatiques a modifié les sections 2.2.1. et 2.2.2. du chapitre 2.4.5. « Infection à *Perkinsus marinus* », en se conformant aux recommandations du Groupe *ad hoc* sur la sensibilité des espèces de mollusques à l'infection par une maladie listée par l'OMSA.

Rapports antérieurs de la Commission dans lesquels ce point a été traité

Rapport de février 2023 (point 11.2.1., page 47).

Réunion de septembre 2023

La Commission a refusé de supprimer la section 2.2.2. car celle-ci figure dans le modèle destiné aux chapitres figurant dans le *Manuel aquatique* et l'explication justifiant son inclusion a été présentée antérieurement et approuvée par les Membres. La Commission n'a pas non plus accepté de modifier l'orthographe de « fulfil » par « fulfill », car l'OMSA emploie l'orthographe britannique.

Les sections révisées 2.2.1. et 2.2.2. du chapitre 2.4.5. « Infection à *Perkinsus marinus* » sont présentées en **annexe 34** afin de recueillir les commentaires.

9. Points portés à l'attention des Membres à titre informatif

9.1. Élaborer un mécanisme visant à accélérer le processus d'actualisation des méthodes de diagnostic dans le *Manuel aquatique* afin qu'elles soient plus rapidement disponibles pour les Membres

Contexte

Lors de sa réunion de septembre 2022, la Commission des animaux aquatiques a été informée que la Commission des normes biologiques travaillait à l'élaboration d'un modèle de données de validation qui serait exigé des candidats souhaitant que leurs tests soient intégrés dans le *Manuel terrestre*.

Lors de sa réunion de février 2023, la Commission des animaux aquatiques a eu une discussion sur le modèle et a proposé des modifications pour qu'il soit plus simple et afin de le rendre applicable au *Manuel aquatique*, en remplaçant par exemple les sept objectifs prévus d'un test de diagnostic dans le *Manuel terrestre* par les trois prévus dans le *Manuel aquatique*. La Commission des normes biologiques a décidé que le modèle doit être utilisé comme un formulaire de « rapport de validation » pour les tests recommandés dans le *Manuel terrestre*.

La Commission des animaux aquatiques a souligné qu'il est important de valider les tests de diagnostic concernant les maladies des animaux aquatiques. Elle a considéré que la publication des études de précision diagnostique dans des journaux revus par des pairs est préférable ; dans certains cas, ce formulaire de rapport de validation pourrait toutefois constituer un mécanisme permettant l'incorporation de méthodes nouvelles ou révisées lors de la période précédant la publication.

Rapports antérieurs de la Commission dans lesquels ce point a été traité

Février 2022 (point 3.3.1., page 16) ; septembre 2022 (point 8.3., page 25) ; février 2023 (point 11.3., page 48).

Réunion de septembre 2023

La Commission a effectué les dernières modifications du modèle de formulaire de rapport de validation pour les tests recommandés dans le *Manuel aquatique* de l'OMSA. L'intention est d'utiliser le modèle afin de collecter des données de validation devant être examinées par la commission pour les tests proposés en vue de leur intégration dans le *Manuel aquatique*, avant la publication de ces données dans une revue à comité de lecture. Le modèle a été transmis à un expert du Laboratoire de référence de l'OMSA qui procède aux dernières étapes du développement d'une nouvelle méthode PCR. Lors de la prochaine réunion, la Commission examinera les données présentées ainsi que les retours d'informations de l'expert sur l'adéquation et la facilité d'utilisation du modèle.

10. Groupes *ad hoc*

10.1. Groupe *ad hoc* sur la sensibilité des espèces de mollusques à une infection par une maladie listée par l'OMSA

Le Groupe *ad hoc* sur la sensibilité des espèces de mollusques à une infection par une maladie listée par l'OMSA s'est réuni en juin 2023 afin de procéder aux évaluations ayant trait à la sensibilité des espèces de mollusques à l'infection à *Perkinsus olseni*.

La Commission des animaux aquatiques a été informée que le Groupe *ad hoc* n'avait pas achevé ses évaluations ayant trait à *P. olseni* en raison du volume de recherche afférent à cet agent pathogène. La Commission a examiné le rapport intermédiaire du Groupe *ad hoc*, qui décrit les travaux réalisés à ce jour et présente des informations en retour sur ceux-ci. Le Groupe *ad hoc* a prévu de se réunir en novembre / décembre 2023 afin de finaliser les évaluations ayant trait aux espèces sensibles à l'infection par *P. olseni*.

10.2. Groupe *ad hoc* sur la sensibilité des espèces de poissons à une infection par une maladie listée par l'OMSA

Le Groupe *ad hoc* sur la sensibilité des espèces de poissons à une infection par une maladie listée par l'OMSA s'est réuni en avril 2023 afin d'achever les évaluations ayant trait à la sensibilité des espèces de poissons à l'infection par le virus du tilapia lacustre (voir le point 6.13.).

La Commission a été informée que le Groupe *ad hoc* a prévu de se réunir en janvier 2024 afin de poursuivre ses travaux d'évaluation ayant trait aux espèces sensibles à l'infection à *Aphanomyces invadans* (syndrome ulcératif épizootique).

Le rapport du Groupe *ad hoc* sur la sensibilité des espèces de poissons à une infection par une maladie listée par l'OMSA peut être consulté sur le site internet de l'OMSA à l'adresse suivante : <https://www.woah.org/app/uploads/2023/10/f-fish-ahg-tilv-april-2023.pdf>

10.1. Groupe *ad hoc* sur la sensibilité des espèces de crustacés à une infection par une maladie listée par l'OMSA

Le Groupe *ad hoc* sur la sensibilité des espèces de crustacés à une infection par une maladie listée par l'OMSA s'est réuni en avril 2023 afin d'achever les évaluations ayant trait à la sensibilité des espèces de crustacés à l'infection par le virus 1 iridescent des décapodes (voir le point 6.11.).

La Commission a été informée que le Groupe *ad hoc* a prévu de se réunir en novembre 2023 afin de poursuivre ses travaux d'évaluation ayant trait aux espèces sensibles à l'infection par le virus du syndrome des points blancs.

Le rapport du Groupe *ad hoc* sur la sensibilité des espèces de crustacés à une infection par une maladie listée par l'OMSA peut être consulté sur le site internet de l'OMSA à l'adresse : <https://www.woah.org/app/uploads/2023/10/f-crustacean-ahg-div1-mars-2023.pdf>

11. Centres de référence ou changement d'experts

11.1. Évaluation des candidatures au statut de Centres de référence de l'OMSA pour les questions relatives à la santé animale ou changement d'experts

Le Centre collaborateur de l'OMSA pour les maladies émergentes des animaux aquatiques, hébergé par le Centre for Environment, Fisheries and Aquaculture Sciences (Centre des sciences de l'environnement, de la pêche et de l'aquaculture) au Royaume-Uni, avait proposé qu'il soit dirigé par deux experts aux compétences complémentaires. La Commission a souscrit à cette approche.

Le Délégué du Membre concerné avait présenté à l'OMSA la candidature suivante, en vue d'un remplacement d'expert dans un Laboratoire de référence de l'OMSA. La Commission des animaux aquatiques a examiné la demande et a recommandé qu'elle soit acceptée :

Infection à *Hepatobacter penaei* (hépatopancréatite nécrosante)

Dr Arun Dhar, en remplacement du Dr Luis Fernando Aranguren à l'Aquaculture Pathology Laboratory, The University of Arizona, Tucson, Arizona, ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE

11.2. Examen des rapports annuels d'activités de 2022, des Centres de référence de l'OMSA

Des rapports annuels ont été transmis par 35 des 37 Laboratoires de référence de l'OMSA pour les maladies des animaux aquatiques et par les quatre Centres collaborateurs pour les questions relatives aux animaux aquatiques.

En accord avec les Procédures adoptées pour la désignation des Laboratoires de référence de l'OMSA (les Procédures officielles normalisées) ([Procédure de désignation des Laboratoires de référence](#)) et les Procédures de désignation des Centres collaborateurs de l'OMSA ([Procédures de désignation des Centres collaborateurs](#)), la Commission des animaux aquatiques a passé en revue tous les rapports reçus, relevant en particulier la performance de chaque Centre de référence en ce qui concerne le respect du mandat, en termes de bénéfice pour les Membres de l'OMSA.

La Commission a pris acte des contributions importantes qui ont été apportées par les Centres de référence et a souhaité remercier les experts désignés pour avoir mené ces contributions qui s'avèrent précieuses pour la mission de l'OMSA. La Commission a exprimé sa reconnaissance durable pour le soutien enthousiaste et les conseils d'experts apportés à l'OMSA par les Centres de référence. La Commission est particulièrement reconnaissante du soutien constant et des contributions essentielles proposés par les experts des Laboratoires de référence pour la révision des chapitres spécifiques à des maladies du *Manuel aquatique*.

La Commission a formulé quelques propositions de modifications du modèle de rapport annuel, en signalant par exemple que les experts peuvent informer l'OMSA de la nécessité de mettre à jour un chapitre du *Manuel aquatique*, en raison de nouvelles découvertes scientifiques.

11.3. Amélioration de l'implication des Laboratoires de référence pour les maladies des animaux aquatiques auprès de la Commission des animaux aquatiques

La Commission des animaux aquatiques souhaiterait établir des relations plus étroites avec les Laboratoires de référence pour les maladies des animaux aquatiques, afin de renforcer leur implication auprès de la Commission. Les moyens susceptibles de permettre d'atteindre cet objectif comprennent l'invitation d'experts désignés des Laboratoires de référence aux réunions de la Commission, l'invitation des Laboratoires de référence aux webinaires faisant suite aux réunions de la Commission et la promotion de projets de recherche, par exemple des projets visant à valider certaines analyses du *Manuel aquatique*. Un membre de la Commission a été désigné pour rédiger une synthèse des moyens susceptibles de faire avancer ce projet ; ce document sera examiné lors de la prochaine réunion, en février 2024.

11.4. Examen des principaux domaines d'intervention et spécialités des Centres collaborateurs

La Commission des animaux aquatiques a examiné les modifications proposées par la Commission des normes biologiques de la liste des principaux domaines d'intervention et spécialités des Centres collaborateurs de l'OMSA. La Commission des animaux aquatiques a proposé quelques amendements supplémentaires de cette liste. Le document mis à jour avec les modifications mises en évidence est joint en [annexe 20](#) du rapport de la réunion de septembre 2023 de la Commission des normes biologiques.

11.5. Appels à candidatures au statut de Laboratoire de référence de l'OMSA

La Commission des animaux aquatiques a indiqué qu'il était nécessaire de désigner des Laboratoires de référence de l'OMSA pour les maladies listées suivantes :

- Infection à *Aphanomyces invadans* (syndrome ulcératif épizootique)
- Infection à *Batrachochytrium dendrobatidis*
- Infection à *Batrachochytrium salamandrivorans*
- Infection par le virus de la myonécrose infectieuse
- Infection à *Perkinsus marinus*
- Infection à *Perkinsus olseni*
- Infection par le virus du tilapia lacustre
- Infection à *Xenohaliotis californiensis*.

La Commission encourage les candidatures des Membres possédant une expertise appropriée dans ces maladies.

12. Autres activités

12.1. Enregistrement des kits de diagnostic

La Commission des animaux aquatiques a été tenue informée de l'état d'avancement des travaux visant à réorganiser la procédure de l'OMSA d'enregistrement des kits de diagnostic. La Commission a été informée que l'OMSA a tenu une réunion le 7 juin 2023 avec deux des principales parties prenantes, *Health for Animals* et *Diagnostic for Animals*, afin d'étudier la possibilité d'établir des mécanismes susceptibles de favoriser l'harmonisation de la réglementation en matière de kits de diagnostic. Une réunion conjointe est prévue avec les parties prenantes susmentionnées et une sélection des principales Autorités compétentes nationales, représentant toutes les régions géographiques. La Commission sera informée des avancées futures lors de sa prochaine réunion.

La Commission a noté que le Secrétariat pour l'enregistrement des kits de diagnostic devra envisager des procédures dans le cas des kits de diagnostic aquatique qui sont déjà enregistrés et pour lesquels il pourrait être nécessaire de soumettre un nouveau dossier et une nouvelle évaluation pour permettre leur renouvellement.

.../Annexes

Annexe 1. Point 2 – Ordre du jour adopté

REUNION DE LA COMMISSION DES NORMES SANITAIRES POUR LES ANIMAUX AQUATIQUES

13 au 20 septembre 2023

1. Accueil de la Directrice générale adjointe
2. Adoption de l'ordre du jour
3. Rencontre avec la Directrice générale
4. Coopération avec la Commission des animaux terrestres
 - 4.1. Harmonisation entre le *Code terrestre* et le *Code aquatique*
 - 4.1.1. Prise en compte de nouveaux sujets en vue de leur intégration dans le plan de travail de la Commission des animaux aquatiques et le programme de travail de la Commission des animaux terrestres, établissement des priorités (critères et méthodes), documentation du processus
 - 4.1.2. Définitions du Glossaire : « Autorité compétente », « Autorité vétérinaire » et « Services chargés de la santé des animaux aquatiques » - examen de leur usage (sur la base des commentaires des Membres)
 - 4.1.3. Cadre pour les chapitres spécifiques à des maladies du *Code terrestre*
 - 4.2. Synergies et domaines d'intérêts communs
 - 4.2.1. Commission des animaux terrestres : programme pour la révision du Guide de l'Utilisateur
 - 4.2.2. Commission des animaux terrestres : programme visant à faire avancer les travaux consacrés au Titre 5 : révision des chapitres 5.4. à 5.7.
 - 4.2.3. Commission des animaux aquatiques : programme visant à faire avancer les travaux consacrés au chapitre 4.3. « Application de la compartimentation »
 - 4.2.4. Commission des animaux aquatiques : nouveau chapitre 4.X. « Préparation aux situations d'urgence sanitaire » et 4.Y. « Gestion des foyers de maladie »
 - 4.2.5. Commission des animaux terrestres : programme visant à faire avancer les travaux consacrés au Titre 4 : Préparation aux situations d'urgence
 - 4.2.6. Commission des animaux terrestres : programme visant à faire avancer les travaux consacrés au Titre 4 : Sécurité biologique
 - 4.2.7. Commission des animaux terrestres : programme visant à faire avancer les travaux consacrés au chapitre révisé 6.10. « Usage responsable et prudent des agents antimicrobiens en médecine vétérinaire »
5. Plan de travail de la Commission des animaux aquatiques
6. Stratégie pour la santé des animaux aquatiques
 - 6.1. Rapport sur l'état d'avancement de la mise en œuvre de la Stratégie pour les animaux aquatiques
 - 6.2. Participation des Points focaux
 - 6.3. Plan visant à examiner les données scientifiques en matière de bien-être des animaux aquatiques
7. *Code aquatique*
 - 7.1. Sujets diffusés aux Membres afin de recueillir leurs commentaires
 - 7.1.1. Définitions du Glossaire : « Autorité compétente », « Autorité vétérinaire » et « Services chargés de la santé des animaux aquatiques » - examen de leur usage dans le *Code aquatique*

-
- 7.1.2. Définitions du Glossaire : « Produits issus d'animaux aquatiques » – remplacement de l'usage du terme « Produits provenant d'animaux aquatiques » dans le *Code aquatique*
 - 7.1.3. Article 1.1.5. du chapitre 1.1. « Notification des maladies et communications des informations épidémiologiques »
 - 7.1.4. Chapitre 1.3. « Maladies listées pas l'OMSA »
 - 7.1.4.1. Infection par le virus de la nécrose rénale et splénique
 - 7.1.5. Chapter 4.3. « Application de la compartimentation » – Document de discussion
 - 7.1.6. Nouveau chapitre 4.X. « Préparation aux situations d'urgence sanitaire »
 - 7.1.7. Nouveau chapitre 4.Y. « Gestion des foyers de maladie »
 - 7.1.8. Nouveau chapitre 4.Z. « Contrôle des agents pathogènes dans la laitance et dans les œufs fécondés de poisson faisant l'objet d'échanges commerciaux »
 - 7.1.9. Nouveau chapitre 5.X. « Mouvements d'animaux aquatiques d'ornement »
 - 7.1.10. Marchandises dénuées de risques – Articles X.X.3. destiné aux chapitres spécifiques à des maladies
 - 7.1.10.1. Articles révisés 8.X.3. destinés aux chapitres spécifiques à des maladies des amphibiens
 - 7.1.10.2. Articles révisés 9.X.3. destinés aux chapitres spécifiques à des maladies des crustacés
 - 7.1.10.3. Articles révisés 10.X.3. destinés aux chapitres spécifiques à des maladies des poissons
 - 7.1.10.4. Articles révisés 11.X.3. destinés aux chapitres spécifiques à des maladies des mollusques
 - 7.1.11. Modèle d'articles X.X.5. et X.X.6. destinés aux chapitres spécifiques à des maladies
 - 7.1.12. Évaluation des périodes par défaut dans les articles X.X.4. et X.X.8. destinés aux chapitres spécifiques à des maladies
 - 7.1.13. Article 9.10.2. du chapitre 9.10. « Infection par le virus 1 iridescent des décapodes »
 - 7.1.14. Article 10.6.2. du chapitre 10.6. « Infection par le virus de la nécrose hématopoïétique infectieuse »
 - 7.1.15. Article 10.11.2. du chapitre 10.11. « Infection par le virus du tilapia lacustre »
 - 7.1.16. Articles 11.5.1. et 11.5.2. du chapitre 11.5. « Infection à *Perkinsus marinus* »
 - 7.2. Points portés à l'attention des Membres
 - 7.2.1. Prise en compte des maladies émergentes
 - 7.2.1.1. Covert mortality nodavirus (CMNV) chez le poisson zèbre
 - 7.2.1.2. Infection à *Enterocytozoon hepatopenaei*
 - 7.2.1.3. Autres maladies

8. Manuel aquatique

- 8.1. Points portés à l'attention des Membres afin de recueillir leurs commentaires
 - 8.1.1. Titre 2.2. « Maladies des crustacés »
 - 8.1.1.1. Chapitre 2.2.0. « Informations générales : maladies des crustacés »
 - 8.1.1.2. Chapitre 2.2.2. « Infection à *Aphanomyces astaci* (peste de l'écrevisse) »
 - 8.1.1.3. Chapitre 2.2.6. « Infection par le nodavirus de *Macrobrachium rosenbergii* (maladie des queues blanches) »
 - 8.1.1.4. Chapitre 2.2.9. « Infection par le génotype 1 du virus de la tête jaune »
 - 8.1.1.5. Chapitre 2.2.X. « Infection par le virus 1 iridescent des décapodes »
 - 8.1.2. Titre 2.3. « Maladie des poissons »

-
- 8.1.2.1. Chapitre 2.3.9. « Infection par le virus de la virémie printanière de la carpe »
 - 8.1.3. Titre 2.4. « Maladies des mollusques »
 - 8.1.3.1. Chapitre 2.4.0. « Informations générales : maladies des mollusques »
 - 8.1.3.2. Chapitre 2.4.1. « Infection par l'herpèsvirus de l'ormeau »
 - 8.1.3.3. Chapitre 2.4.4. « Infection à *Marteilia refringens* »
 - 8.1.3.4. Sections 2.2.1. et 2.2.2. du chapitre 2.4.5. « Infection à *Perkinsus marinus* »
 - 8.2. Points portés à l'attention des Membres à titre informatif
 - 8.2.1. Élaborer un mécanisme visant à accélérer le processus d'actualisation des méthodes de diagnostic dans le *Manuel aquatique* afin qu'elles soient plus rapidement disponibles pour les Membres (évoqué lors de la 3^e réunion du comité de pilotage du cadre de collaboration régionale pour la santé des animaux aquatiques) : retour d'information sur l'utilisation du modèle de rapport de validation
 - 8.2.2. Inclusion de vidéos consacrées aux techniques de diagnostic dans le *Manuel aquatique*
 - 9. Groupes *ad hoc*
 - 9.1. Rapport du Groupe *ad hoc* sur la sensibilité des espèces de mollusques à une infection par une maladie listée par l'OMSA
 - 9.2. Rapport du Groupe *ad hoc* sur la sensibilité des espèces de poissons à une infection par une maladie listée par l'OMSA
 - 9.3. Rapport du Groupe *ad hoc* sur la sensibilité des espèces de crustacés à une infection par une maladie listée par l'OMSA
 - 10. Centres de référence ou changement d'experts
 - 10.1. Évaluation des candidatures au statut de Centres de référence de l'OMSA pour les questions relatives à la santé animale ou changement d'experts
 - 10.2. Examen des rapports annuels d'activités de 2022 des Centres de référence de l'OMSA ; établir quelles productions pourraient dériver des données collectées
 - 10.3. Questionnaire à l'intention des Laboratoires de référence pour les maladies des animaux aquatiques
 - 10.4. Examen des principaux domaines d'intervention et spécialités des Centres collaborateurs
 - 10.5. Élaborer une liste des réactifs de référence approuvés par l'OMSA pour le diagnostic des maladies des animaux aquatiques
 - 11. Autres activités
 - 11.1. Pour discussion
 - 11.1.1. Enregistrement des kits de diagnostic
 - 11.1.1.1. *Genics : Shrimp MultiPathTM* (SMP) - Rapport d'évaluation et rapport final du groupe de révision (sur le dossier 2022 soumis à nouveau)
 - 11.1.1.2. Point sur la mise en œuvre du nouveau concept d'enregistrement des kits de diagnostic
 - 11.1.1.3. Décision relative aux renouvellements des kits de diagnostic aquatique déjà enregistrés
 - 11.2. Pour information
 - 11.2.1. Transparence du processus de l'OMSA d'élaboration des normes
 - 11.2.2. Outil de navigation en ligne pour les normes de l'OMSA
 - 11.2.3. Observatoire de l'OMSA
 - 11.2.4. Comité de rédaction de la Revue scientifique et technique
 - 12. Examen de la réunion
 - 13. Prochaine réunion : 14 au 21 février 2024
-

Annexe 2. Point 2 – Liste des participants

REUNION DE LA COMMISSION DES NORMES SANITAIRES POUR LES ANIMAUX AQUATIQUES

13 au 20 septembre 2023

MEMBRES DE LA COMMISSION

Dr Ingo Ernst
(Président)
Director Aquatic Pest and Health
Policy,
Department of Agriculture, Fisheries
and Forestry,
Canberra,
AUSTRALIE

Dre Alicia Gallardo Lagno
(Vice-Président)
Senior advisor FARMAVET,
University of Chile,
La Pintana,
CHILI

Dr Hong Liu
(membre)
Professor in aquatic animal health,
Animal and Plant Inspection and
Quarantine Technical Centre,
Shenzhen Customs District,
General Administration of
Customs,
CHINE (Rép. Populaire de Chine)

Dre Fiona Geoghegan
(Vice-Président)
Legislative Officer,
European Commission,
DG SANTE
Brussels,
BELGIQUE

Dr Kevin William Christison
(membre)
Specialist Scientist,
Department of Forestry, Fisheries
and the Environment,
Vlaeberg,
AFRIQUE DU SUD

Dr Espen Rimstad
(membre)
Professor in Virology,
Norwegian University of Life
Sciences
Ås,
NORVEGE

AUTRES PARTICIPANTS

Dr Mark Crane
CSIRO Honorary Fellow,
Research Group Leader | AAHL Fish
Diseases Laboratory
Australian Centre for Disease
Preparedness (ACDP) | CSIRO,
Geelong,
AUSTRALIE

Prof Edmund Peeler
Epidemiologist
Aquatic Pests and Pathogens,
Barrack Road, Weymouth
Dorset, DT4 8UB
ROYAUME-UNI

SIEGE DE L'OMSA

Dre Gillian Mylrea
Cheffe du Service des Normes

Mme Sara Linnane
Agent scientifique – Normes
internationales
Services des Sciences

Dre Kathleen Frisch
Coordinatrice scientifique pour la santé
des animaux aquatiques
Service des Normes

Dre Mariana Delgado
Agent du Secrétariat scientifique
Service des Sciences

Annexe 3. Point 4. – Plan de travail et priorités

PLAN DE TRAVAIL DE LA COMMISSION DES ANIMAUX AQUATIQUES

Calendrier provisoire pour la soumission de commentaires et en vue d'une adoption

<i>Code aquatique</i>			
Chapitre/Sujet	Statut		
	Septembre 2023	Février 2024	Session générale de mai 2024
Suivi des maladies émergentes et examen des actions à prendre	En cours		
Définitions du Glossaire : « Autorité compétente », « Autorité vétérinaire » et « Services chargés de la santé des animaux aquatiques »	Examen des commentaires (premier cycle de consultation)	Examen des commentaires (second cycle de consultation)	Projet de texte proposé à l'adoption
Définitions du Glossaire : « produits issus d'animaux aquatiques »	Examen de l'usage qui en est fait dans le <i>Code aquatique</i> et soumission de la version amendée pour avis	Examen des commentaires (premier cycle de consultation)	Projet de texte proposé à l'adoption
Chapitre 1.3. Maladies listées par l'OMSA – Inclusion de l'infection par le virus de la nécrose infectieuse rénale et splénique dans la Liste des maladies de l'OMSA	Examen des commentaires (second cycle de consultation)	Examen des commentaires (troisième cycle de consultation)	Projet de texte proposé à l'adoption
Article 1.1.5. du chapitre 1.1. « Notification des maladies et communication des informations épidémiologiques »	Examen des commentaires (premier cycle de consultation)	Examen des commentaires (second cycle de consultation)	Projet de texte proposé à l'adoption
Chapitre 4.3. « Application de la compartimentation »	Soumission du document de discussion pour avis	Examen des réponses fournies au document de discussion	
Projet de nouveau chapitre 4.X. « Préparation aux situations d'urgence sanitaire »	Soumission du projet de chapitre pour avis	Examen des commentaires (premier cycle de consultation)	
Projet de nouveau chapitre 4.Y. « Gestion des foyers de maladies »	Soumission du projet de chapitre pour avis	Examen des commentaires (premier cycle de consultation)	
Projet de nouveau chapitre 4.Z. « Maîtrise des agents pathogènes dans la laitance et les œufs fécondés de poissons faisant l'objet d'un commerce »	Soumission du projet de chapitre pour avis	Examen des commentaires (premier cycle de consultation)	
Chapitres 5.6. à 5.9. (chapitres 5.4. à 5.7. du <i>Code terrestre</i>)	–	Revue du rapport du Groupe <i>ad hoc</i> rattaché à la Commission du Code et des chapitres 5.4. et 5.6. du <i>Code terrestre</i> circulés pour commentaire	

Code aquatique			
Chapitre/Sujet	Statut		
	Septembre 2023	Février 2024	Session générale de mai 2024
Projet de nouveau chapitre 5.X. « Mouvement d'animaux aquatiques ornementaux »	Soumission du projet de chapitre pour avis	Examen des commentaires (premier cycle de consultation)	
Chapitre 6.2. « Principes d'usage prudent et responsable des agents antimicrobiens chez les animaux aquatiques »	Point d'étape par la Commission du Code sur la révision en cours du chapitre 6.10. du <i>Code terrestre</i>	Point d'étape par la Commission du Code sur la révision en cours du chapitre 6.10. du <i>Code terrestre</i>	
Espèces sensibles : évaluation de nouvelles espèces ou de nouveaux éléments probants portant sur des maladies précédemment évaluées, si besoin	En cours		
Marchandises dénuées de risques – Articles X.X.3. – Amphibiens	Examen des commentaires (second cycle de consultation)	Examen des commentaires (troisième cycle de consultation)	Projet de texte proposé à l'adoption
Marchandises dénuées de risques – Articles X.X.3. – Crustacés	Examen des commentaires (premier cycle de consultation)	Examen des commentaires (second cycle de consultation)	Projet de texte proposé à l'adoption
Marchandises dénuées de risques – Articles X.X.3. – Poissons	Examen des commentaires (premier cycle de consultation)	Examen des commentaires (second cycle de consultation)	Projet de texte proposé à l'adoption
Marchandises dénuées de risques – Articles X.X.3. – Mollusques	Examen des commentaires (second cycle de consultation)	Examen des commentaires (troisième cycle de consultation)	Projet de texte proposé à l'adoption
Évaluation des périodes établies par défaut dans les articles X.X.4. – X.X.8. des chapitres spécifiques aux maladies	–	Soumission de l'évaluation des périodes établies par défaut pour avis	
Modèles d'articles X.X.5. et X.X.6. des chapitres spécifiques aux maladies	Soumission de la version amendée pour avis	Examen des commentaires (premier cycle de consultation)	Projet de texte proposé à l'adoption
Espèces sensibles – Maladies des crustacés – Articles 9.X.1. et 9.X.2. pour : <ul style="list-style-type: none"> – l'infection par le virus iridescent des décapodes – l'infection par le virus du syndrome des points blancs – l'infection à <i>Aphanomyces astaci</i> (peste de l'écrevisse) 	Virus iridescent des décapodes : revue du rapport du Groupe <i>ad hoc</i> et soumission des articles amendés pour avis	Virus iridescent des décapodes : examen des commentaires (premier cycle de consultation)	Virus iridescent des décapodes : projet de texte proposé à l'adoption
	–	Virus du syndrome des points blancs : revue du rapport du Groupe <i>ad hoc</i> et soumission des articles amendés pour avis	
Article 10.6.2. du chapitre 10.6. « Infection par le virus de la nécrose hématopoïétique infectieuse »	Soumission de la version amendée pour avis	Examen des commentaires (premier cycle de consultation)	Projet de texte proposé à l'adoption

Code aquatique			
Chapitre/Sujet	Statut		
	Septembre 2023	Février 2024	Session générale de mai 2024
Espèces sensibles – Maladies des poissons – Articles 10.X.1. et 10X.2. pour : – l'infection par le virus du tilapia lacustre – l'infection à <i>Aphanomyces astaci</i> (syndrome ulcératif épizootique)	Virus du tilapia lacustre : revue du rapport du Groupe <i>ad hoc</i> et soumission des articles amendés pour avis	Virus du tilapia lacustre : examen des commentaires (premier cycle de consultation)	Virus du tilapia lacustre : projet de texte proposé à l'adoption
	–	Syndrome ulcératif épizootique : revue du rapport du Groupe <i>ad hoc</i>	
Espèces sensibles – Maladies des mollusques – Articles 11X.1. et 11X.2. pour : – l'infection à <i>Perkinsus marinus</i> – l'infection à <i>Perkinsus olseni</i> – l'infection à <i>Xenohalotis californiensis</i>	<i>Perkinsus marinus</i> : examen des commentaires (premier cycle de consultation)	<i>Perkinsus marinus</i> : examen des commentaires (second cycle de consultation)	<i>Perkinsus marinus</i> : projet de texte proposé à l'adoption
	<i>Perkinsus olseni</i> : revue du rapport du Groupe <i>ad hoc</i>	<i>Perkinsus olseni</i> : revue du rapport du Groupe <i>ad hoc</i> et soumission des articles amendés pour avis	

Manuel aquatique			
Chapitre/Sujet	Statut		
	Septembre 2023	Février 2024	Session générale de mai 2024
Chapitre 1.1.1. « Gestion de la qualité dans les laboratoires de diagnostic vétérinaire »	Point d'étape par la Commission des normes biologiques	Soumission de commentaires à la Commission des normes biologiques	
Chapitre 1.1.2. « Validation des épreuves diagnostiques pour les maladies infectieuses des animaux aquatiques »	–	Revue du premier projet de texte	
Section 2.2. « Dispositions générales – Crustacés »	Examen des commentaires (second cycle de consultation)	Examen des commentaires (troisième cycle de consultation)	Projet de texte proposé à l'adoption
Chapitre 2.2.2. « Infection à <i>Aphanomyces astaci</i> (peste de l'écrevisse) »	Examen des commentaires (second cycle de consultation)	Examen des commentaires (troisième cycle de consultation)	Projet de texte proposé à l'adoption
Chapitre 2.2.6. « Infection par le nodavirus de <i>Macrobrachium rosenbergii</i> (maladie des queues blanches) »	Examen des commentaires (premier cycle de consultation)	Examen des commentaires (second cycle de consultation)	Projet de texte proposé à l'adoption
Chapitre 2.2.9. « Infection par le génotype 1 du virus de la tête jaune »	Examen des commentaires (premier cycle de consultation)	Examen des commentaires (second cycle de consultation)	Projet de texte proposé à l'adoption
Chapitre 2.2.X. « Infection par le virus 1 iridescent des décapodes »	Revue du projet de texte mis à jour et soumission du texte pour avis	Examen des commentaires (premier cycle de consultation)	

Manuel aquatique			
Chapitre/Sujet	Statut		
	Septembre 2023	Février 2024	Session générale de mai 2024
Chapitre 2.3.9. « Infection par la virémie printanière de la carpe »	–	Revue de la validation ou de la publication de la PCR en temps réel	
Chapitre 2.3.X. « Infection par le virus du tilapia lacustre »	–	Revue du projet de texte mis à jour et soumission du texte pour avis	
Chapitre 2.4.0. « Informations générales »	Revue du projet de texte mis à jour et soumission du texte pour avis	Examen des commentaires (premier cycle de consultation)	
Chapitre 2.4.1. « Infection par l'herpesvirus de l'ormeau »	Revue du projet de texte mis à jour et soumission du texte pour avis	Examen des commentaires (premier cycle de consultation)	
Chapitre 2.4.4. « Infection à <i>Marteilia refringens</i> »	Revue du projet de texte mis à jour et soumission du texte pour avis	Examen des commentaires (premier cycle de consultation)	
Chapitre 2.4.3. « Infection à <i>Bonamia ostreae</i> »	–	Revue du projet de texte mis à jour et soumission du texte pour avis	
Sections 2.2.1. et 2.2.2. du chapitre 2.4.5. « Infection à <i>Perkinsus marinus</i> »	Examen des commentaires (premier cycle de consultation)	Examen des commentaires (second cycle de consultation)	Projet de texte proposé à l'adoption

Annexe 4. Point 6.1. – Définitions du Glossaire : « Services chargés de la santé des animaux aquatiques », « Autorité compétente » et « Autorité vétérinaire »

Article	Usage
Guide de l'utilisateur : B.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 <u>Services chargés de la santé des animaux aquatiques</u> et 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.
Guide de l'utilisateur : C.8.	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 <u>de l'Autorité compétente pertinente</u> régissant l'établissement des certificats sanitaires et de l'expérience <u>des Services chargés de la santé des animaux aquatiques de l'Autorité vétérinaire</u> dans la satisfaction des obligations en matière de notification, que dépend l'assurance qu'auront les partenaires commerciaux de la sécurité sanitaire des marchandises issues d'animaux aquatiques.
Glossaire	NOTIFICATION désigne la procédure par laquelle : a) l'Autorité compétente <u>l'Autorité vétérinaire</u> porte à la connaissance du Siège, b) le Siège porte à la connaissance des Autorités compétentes <u>de l'Autorité vétérinaire</u> des États membres l'apparition d'une <i>maladie</i> , conformément aux dispositions prévues au chapitre 1.1.
Article 1.1.1.	Aux fins du <i>Code aquatique</i> et conformément aux dispositions prévues aux articles 5, 9 et 10 des Statuts organiques de l'OMSA, les États membres reconnaissent au Siège le droit de communiquer directement avec l'Autorité compétente <u>l'Autorité vétérinaire</u> de son ou de ses territoires. Toute <i>notification</i> ou toute information adressée par l'OMSA à l'Autorité compétente <u>l'Autorité vétérinaire</u> est considérée comme ayant été adressée à l'État dont elle relève et toute <i>notification</i> ou toute information adressée à l'OMSA par l'Autorité compétente <u>l'Autorité vétérinaire</u> est considérée comme ayant été envoyée par l'État dont elle relève.
Article 1.1.3. paragraphe 1	Sous la responsabilité du Délégué, l'Autorité compétente <u>l'Autorité vétérinaire</u> adressera au Siège :
Article 1.1.4. paragraphe 1	Sous la responsabilité du Délégué, l'Autorité compétente <u>l'Autorité vétérinaire</u> adressera au Siège :
Article 1.1.5. point 1	L'Autorité compétente <u>L'Autorité vétérinaire</u> d'un pays comptant une zone ou un compartiment infecté avisera le Siège dès que ce pays, cette zone ou ce compartiment aura recouvré le statut indemne au regard de la <i>maladie</i> considérée.

Article	Usage
Article 1.1.5. point 3	L'Autorité compétente <u>L'Autorité vétérinaire</u> d'un État membre qui a établi une ou plusieurs zones indemnes ou un ou plusieurs compartiments indemnes, doit en informer le Siège en donnant les détails nécessaires, notamment les critères sur lesquels repose le statut de territoire indemne et les conditions applicables de maintien de ce statut, et en indiquant clairement l'emplacement de ces zones et de ces compartiments sur une carte du territoire de l'État membre.
Article 3.1.2. point 7 paragraphe 3	Les Services chargés de la santé des animaux aquatiques <u>Les Autorités compétentes</u> doivent définir et consigner par écrit les responsabilités et l'organisation (notamment de la chaîne de commandement) de la structure chargée de la délivrance des certificats sanitaires internationaux applicables aux animaux aquatiques.
Article 3.1.2. point 10	<u>Demandes d'information, réclamations et recours</u> Les Services chargés de la santé des animaux aquatiques <u>L'Autorité compétente pertinente</u> doivent s'engager à répondre aux sollicitations des Services chargés de la santé des animaux aquatiques de l'Autorité compétente des autres États membres ou de toute autre autorité , en veillant notamment à ce que les demandes d'information, les réclamations et les recours soient traités dans un délai raisonnable. Un relevé de toutes ces réclamations et de tous ces recours, ainsi que des suites que les Services chargés de la santé des animaux aquatiques <u>l'Autorité compétente</u> leur aura <u>aura</u> réservées, doit être tenu.
Article 3.1.5. paragraphe 4	L'(les) expert(s) réalise(nt) l'évaluation des Services chargés de la santé des animaux aquatiques de l'État membre en prenant pour guide l'ouvrage « Outil de l'OMSA pour l'évaluation des performances des Services vétérinaires ou des Services chargés de la santé des animaux aquatiques (Outil PVS de l'OMSA : animaux aquatiques) ». La mise en pratique de l'outil doit être adaptée au contexte de l'évaluation. L'(les) expert(s) rédige(nt) un rapport après consultation des Services chargés de la santé des animaux aquatiques de l'État membre.
Article 3.2.1. paragraphe 2	Il est primordial de reconnaître la communication en tant que discipline au sein des Services chargés de la santé des animaux aquatiques et de l'y intégrer afin de permettre le bon fonctionnement de ces Services. L'intégration de compétences en santé des animaux aquatiques et en communication est essentielle pour une communication efficace. La communication entre les Services chargés de la santé des animaux aquatiques et les Services vétérinaires (en particulier lorsque les Services chargés de la santé des animaux aquatiques sont distincts et indépendants des Services vétérinaires) est capitale.
Article 4.2.3. point 1	L'étendue d'une zone doit être fixée par le Service chargé de la santé des animaux aquatiques <u>l'Autorité compétente</u> , en s'appuyant sur la définition du terme zone, et être rendue publique par des canaux officiels.
Article 4.2.3. point 3	Les facteurs définissant un compartiment doivent être établis par le Service chargé de la santé des animaux aquatiques <u>l'Autorité compétente</u> , en s'appuyant sur des critères pertinents tels que les pratiques de gestion et d'élevage reposant sur la sécurité biologique. Ils doivent être rendus publics par des canaux officiels.
Article 4.2.3. Point 6	Le plan de sécurité biologique fourni pour un compartiment doit consigner par écrit le partenariat <u>entre auprès de</u> l'entreprise ou <u>le du</u> secteur industriel concerné, <u>et le Service chargé de la santé des animaux aquatiques l'Autorité compétente et les Services chargés de la santé des animaux aquatiques</u> , ainsi que leurs responsabilités respectives (procédures de supervision de l'opération relative au compartiment par le Service chargé de la santé des animaux aquatiques <u>l'Autorité compétente</u> y compris).

Article	Usage
Article 5.3.4. point 2) 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 vétérinaires ou des Services chargés de la santé des animaux aquatiques de l'Autorité compétente) ;
Article 5.3.7. point 1) d) i)	l'évaluation des Services vétérinaires ou des Services chargés de la santé des animaux aquatiques du pays exportateur ;
Article 5.3.7. point 2) e) i)	l'évaluation des Services vétérinaires ou des Services chargés de la santé des animaux aquatiques du pays exportateur ;

Annexe 5. Point 6.2. – Définitions du Glossaire : « Produits issus d'animaux aquatiques »

Article	Usage
Article 4.3.1. paragraphe 1	Les recommandations du présent chapitre fournissent un cadre structuré pour l'application et la reconnaissance des <i>compartiments</i> au sein de pays ou de zones, en vertu des dispositions prévues au chapitre 4.2., en vue de faciliter le commerce d' <i>animaux aquatiques</i> et de produits d'origine animale aquatique <u>produits issus d'animaux aquatiques</u> et de disposer d'un outil pour la gestion des <i>maladies</i> .
Article 5.11.1. titre	Notes explicatives sur les certificats sanitaires relatifs au commerce international des animaux aquatiques vivants et des produits qui en sont issus <u>produits issus d'animaux aquatiques</u>

CHAPITRE 1.1.

NOTIFICATION DES MALADIES ET COMMUNICATION DES INFORMATIONS ÉPIDÉMIOLOGIQUES

[...]

Article 1.1.5.

- 1) ~~L'Autorité compétente d'un pays comptant une zone ou un compartiment infecté avisera le Siège dès que ce pays, cette zone ou ce compartiment aura recouvré le statut indemne au regard de la maladie considérée.~~
- 2) ~~Un pays, une zone ou un compartiment peut être considéré comme ayant recouvré le statut indemne d'une maladie déterminée s'il remplit toutes les conditions énoncées dans le Code aquatique.~~
- 3) ~~L'Autorité compétente d'un État membre qui a établi une ou plusieurs zones indemnes ou un ou plusieurs compartiments indemnes, doit en informer le Siège en donnant les détails nécessaires, notamment les critères sur lesquels repose le statut de territoire indemne et les conditions applicables de maintien de ce statut, et en indiquant clairement l'emplacement de ces zones et de ces compartiments sur une carte du territoire de l'État membre.~~

Article 1.1.65.

- 1) Bien qu'ils soient tenus de notifier seulement les *maladies listées* et les *maladies émergentes*, les États membres sont encouragés à fournir à l'OMSA toute autre information importante relative à la santé des *animaux aquatiques*.
- 2) Le Siège transmettra aux *Autorités compétentes* par courrier électronique ou par le biais de l'application WAHIS toutes les *notifications* reçues conformément aux articles 1.1.2. à 1.1.54, ainsi que toute autre information jugée pertinente.

[...]

Annexe 7. Point 6.4. – Évaluation de l'infection par tous les génogroupes de l'espèce virus de la nécrose infectieuse rénale et splénique

ÉVALUATION DE L'INFECTION PAR TOUS LES GÉNOGROUPES DE L'ESPÈCE VIRUS DE LA NÉCROSE INFECTIEUSE RÉNALE ET SPLÉNIQUE (ISKNV) EN VUE DE SON INCLUSION DANS LA LISTE DES MALADIES DU CODE SANITAIRE POUR LES ANIMAUX AQUATIQUES DE L'OMSA

Récapitulatif de l'évaluation

1. La Commission des normes sanitaires pour les animaux aquatiques a évalué l'infection par l'espèce virus de la nécrose infectieuse rénale et splénique (ISKNV), et notamment ses trois génogroupes que sont l'iridovirus de la daurade japonaise (RSIV), le virus de la nécrose infectieuse rénale et splénique (ISKNV) et l'iridovirus du corps rougeâtre du turbot (TRBIV) au regard des critères d'inclusion dans la liste des maladies figurant à l'article 1.2.2. du *Code aquatique*.
2. La Commission des animaux aquatiques est convenue que le génogroupe RSIV, actuellement listé dans le *Code aquatique*, ainsi que les deux génogroupes ISKNV et TRBIV satisfaisaient aux critères 1, 2, 3, et 4b (voir Tableau 1 ci-dessous).
3. La Commission des animaux aquatiques a noté que les trois génogroupes présentaient des similitudes en matière d'espèces sensibles, d'épidémiologie et de méthodes de diagnostic. À ce titre, la Commission a estimé que la maladie devait être listée sous la désignation « Infection par tous les génogroupes de l'espèce ISKNV ». Il est proposé que la définition de l'infection par tous les génogroupes de l'espèce ISKNV désigne une infection causée par les trois génogroupes (ISKNV, RSIV and TRBIV) mais exclue une autre espèce de *Megalocytivirus*, le virus de la maladie de perte d'écailles (« scale drop disease virus »).

	Critères d'inclusion dans la Liste de l'OMSA						Conclusion
	1	2	3	4a	4b	4c	
Infection par tous les génogroupes de l'espèce virale ISKNV	+	+	+	NA	+	-	La maladie satisfaisait aux critères d'inclusion dans la Liste de l'OMSA.

NA = non applicable.

Critères d'inclusion figurant au chapitre 1.2. du *Code aquatique*

Les critères d'inclusion d'une maladie dans la liste de l'OMSA sont les suivants :

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.

ET

2. Au moins un pays peut démontrer l'absence de la maladie sur son territoire ou dans une zone chez les animaux aquatiques sensibles, conformément aux dispositions prévues au chapitre 1.4.

ET

3. Une définition de cas précise est disponible et il existe une méthode fiable de détection et de diagnostic.

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.

OU

- 4.b. Lorsqu'elle apparaît, il est prouvé que la maladie 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.

OU

- 4.c. On a montré la présence de la maladie ou on dispose d'éléments de preuve scientifiques indiquant que la maladie affecterait la santé des animaux aquatiques 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.

Contexte

Le genre *Megalocytyivirus* est un des sept genres de la famille des *Iridoviridae*. À l'instar des genres *Ranavirus* et *Lymphocystivirus*, il appartient à la sous-famille des Alphairidovirinae (Chinchar *et al.*, 2017 ; Chinchar *et al.*, 2020). Les mégalocytyivirus se différencient des ranavirus et des lymphocystivirus par leur capacité à induire une augmentation marquée de la taille des cellules des tissus infectés et par l'analyse séquentielle des gènes viraux principaux (Chinchar *et al.*, 2017). Les mégalocytyivirus sont les agents étiologiques de maladies graves associées à des mortalités importantes chez plusieurs espèces de poissons marins et dulçaquicoles (Kurita & Nakajima, 2012 ; Hick *et al.*, 2016).

Le Comité international sur la taxonomie des virus (ICTV) reconnaît deux espèces appartenant au genre *Megalocytyivirus* : le virus de la nécrose infectieuse rénale et splénique (ISKNV) et le virus de la maladie de perte d'écaillés (SDDV) (Chinchar *et al.*, 2017). Le SDDV se distingue d'un point de vue génétique et épidémiologique de l'ISKNV et donc n'est pas inclus dans la présente évaluation.

Au sein de l'espèce ISKNV ont été reconnus trois génogroupes : l'ISKNV, le RSIV et le TRBIV (Song *et al.*, 2008). Toutefois, il n'a pas encore été déterminé si ces trois génogroupes correspondaient à des espèces distinctes ou à des souches distinctes d'une seule et même espèce (Chinchar *et al.*, 2017). Les mégalocytyivirus portent des noms variés et choisis d'après l'espèce dans laquelle ils ont été détectés pour la première fois ; toutefois, tous les variants de l'espèce ISKNV dont le génome a été analysé ont été placés dans un des trois génogroupes (ISKNV, RSIV and TRBIV) (Chinchar *et al.*, 2017). Chaque génogroupe est à son tour subdivisé en deux clades (Koda *et al.*, 2018, 2019, 2023 ; Fusianto *et al.*, 2023).

Le nom « ISKNV » est employé pour désigner une des deux espèces reconnues du genre *Megalocytyivirus* mais également pour désigner un des trois génogroupes de cette espèce. Dans le présent document, l'emploi du terme « génogroupe ISKNV » fait référence au génogroupe ISKNV alors que le terme « espèce ISKNV » fait référence à l'espèce ISKNV.

L'infection par l'iridovirus de la daurade japonaise (RSIV) a été listée par l'OMSA dans le *Code sanitaire*¹ pour les animaux aquatiques pour la première fois en 2003. Son inclusion dans la liste a été maintenue depuis et il figure dans l'édition de 2022 du *Code aquatique*. La maladie causée par le RSIV a été détectée pour la première fois dans un élevage de dorades roses (*Pagrus major*), au Japon, en 1990 (Inouye *et al.*, 1992). Le RSIV a été principalement détecté chez des poissons marins. Parmi les espèces listées comme étant sensibles² à l'infection par le RSIV dans le *Code aquatique* de l'OMSA figurent la dorade rose (*Pagrus major*), la sériole du Japon (*Seriola quinqueradiata*), la sériole couronnée (*Seriola dumerili*), une espèce de *Lateolabrax*, la perche barramundi (*Lates calcarifer*), le thon rouge de l'Atlantique (*Thunnus thynnus*), *Oplegnathus fasciatus*, la carangue dentue (*Caranx delicatissimus*), *Siniperca chuatsi*, le tambour rouge (*Sciaenops ocellatus*), le mullet à grosse tête (*Mugil cephalus*) et des espèces de mérous (*Epinephelus spp.*).

Le génogroupe ISKNV n'est actuellement pas listé dans le *Code aquatique* de l'OMSA. La morphologie des virions est évocatrice de celle des iridovirus. En outre, l'augmentation de la taille des cellules présentant des corps d'inclusion similaires à ceux des mégalocytyivirus a été rapportée chez des espèces de poissons dulçaquicoles depuis la fin des années 80 et des années 90 (par exemple, Armstrong & Ferguson, 1989 ; Anderson *et al.*, 1993). Le génogroupe ISKNV

¹ Le RSIV a été inclus dans le *Code aquatique* avant 2003, mais comme « autre maladie d'importance ».

² Il faut noter que la liste des espèces sensibles à l'infection par le RSIV conformément au chapitre 1.5. du *Code aquatique* n'a pas été révisée pour suivre les recommandations du Groupe *ad hoc*.

a été détecté dans des échantillons de poissons d'ornements provenant d'archives datant de 1996 (Go *et al.*, 2006 ; Go *et al.*, 2016 ; Becker *et al.*, 2022). L'infection par le virus de la nécrose infectieuse rénale et splénique a été décrite chez *Siniperca chuatsi* (He *et al.*, 2000 ; He *et al.*, 2002). En 2001, le génome du génogroupe ISKNV a été analysé et il a été conclu qu'il était similaire à celui du RSIV (He *et al.*, 2001). Le génogroupe ISKNV a été détecté chez de nombreux poissons dulçaquicoles, notamment de nombreuses espèces de la filière des poissons d'ornement (voir la revue de Johan & Zainathan, 2020). La présence de ce génotype a été rapportée chez de nombreuses espèces de poissons d'ornement faisant l'objet d'échanges commerciaux au niveau international (voir la publication de Johan & Zainathan, 2020 ; Becker *et al.*, 2022). Il a été également rapporté que le génogroupe ISKNV était responsable de mortalités massives d'espèces importantes pour la consommation humaine (par exemple, Subramaniam *et al.*, 2016 ; Ramírez-Paredes *et al.*, 2020 ; Fusianto *et al.*, 2021).

Le génogroupe de l'iridovirus du corps rougeâtre du turbot (TRBIV) n'est actuellement pas inclus dans le *Code aquatique* de l'OMSA. Il a été décrit pour la première fois comme responsable de la maladie chez le turbot *Scophthalmus maximus* (Shi *et al.*, 2004). Le TRBIV est connu comme la cause principale de maladie chez les poissons plats en Chine et en Corée (par exemple Shi *et al.*, 2004 ; Do *et al.*, 2005). En outre, il a également été détectée chez d'autres espèces, notamment celles de la filière de poissons d'ornement (Go *et al.*, 2016 ; Koda *et al.*, 2018). Le TRBIV est également à l'origine de maladie chez d'autres espèces d'élevage présentant une importance économique telles que la perche barramundi (*Lates calcarifer*) (Tsai *et al.*, 2020) et *Oplegnathus fasciatus* (Huang *et al.*, 2011).

La Commission des animaux aquatiques a précédemment proposé une approche pour différencier les souches d'agents pathogènes (se référer aux rapports de la Commission de [février](#) et [octobre 2011](#)). Les trois principaux critères qui ont été pris en compte pour l'applicabilité de la différenciation des souches de l'agent pathogène dans les normes du *Code aquatique* et du *Manuel aquatique* étaient les suivants : 1) les variants de l'agent pathogène sont clairement identifiées dans la littérature scientifique et les caractéristiques des maladies qu'ils causent sont différentes ; 2) il existe des méthodes robustes qui permettent de toujours les différencier ; 3) il y a ou il peut possiblement y avoir une gestion différenciée des variants dans ou entre les pays. Dans le cas de l'espèce ISKNV, le RSIV a été listé avant même que soit conduits les travaux de recherche pour définir ses trois génogroupes au sein de l'espèce ISKNV ainsi que pour établir leurs liens épidémiologiques et génétiques. Étant donné que la Liste inclut le RSIV et non l'ISKNV ou le TRBIV, la présente évaluation expose les informations spécifiques à chacun de ces trois génogroupes. Toutefois, il est proposé de lister les trois génogroupes comme étant l'espèce ISKNV.

Évaluation au regard des critères d'inclusion dans la Liste

Critère n°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.

Évaluation

L'espèce ISKNV peut être transmise horizontalement par l'eau et demeure viable dans les tissus congelés de l'hôte. Il est attendu que la probabilité de transmission soit plus grande dans la filière de commercialisation des poissons vivants mais elle est également possible dans les produits issus d'animaux aquatiques, en particulier si ces derniers ne sont pas éviscérés.

De nombreux poissons marins et dulçaquicoles sont sensibles à l'espèce ISKNV. Ils font l'objet d'échanges commerciaux au niveau international, que ce soit sous forme de poissons vivants (destinés à la consommation humaine, à l'aquaculture ou un usage ornemental) ou de produits issus d'animaux aquatiques.

Le RSIV a été détecté dans plusieurs pays d'Asie où il a été associé à des foyers de maladies chez des espèces de poissons d'élevage marins (Kurita & Nakajima, 2012). Certaines espèces, destinées à la consommation humaine, sont commercialisées vivantes (par exemple la dorade rose, les mérous), alors que d'autres sont commercialisées sous forme de produits issus d'animaux aquatiques.

Le génogroupe ISKNV a été détecté chez de nombreuses espèces commercialisées dans la filière des poissons d'ornement. Cette filière a été mise en cause dans l'apparition et la propagation de la maladie (par exemple, Jeong *et al.*, 2008 ; Johan & Zainathan, 2020). Les poissons d'ornement infectés peuvent ne pas présenter de signes cliniques (par exemple, Subramaniam *et al.*, 2014 ; Rimmer *et al.*, 2015) et, à ce titre, peuvent avoir un rôle de porteurs du virus. Le génogroupe ISKNV a également été détecté chez des espèces d'élevage d'importance pour la consommation humaine, et qui font l'objet d'échanges commerciaux au niveau international, telles que le tilapia (Ramírez-Paredes *et al.*, 2020). Le génogroupe ISKNV a également été détecté chez des poissons non transformés utilisés comme aliment pour les animaux d'aquaculture (Lajimin *et al.*, 2015), ce qui suggère que les poissons commercialisés comme aliment pour animaux en aquaculture ou comme appâts pourraient constituer une voie d'introduction. La transmission de l'agent pathogène aux espèces de poissons marins par des espèces de poissons dulçaquicoles a été démontrée par inoculation directe et cohabitation (Jeong *et al.*, 2008b ; Go & Whittington, 2019).

Le TRBIV a été observé chez plusieurs espèces d'importance pour les échanges internationaux (par exemple, le turbot, le carreau hirme, la perche barramundi), qu'elles soient commercialisées vivantes ou sous forme de produits issus d'animaux aquatiques. Les résultats de l'analyse phylogénétique indiquent une récente propagation internationale du TRBIV (Tsai *et al.*, 2020).

Les variants de l'espèce ISKNV ont été détectés chez de nombreuses espèces d'espèces de poissons marins et dulçaquicoles qui font l'objet d'échanges internationaux. Chacun des trois génogroupes a été détecté dans des marchandises commercialisées et il y a des preuves établissant un lien de causalité entre la propagation internationale et les échanges commerciaux.

Conclusion

Le critère est satisfait.

Critère n°2. Au moins un pays peut démontrer l'absence de la maladie sur son territoire ou dans une zone chez les animaux aquatiques sensibles conformément aux dispositions prévues au chapitre 1.4.

Évaluation

L'infection par le RSIV est notifiable à l'OMSA depuis 2003. Plusieurs pays continuent de rapporter qu'ils n'ont jamais détecté le virus sur leur territoire (se référer au Système Mondial d'information Zoosanitaire de l'OMSA) ; il est probable que certains de ces pays puissent démontrer leur statut indemne de la maladie.

La présence du génogroupe ISKNV a été rapportée chez un grand nombre de poissons commercialisés dans la filière des poissons d'ornement et il est fortement probable que ce génogroupe soit largement répandu le long des chaînes d'approvisionnement. Toutefois, certains pays réunissent de façon continue des conditions élémentaires de sécurité biologique³ pour le génogroupe ISKNV et sont en capacité de démontrer leur statut indemne. En outre, les tests PCR utilisés aux fins de la surveillance du RSIV détecteraient également le génogroupe ISKNV, ce qui constituerait la preuve de l'absence du génogroupe ISKNV.

Le TRBIV a été détecté pour la première fois dans des élevages de poissons plats en Chine et en Corée. Il a également été détecté chez des poissons d'ornement et dans les élevages de perches barramundi. Les tests PCR recommandés dans le chapitre du *Manuel aquatique* de l'OMSA dédié à l'infection par le RSIV pourraient ne pas détecter le TRBIV, avec comme conséquence une moins grande confiance concernant la distribution de ce génogroupe. Toutefois, le TRBIV ayant été démontré comme étant pathogène pour les populations de certaines espèces d'élevage, il est probable qu'il soit détecté en cas d'apparition de la maladie chez ces espèces. Bien qu'il y ait moins de certitude concernant la distribution du TRBIV, il semble probable qu'au moins un pays pourrait déposer une auto-déclaration d'absence pour l'intégralité du pays ou une zone.

Conclusion

Le critère est satisfait.

Critère n°3. Une définition de cas précise est disponible et il existe une méthode fiable de détection et de diagnostic.

Évaluation

Les définitions de cas pour la suspicion et la confirmation de l'infection par le RSIV sont disponibles dans le *Manuel aquatique* de l'OMSA. Étant donné que la plupart des tests PCR pour le RSIV (et d'autres méthodes comme, par exemple, l'histologie) détectent le génogroupe ISKNV, les définitions de cas pourraient être aisément adaptées afin d'inclure le génogroupe ISKNV. Kawato *et al.* (2021) ont comparé les performances analytiques de quatre méthodes de

³Les conditions élémentaires de sécurité biologique sont définies dans l'article 1.4.6. du *Code aquatique* et comprennent, comme exigences, un système de détection précoce (tel que décrit à l'article 1.4.7.) ainsi que des mesures de prévention de l'introduction de l'agent pathogène.

PCR en temps réel pour la détection des mégalocytivirus (à l'exclusion du SDDV). Ils ont démontré que trois des quatre tests détectaient les virus ciblés, à savoir les génogroupes ISKNV, RSIV, et TRBIV. Le nombre d'outils de diagnostic disponibles pour détecter l'espèce ISKNV et élaborer les définitions de cas incluant les trois génogroupes est suffisant.

Conclusion

Le critère est satisfait.

Critère n°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.

Évaluation

Il n'y a aucune preuve de transmission à l'homme.

Conclusion

Le critère n'est pas applicable.

Critère n°4b. Lorsqu'elle apparaît, il est prouvé que la maladie 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 constatée au niveau du pays ou de la zone.

Évaluation

Le RSIV a causé des mortalités massives dans les populations de poissons d'élevage. La maladie a été détectée pour la première fois chez la dorade rose au Japon et se caractérisait par une léthargie, une anémie sévère, des pétéchies au niveau des branchies et une splénomégalie (Inouye *et al.*, 1992 ; Jung *et al.*, 1997 ; Nakajima & Maeno, 1998). Il a été rapporté que le RSIV était responsable de pertes de production, de morbidités et de mortalités chez de nombreuses autres espèces (par exemple Chao *et al.*, 2004 ; Chen *et al.*, 2003 ; Girisha *et al.*, 2020 ; Ni *et al.*, 2021 ; Sumithra *et al.*, 2022).

La présence du génogroupe ISKNV a été associée à de nombreux cas de maladies observées chez des poissons d'ornement (voir la revue de Johan & Zainathan, 2020 ; Becker *et al.*, 2022). Le génogroupe ISKNV a également été associé à des mortalités massives chez des espèces de poissons d'importance élevées pour la consommation humaine ; par exemple, la perche barramundi (Dong *et al.*, 2017 ; Kerddee *et al.*, 2021), le tilapia (par exemple, Figueiredo *et al.*, 2021 ; Ramírez-Paredes *et al.*, 2021) et les mérous (par exemple, Chao *et al.*, 2004 ; Huang *et al.*, 2020 ; Fusianto *et al.*, 2021).

Le TRBIV est responsable de maladies et de mortalités massives chez le turbot d'aquaculture en Chine (par exemple, Shi *et al.*, 2010). Des mortalités pouvant atteindre 90 % ont été observées chez la perche barramundi à Taiwan (Tsai *et al.*, 2020).

Conclusion

Le critère est satisfait.

Critère n°4c. On a montré la présence de la maladie ou on dispose d'éléments de preuve scientifiques indiquant que la maladie affecterait la santé des animaux aquatiques 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.

Évaluation

Il y a un nombre limité d'informations sur la présence des génogroupes RSIV, ISKNV ou TRBIV dans les populations de poissons sauvages et sur les conséquences en termes de morbidité, mortalité ou d'impact écologique. Il a été rapporté que le génogroupe ISKNV était à l'origine d'un épisode de mortalités massives chez des populations de cichlidés sauvages en Inde (Swaminathan *et al.*, 2022) et qu'il a été également détecté chez diverses espèces de poissons sauvages apparemment en bonne santé (Wang *et al.*, 2007).

Conclusion

Le critère n'est pas satisfait.

Références

- ARMSTRONG, R. & FERGUSON, H. (1989). Systemic viral disease of the chromide cichlid *Etroplus maculatus*. *Diseases of Aquatic Organisms*, **7**, 155-157.
- ANDERSON, I.G., PRIOR, H.C., RODWELL, B.J. & HARRIS, G.O. (1993). Iridovirus-like virions in imported dwarf gourami (*Colisa lalia*) with systemic amoebiasis. *Australian Veterinary Journal*, **70**(2), 66-67.
- BECKER, J.A., FUSIANTO, C., HICK, P.M. (2022). Infection with Megalocytivirus in Ornamental Fish. In: *Aquaculture Pathophysiology, Pharmacology and Toxicology* (F. Kibenge, R.S. Chong, B. Baldisserotto, eds), Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812211-2.00016-0>.
- CHAO, C.B., CHEN, C.Y., LAI, Y.Y., LIN, C.S. & HUANG, H.T. (2004). Histological, ultrastructural, and in situ hybridization study on enlarged cells in the grouper *Epinephelus* hybrids infected with grouper iridovirus in Taiwan (TGIV). *Diseases of Aquatic Organisms*, **58**, 127-142.
- CHEN, X.H., LIN, K.B. & WANG, X.W. (2003). Outbreaks of an iridovirus disease in maricultured large yellow croaker, *Larimichthys crocea* (Richardson), in China. *Journal of Fish Diseases*, **26**, 615-619.
- CHINCHAR, V.R., HICK, P., INCE, I.A., JANCOVICH, J.K., MARSCHANG, R., QIN, Q., SUBRAMANIAM, K., WALTZEK, T.B., WHITTINGTON, R., WILLIAMS, T. & ZHANG, Q. (2017). ICTV Report Consortium ICTV Virus Taxonomy Profile: *Iridoviridae*. *Journal of General Virology*, **98**, 890-891.
- CHINCHAR, V.G., HICK, P.H., HUANG, J., INCE, I.A., JANCOVICH, J.K., MARSCHANG, R., QIN, Q., SUBRAMANIAM, K., WALTZEK, T.B., WHITTINGTON, R., WILLIAMS, T. & ZHANG, Q. (2020) ICTV Virus Taxonomy Profile: *Iridoviridae*, *Journal of General Virology*, **98**, 890-891.
- DO, J.W., CHA, S.J., KIM, J.S., AN, E.J., LEE, N.S., CHOI, H.J., LEE, C.H., PARK, M.S., KIM, J.W., KIM, Y.C. & PARK, J.W. (2005). Phylogenetic analysis of the major capsid protein gene of iridovirus isolates from cultured flounders *Paralichthys olivaceus* in Korea. *Diseases of Aquatic Organisms*, **64**, 193-200.
- DONG, H.T., JITRAKORN, S., KAYANSAMRUJ, P., PIRARATE, N., RODKHUM, C., RATTANAROJPONG, T., SENAPIN, S., SAKSMERPRONG, V. (2017). Infectious spleen and kidney necrosis disease (ISKND) outbreaks in farmed barramundi (*Lates calcarifer*) in Vietnam. *Fish & Shellfish Immunology*, **68**, 65-73.
- FIGUEIREDO, H.C.P., TAVARES, G.C., DORELLA, F.A., ROSA, J.C.C., MARCELINO, S.A.C., PIEREZAN, F. & PEREIRA, F.L. (2022). First report of infectious spleen and kidney necrosis virus in Nile tilapia in Brazil. *Transboundary and Emerging Diseases*, 69(5), 3008-3015.
- FUSIANTO, C.K., BECKER, J.A., SUBRAMANIAM, K., WHITTINGTON, R.J., KODA, S.A., WALTZEK, T.B., MURWANTOKO & HICK, P.M. (2023). Genotypic characterization of Infectious spleen and kidney necrosis virus (ISKNV) in Southeast Asian aquaculture. *Transboundary and Emerging Diseases*, **3**, 1-16.
- GIRISHA, S.K., PUNEETH, T.G., NITHIN, M.S., NAVEEN KUMAR, B.T., AJAY, S.K., VINAY, T.N. & RAMESH, K.S. (2020). Red sea bream iridovirus disease (RSIVD) outbreak in Asian seabass (*Lates calcarifer*) cultured in open estuarine cages along the west coast of India: first report. *Aquaculture*, **520**, 734712.
- GO, J., WALTZEK, T.B., SUBRAMANIAM, K., YUN, S.C., GROFF, J.M., ANDERSON, I.G., CHONG, R., SHIRLEY, I., SCHUH, J.C.L., HANDLINGER, J.H., TWEEDIE, A. & WHITTINGTON, R.J. (2016). Complete genome analysis of the mandarin fish infectious spleen and kidney necrosis iridovirus. *Virology*, **291**, 126-139.
- GO, J. & WHITTINGTON, R. (2006). Experimental transmission and virulence of a megalocytivirus (Family Iridoviridae) of dwarf gourami (*Colisa lalia*) from Asia in Murray cod (*Maccullochella peelii peelii*) in Australia. *Aquaculture*, **258**, 140-149.
- GO, J. & WHITTINGTON, R.J. (2019). Experimental transmission of Infectious Spleen and Kidney Necrosis Virus (ISKNV) from freshwater ornamental fish to silver sweep *Scorpius lineolata*, an Australian marine fish. *Diseases of Aquatic Organisms*, **137**(1), 1-21.

-
- HE, J.G., DENG, M., WENG, S.P., LI, Z., ZHOU, S.Y., LONG, Q.X., WANG, X.Z. & CHAN, S.M. (2001). Complete genome analysis of the mandarin fish infectious spleen and kidney necrosis iridovirus. *Virology*, **291**, 126–139, doi: 10.1006/viro.2001.1208.
- HE, J.G., ZENG, K., WENG, S.P. & CHAN, S.M. (2000). Systemic disease caused by an iridovirus-like agent in cultured mandarin fish *Siniperca chuatsi* (Basillewsky), in China, *Journal of Fish Diseases*, **23**, 219–222.
- HE, J.G., ZENG, K., WENG, S.P. & CHAN, S.M. (2002). Experimental transmission, pathogenicity and physical-chemical properties of infectious spleen and kidney necrosis virus (ISKNV), *Aquaculture*, **204**, 11–24. doi: 10.1016/S0044-8486(01)00639-1.
- HICK, P.M., BECKER, J.A. & WHITTINGTON, R.J. (2016). Iridoviruses of fish In: *Aquaculture Virology* (F. Kibenge and M. Godoy, eds), Elsevier, London, UK, 127–152.
- HUANG, S.M., TU, C., TSENG, C.H., HUANG, C.C., CHOU, C.C., KUO, H.C. & CHANG, S.K. (2011). Genetic analysis of fish iridoviruses isolated in Taiwan during 2001–2009. *Archives of Virology*, **156**, 1505–1515.
- HUANG, Y., CAI, S., JIAN, J., LUI, G., & XU, L. (2020). Co-infection of infectious spleen and kidney necrosis virus and *Francisella* sp. in farmed pearl gentian grouper (♀*Epinephelus fuscoguttatus* × ♂*E. lanceolatus*) in China — A case report. *Aquaculture*, **526**, 735409.
- INOUE, K., YAMANO, K., MAENO, Y., NAKAJIMA, K., MATSUOKA, M., WADA, Y. & SORIMACHI, M. (1992). Iridovirus infection of cultured red sea bream, *Pagrus major*, *Fish Pathology*, **27**, 19–27.
- JEONG, J.B., KIM, H.Y., JUN, L.J., LYU, J.H., PARK, N.G., KIM, J.K. & JEONG, H.D. (2008a). Outbreaks and risks of infectious spleen and kidney necrosis virus diseases in freshwater ornamental fishes, *Diseases of Aquatic Organisms*, **78**, 209–215. doi: 10.3354/dao01879.
- JEONG, J., CHO, H., JUN, L., HONG, S., CHUNG, J. & JEONG, H. (2008b). Transmission of Iridovirus from freshwater ornamental fish (pearl gourami) to marine (rock bream). *Diseases of Aquatic Organisms*, **82(1)**, 27–36.
- JOHAN, C.A.C. & ZAINATHAN, S.C. (2020). Megalocytiviruses in ornamental fish: A review. *Veterinary World*, **13**, 2565–2577.
- JUNG, S.J., OH, M.J.. (2000). Iridovirus-like infection associated with high mortalities of striped beakperch, *Oplegnathus fasciatus* (Temminck et Schlegel), in southern coastal areas of the Korean peninsula, *Journal of Fish Diseases*, **23**, 223–226. doi: 10.1046/j.1365-2761.2000.00212.x.
- KERDDEE, P., DINH-HUNG, N., THANH DONG, H., HIRONO, I., SOONTARA, C., AREECHON, N., SRISAPOOME, P. & KAYANSAMRUJ, P. (2021). Molecular evidence for homologous strains of infectious spleen and kidney necrosis virus (ISKNV) genotype I infecting inland freshwater cultured Asian sea bass (*Lates calcarifer*) in Thailand. *Archives of Virology*, **166**, 3061–3074.
- KIM, K.H., CHOI, K.M., KANG, G., WOO, W.S., SOHN, M.Y., SON, H.J., YUN, D., KIM, D.H. & PARK, C.I. (2022). Development and Validation of a Quantitative Polymerase Chain Reaction Assay for the Detection of Red Sea Bream Iridovirus. *Fishes*, **7**, 236. <https://doi.org/10.3390/fishes7050236>
- KODA, S.A., SUBRAMANIAM, K., HICK, P.M., HALL, E., WALTZEK, T.B. & BECKER, J.A. (2023). Partial validation of a TaqMan quantitative polymerase chain reaction for the detection of the three genotypes of *Infectious spleen and kidney necrosis virus*. *PLoS ONE*, **18(2)**:e0281292.
- KODA, S.A., SUBRAMANIAM, K., POWDER, D.B., YANONG, R.P. & WALTZEK, T.B. (2019). Phylogenomic characterization of red seabream iridovirus from Florida pompano *Trachinotus carolinus* maricultured in the Caribbean Sea. *Archives of Virology*, **164**, 1209–1212.
- KURITA, J., NAKAJIMA, K., (2012), Megalocytiviruses, *Viruses*, **4(4)**, 521–538.
- KAWATO, Y., CUMMINS, D.M., VALDETER, S., MOHR, P., ITO, T., MIZUNO, K., KAWAKAMI, H., WILLIAMS, L.M., CRANE, M.S.T.J. & MOODY, N.J.G. (2021). Development of New Real-time PCR Assays for Detecting *Megalocytivirus* Across Multiple Genotypes. *Fish Pathology*, **56 (4)**, 177–186. doi.org/10.3147/jsfp.56.177
-

LAJIMIN, S., RAZAK, A.A., DENIL, D. J., RANSANGAN, J., ABDUL WAHID, M.E. & SADE, A. (2015). First detection of Megalocytivirus (*Iridoviridae*) in trash fish used for aquaculture feed in Sabah, Malaysia. *Int. J. of Aquatic Science*, 6(1): 54-66.

NAKAJIMA, K., MAENO, Y., HONDA, A., YOKOYAMA, K., TOORIYAMA, T. & MANABE, S. (1999). Effectiveness of a vaccine against red sea bream iridoviral disease in a field trial test, *Diseases of Aquatic Organisms*, **36**(1), 73-5.

NI, S.Z., WANG, Y.J., HU, J. B., SHI, J., XU, Y., ZHOU, S.M., LI, J.J., HONG, B.H. & QIAN, D. (2021). Identification, histopathology, and phylogenetic analysis of an iridovirus from cultivated silver pomfret in Zhejiang Province, East China. *Aquaculture*, **530**, 735619.

RAMÍREZ-PAREDES, J.G., PALEY, R.K., HUNT, W., FEIST, S.W., STONE, D.M., FIELD, T.R., HAYDON, D.J., ZIDDAH, P.A., NKANSA, M., GUILDER, J., GRAY, J., DUODU, S., PECKU, E.K., AWUNI, J.A., WALLIS, T.S. & VERNER-JEFFREYS, D.W. (2021). First detection of infectious spleen and kidney necrosis virus (ISKNV) associated with massive mortalities in farmed tilapia in Africa. *Transboundary Emerging Diseases*, **68**, 1550–1563. <https://doi.org/10.1111/tbed.13825>

RIMMER A.E., BECKER J.A., TWEEDIE A., LINTERMANS M., LANDOS M. & WHITTINGTON R.J. (2015). Detection of dwarf gourami iridovirus (Infectious spleen and kidney necrosis virus) in populations of ornamental fish prior to and after importation into Australia, with the first evidence of infection in domestically farmed Platy (*Xiphophorus maculatus*). *Preventive Veterinary Medicine*, **122**, 181-194.

SHI, C.Y., WANG, Y.G., YANG, S.L., HUANG, J. & WANG, Q.Y. (2004). The first report of an iridovirus-like agent infection in farmed turbot, *Scophthalmus maximus*, in China. *Aquaculture*, **236**, 11-15. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2003.11.007>

SONG, J-Y., KITAMURA, S-I., JUNG, S-J., MIYADAI, T., TANAKA, S., FUKUDA, Y., KIM, S-R. & OH, M-J. (2008). Genetic variation and geographic distribution of megalocytiviruses. *Journal of Microbiology*, **46**, 29-33.

SUBRAMANIAM, K., SHARIFF, M., OMAR, A.R., HAIR-BEJO, M. & ONG, B.L. (2014). Detection and molecular characterisation of infectious spleen and kidney necrosis virus from major ornamental fish breeding states in peninsular Malaysia, *Journal of Fish Diseases*, **37**, 609–618, <https://doi.org/10.1111/jfd.12152>

SUBRAMANIAM, K., GOTESMAN, M., SMITH, C.E., STECKLER, N.K., KELLEY, K.L., GROFF, J.M. & WALTZEK, T.B. (2016). *Megalocytivirus* infection in cultured Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Diseases of Aquatic Organisms*, **119**, 253-258. <https://doi.org/10.3354/dao02985>

SUMITHRA, T.G., KRUPESHA SHARMA, S.R., NEELIMA, L., DHANUTHA, N.R., JOSHY, A., ANUSREE, V.N., GAYATHRI, S., RAGHU, R.K., PRAVEEN, N.D., THOMAS, S. & RAJESH, K.M. (2022). Red sea bream iridovirus infection in cage farmed Asian sea bass (*Lates calcarifer*): Insights into the pathology, epizootiology, and genetic diversity. *Aquaculture*, **548**, 737571. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737571>

SWAMINATHAN, T.R., JOHNY, T.K., NITHIANANTHAM, S.R., SUDHAGAR, A., PRADHAN, P.K., SULUMANE RAMACHANDRA, K.S., NAIR, R.R., & SOOD, N. (2022). A natural outbreak of infectious spleen and kidney necrosis virus (ISKNV) threatens wild pearlspot, *Etroplus suratensis* in Peechi Dam in the Western Ghats biodiversity hotspot, India. *Transboundary and Emerging Diseases*, **69**(5), 1595-1605. <https://doi.org/10.1111/tbed.14494>

TSAI, J.M., HUANG, S.L. & YANG, C.D. (2020). PCR Detection and Phylogenetic Analysis of *Megalocytivirus* Isolates in Farmed Giant Sea Perch *Lates calcarifer* in Southern Taiwan. *Viruses*, **12**(6), 681. <https://doi.org/10.3390/v12060681>

WANG, Y.Q., LÜ, L., WENG, S.P., HUANG, J.N., CHAN, S.M. & HE, J.G. (2007). Molecular epidemiology and phylogenetic analysis of a marine fish infectious spleen and kidney necrosis viruslike (ISKNV-like) virus. *Archives of Virology*, **152**, 763–773.

CHAPITRE 1.3.

MALADIES LISTÉES PAR L'OMSA

[...]

Article 1.3.1.

Les *maladies* suivantes de poissons, sont des *maladies listées* :

- 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 RHPO de ce virus
- Infection par l'alphavirus des salmonidés
- Infection par l'herpèsvirus de la carpe koï
- ~~Infection par l'iridovirus de la daurade japonaise~~
- Infection par le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique
- Infection par le virus de la nécrose hématopoïétique infectieuse
- Infection par le tous les génogroupes de l'espèce virus de la nécrose infectieuse rénale et splénique
- Infection par le virus de la septicémie hémorragique virale
- Infection par le virus de la virémie printanière de la carpe
- Infection par le virus du tilapia lacustre.

[...]

Normes révisées relatives à la compartimentation dans le *Code sanitaire pour les animaux aquatiques* de l'OMSA

Document de travail soumis aux commentaires des Membres, élaboré par la
Commission des normes sanitaires pour les animaux aquatiques de l'OMSA

Septembre 2023

Résumé

Le présent document de travail permet d'engager les Membres de l'OMSA sur les questions relatives à la révision du chapitre 4.3. Application de la compartimentation, du *Code aquatique*. La compartimentation permet d'échanger des marchandises dérivées d'animaux aquatiques indemnes de maladies en provenance de zones ou de pays qui ne sont pas déclarés indemnes des maladies en question. Bien que la compartimentation soit particulièrement importante pour les maladies des animaux aquatiques, parce que l'éradication n'est souvent pas possible, elle n'a pas été adoptée et reconnue à grande échelle par les Membres. Enfin, la révision du chapitre 4.3. vise à clarifier les exigences relatives aux compartiments, à améliorer leur acceptation et à rendre plus attrayants les investissements privés dans ce domaine.

Le présent document propose une série d'objectifs liés à l'application des compartiments (section 4), des principes de haut niveau pour orienter leur application (section 6) et la notion de compartiments dépendants et indépendants (section 5). L'ensemble de ces propositions vise à clarifier la mise en place de compartiments pour une gestion efficace du risque, tout en élargissant l'éventail des situations dans lesquelles ils peuvent être appliqués.

La section 7 analyse les articles existants du chapitre 4.3. et formule des recommandations pour la révision des articles existants et l'élaboration de nouveaux articles conformément au cadre de principe proposé dans la section 6. Le projet de structure des articles pour le chapitre révisé 4.3. est inclus dans l'[annexe 2](#).

Des questions sont incluses tout au long du document afin d'inciter les Membres à répondre à des questions particulièrement importantes pour orienter la révision du chapitre. Les Membres sont invités à faire part de leurs commentaires en réponse à ces questions et à d'autres questions relatives à la révision du chapitre 4.3. Les questions sont rassemblées dans l'[annexe 3](#).

Après examen des commentaires formulés par les Membres, la Commission transmettra à nouveau le document de travail à ces derniers, accompagné d'un résumé de leurs réponses et des points de vue ayant fait l'objet d'un consensus. Le document de travail et les réponses des Membres définiront l'orientation de la révision du chapitre 4.3.

1. Introduction

La compartimentation permet d'échanger des marchandises dérivées d'animaux aquatiques ayant un statut sanitaire indemne de maladies spécifiques, en provenance de zones ou de pays qui ne sont pas déclarés indemnes des maladies en question. L'application de la compartimentation au regard des maladies des animaux aquatiques est considérée comme un mécanisme important pour renforcer la sécurité des échanges commerciaux. En effet, l'éradication des maladies des animaux aquatiques n'est souvent pas possible, ce qui limite les approches alternatives permettant d'échanger des marchandises indemnes de maladies à partir des secteurs où les maladies listées sont présentes.

Le chapitre 4.3. du *Code aquatique* énonce des recommandations concernant l'application de la compartimentation. Malgré le temps écoulé depuis la première adoption du chapitre en 2010 (et sa dernière mise à jour en 2016), la notion de compartimentation pour les maladies des animaux aquatiques n'a pas été largement adoptée. Il y a probablement plusieurs raisons à cela, mais il est clair que l'un des facteurs clés

est la différence de compréhension de cette notion de compartimentation parmi les utilisateurs du chapitre 4.3.

Le présent document a pour but de mobiliser les Membres de l'OMSA sur les questions relatives à la révision du chapitre 4.3. de sorte que le chapitre révisé fournisse des orientations cohérentes et claires sur la compartimentation. Ce document de travail a été élaboré sur la base des réponses des Membres à un bref questionnaire figurant dans le rapport de la réunion de septembre 2022 de la Commission. Une synthèse des réponses des Membres au questionnaire figure à l'**annexe 1**.

Ce document vise également à rechercher un consensus sur des questions conceptuelles clés relatives à la compartimentation. Par exemple, certains Membres reconnaissent deux types de compartiments : ceux qui dépendent du statut sanitaire des eaux environnantes et ceux qui n'en dépendent pas. Le potentiel de chaque type de compartiment à s'intégrer dans différents types de commerce (par exemple, le commerce pour la consommation humaine par rapport au commerce pour l'aquaculture) sera étudié.

Étant donné que la mise en œuvre de compartiments peut impliquer un risque en termes d'investissement (c'est-à-dire qu'un compartiment doit être établi sans certitude que l'accès au marché souhaité sera accordé), il est impératif que l'Autorité compétente, les Services chargés de la santé des animaux aquatiques et les exploitants d'établissements d'aquaculture aient une compréhension commune des exigences relatives à l'établissement d'un compartiment indemne, conformément aux normes du *Code aquatique*.

2. Objectifs du document

L'objectif principal de ce document est d'impliquer les Membres de l'OMSA dans les questions relatives à la révision du chapitre 4.3. de sorte que le chapitre révisé fournisse des orientations cohérentes et claires sur la compartimentation en vue de faciliter le commerce de marchandises en provenance de compartiments déclarés indemnes des maladies listées par l'OMSA. Enfin, la révision du Chapitre 4.3. vise à améliorer l'acceptation de la compartimentation et à rendre les investissements privés dans ce domaine plus attrayants.

Par l'étude des questions relatives à la révision du Chapitre 4.3., ce document de travail vise à :

- Analyser la compréhension conceptuelle de ce qu'est un compartiment ainsi que son objectif ;
- Tirer parti de l'expérience des Membres en matière de compartimentation pour orienter la révision des normes afin de maximiser les avantages communs tout en favorisant la sécurité des échanges ;
- Obtenir un consensus sur les questions conceptuelles clés avant d'entamer la rédaction du chapitre révisé.

Plusieurs principes sont proposés pour atteindre les objectifs décrits ci-dessus, notamment le fait que les dispositions du chapitre révisé doivent inclure les éléments suivants :

- A. inspirer la confiance des Membres dans la fiabilité des auto-déclarations de statut indemne des compartiments, conformément à toute approche proposée dans le *Code aquatique* ;
- B. présenter la diversité des objectifs auxquels la compartimentation peut être appliquée ;
- C. fournir une gestion du risque adaptée aux différentes combinaisons de systèmes de production/produits/filières ;
- D. établir des normes aussi claires que possible afin de favoriser une compréhension commune des exigences ;
- E. s'intégrer aux normes existantes dans d'autres chapitres du *Code aquatique*.

Q1. Les principes énoncés ci-dessus (points A à E) relatifs à la révision du chapitre 4.3. Compartimentation sont-ils appropriés ? Si ce n'est pas le cas, veuillez proposer des alternatives.

Réponse :

3. Réponses des Membres au questionnaire de 2022

Ce document de travail a été élaboré sur la base des réponses des Membres à un bref questionnaire figurant dans le rapport de la réunion de septembre 2022 de la Commission. Le questionnaire invitait les Membres à répondre selon leurs expériences en matière d'application de compartiments, y compris l'objectif visé par les compartiments, les expériences positives, l'acceptation par les partenaires commerciaux et les contraintes. Un résumé des réponses des Membres au questionnaire figure à l'[annexe 1](#).

4. Objectifs de la compartimentation

La définition actuelle d'un compartiment dans le glossaire du *Code aquatique* restreint l'objectif d'un compartiment au seul commerce international (voir les définitions dans la section 8 du présent document). Toutefois, les compartiments indemnes sont établis pour garantir l'absence de maladie pour une série de types de marchandises, de circuits commerciaux et d'utilisations finales prévues. Ces facteurs ont des implications pour la gestion du risque de maladie.

Les marchandises échangées à partir d'un compartiment indemne peuvent inclure des animaux aquatiques vivants (gamètes, œufs fécondés, juvéniles ou adultes) ou des produits d'animaux aquatiques (allant d'animaux entiers abattus à un certain nombre de produits transformés constitués de parties d'animaux).

Il existe de nombreuses utilisations finales potentielles pour les marchandises échangées depuis un compartiment. Voici quelques-unes des principales utilisations finales qui pourraient être envisagées :

- Consommation humaine : directement sous forme d'animaux aquatiques vivants ou de produits ; ou indirectement après le grossissement de juvéniles dans un autre établissement d'aquaculture.
- Élevage : utilisation comme géniteurs dans des éclosiers ou des centres d'élevage pour produire des animaux destinés au grossissement ; ou pour l'établissement d'une nouvelle espèce d'aquaculture ou de lignées d'espèces génétiquement sélectionnées sur un territoire.
- Renforcement des populations : relâchement dans des systèmes ouverts afin d'améliorer ou de reconstituer les populations sauvages.
- Fins ornementales : pour la vente dans le commerce des animaux de compagnie ou pour l'exposition dans les zoos ou les aquariums.
- Recherche : fourniture d'animaux aquatiques à des fins scientifiques.

Les filières commerciales à partir d'un compartiment peuvent inclure le commerce intérieur ou international (il convient de noter que la définition actuelle dans le *Code aquatique* se limite au commerce international). Dans la plupart des cas, on peut s'attendre à ce que le commerce depuis un compartiment indemne se fasse d'une zone ou d'un pays non déclaré indemne vers un pays, une zone ou un compartiment déclaré indemne. La compartimentation peut également être appliquée pour assurer une séparation épidémiologique des populations d'animaux aquatiques sensibles au sein d'un pays ou d'une zone indemne, afin de protéger les animaux aquatiques de valeur (par exemple, les lignées sélectionnées) en cas d'apparition d'une maladie dans la zone ou le pays précédemment indemne.

Q2. Ces objectifs recouvrent-ils les principales raisons d'établir un compartiment, définies par type de produit, filière et utilisation finale ? Si ce n'est pas le cas, veuillez proposer des alternatives.

Réponse :

5. Compartiments indépendants ou dépendants

Les Membres ont noté qu'il existe deux grands types de compartiments reconnus pour le commerce international et classés en fonction de leur degré de séparation épidémiologique avec leur milieu environnant : les compartiments indépendants et les compartiments dépendants (voir l'[annexe 1](#)). Le chapitre 4.3. du *Code aquatique* ne différencie pas actuellement les types de compartiments en fonction de leur degré de séparation épidémiologique.

Les compartiments indépendants sont complètement séparés, d'un point de vue épidémiologique, de leur milieu environnant. Ces compartiments font l'objet de mesures physiques et de gestion de haut niveau afin d'assurer efficacement la sécurité biologique. Les compartiments indépendants sont des systèmes fermés qui disposent d'un mécanisme de contrôle de toutes les voies de transmission conduisant au compartiment. Un compartiment indépendant peut utiliser des sources d'eau indemnes de maladies (par exemple, de l'eau de forage) ou appliquer des procédures de désinfection pour empêcher l'entrée d'agents pathogènes suscitant des préoccupations. Les compartiments indépendants peuvent être utilisés pour les animaux aquatiques de grande valeur (par exemple, les lignées génétiquement améliorées ou les géniteurs) et peuvent convenir à des utilisations finales telles que l'aquaculture et les programmes de repeuplement.

Les compartiments dépendants ne disposent pas d'une séparation complète de leur milieu environnant d'un point de vue épidémiologique et le maintien de leur statut sanitaire dépend de l'absence de maladies jugées préoccupantes dans les eaux naturelles environnantes. Les compartiments dépendants sont des systèmes semi-fermés qui peuvent disposer d'un mécanisme de contrôle de toutes les voies de transmission, mais qui peuvent ne pas utiliser de sources d'eau stérilisée (par exemple, l'aquaculture en bassin ou en réservoir terrestre à pompe). Un compartiment dépendant devra être établi en tenant compte des facteurs épidémiologiques afin de maintenir l'indépendance épidémiologique du compartiment (par exemple, la situation géographique, les conditions environnementales, la proximité des populations d'espèces sensibles, la présence, l'abondance et le comportement des populations d'espèces sensibles, le statut sanitaire de toutes les populations d'espèces sensibles, les conditions hydrologiques dans les étendues d'eau contiguës). On peut considérer que les compartiments dépendants offrent un degré d'assurance moins élevé que les compartiments indépendants en ce qui concerne l'absence de maladie ; toutefois, une surveillance ciblée accrue peut renforcer cette assurance. Les compartiments dépendants peuvent être mieux adaptés à certains types de produits et à certaines utilisations finales, par exemple un produit transformé destiné à la consommation humaine.

Q3. Êtes-vous favorable à l'inclusion des notions de compartiments indépendants et dépendants dans le Chapitre 4.3. révisé ? Quelles en sont les raisons ?

Réponse :

Q4. Un compartiment dépendant doit-il permettre de fournir des animaux aquatiques vivants pour l'aquaculture ou le repeuplement ? Dans l'affirmative, dans quelles conditions ce type de commerce devrait-il être autorisé (par exemple, séparation épidémiologique, surveillance ciblée) ?

Réponse :

6. Principes généraux de la compartimentation

Les principes suivants sont proposés à titre d'orientation de haut niveau pour le développement des compartiments et pour encadrer la structure des articles du chapitre révisé 4.3.

1. Un compartiment indemne de maladie représente une séparation épidémiologique fonctionnelle entre la population d'animaux aquatiques qu'il abrite et d'autres sources d'infection.
2. L'objectif du compartiment doit être clairement défini (par exemple, les espèces et les marchandises produites, la ou les maladies pour lesquelles le statut indemne sera revendiqué, les utilisations finales des marchandises), car cela entraînera des répercussions sur la conception des mesures de gestion du risque.

3. Les compartiments peuvent être divisés en deux catégories principales : les compartiments qui dépendent du statut sanitaire du milieu environnant et ceux qui en sont indépendants.
4. Un compartiment doit disposer d'un plan de sécurité biologique efficace conformément au chapitre 4.1. qui soit appliqué de manière uniforme à tous les éléments du compartiment.
5. Les mesures de surveillance visant à établir que le compartiment est indemne et les mesures visant à maintenir le statut indemne du compartiment doivent être clairement décrites conformément au chapitre 1.4., y compris les éléments de surveillance interne et externe, le cas échéant.
6. Des services d'analyse en laboratoire fiables sont nécessaires pour étayer les épreuves diagnostiques de surveillance. Les services fournis en laboratoire doivent être indépendants de l'exploitant du compartiment et disposer d'une accréditation en matière de gestion de la qualité.
7. Les systèmes de traçabilité doivent garantir la provenance des marchandises du compartiment indemne.
8. La tenue de registres doit permettre l'application transparente et continue de toutes les mesures sur la base desquelles le compartiment s'est vu accorder le statut indemne de maladie.
9. Les responsabilités officielles en matière de surveillance doivent être clairement documentées, y compris l'enregistrement ou l'approbation par l'Autorité compétente, un calendrier d'audit et les instruments réglementaires sous-jacents.
10. Des mesures de notification et d'intervention doivent être mises en place en cas de détection de la maladie pour laquelle le compartiment a été déclaré indemne, ou d'autres maladies susceptibles d'affecter les échanges commerciaux depuis le compartiment.

Q5. Les principes généraux de la compartimentation décrits ci-dessus fournissent-ils un cadre de haut niveau approprié pour l'établissement et la reconnaissance d'un compartiment ? Veuillez suggérer des modifications ou des principes supplémentaires à prendre en compte.

Réponse :

7. Analyse du texte actuel adopté du Chapitre 4.3.

7.1. Article 4.3.1. Introduction et objectifs

Situation actuelle et analyse

L'article 4.3.1. présente une description générale des compartiments et les compare aux déclarations de statut indemne au niveau d'un pays ou d'une zone. Le texte actuel décrit les compartiments par opposition, par exemple, aux zones, plutôt que de décrire plus directement ce qu'est un compartiment. Le texte actuel manque de clarté sur certaines notions de base liées aux compartiments, par exemple leurs objectifs, avantages et rôles en matière d'établissement et de maintien. L'article est intitulé « Introduction et objectifs », mais il n'énonce pas clairement les objectifs du chapitre.

Approche recommandée

Il est important que l'article 4.3.1. définisse clairement ce qu'est un compartiment. Ceci est primordial pour assurer une compréhension commune et ainsi éviter des interprétations conceptuelles différentes, ce qui a été décrit comme représentant un obstacle (voir l'[annexe 1](#)).

Un texte pourrait être ajouté à cet article afin de formuler un objectif clair du chapitre, par exemple, pour décrire les exigences relatives à l'établissement d'un compartiment indemne et au respect des exigences relatives à l'auto-déclaration de statut indemne du compartiment.

Il est proposé que l'article 4.3.1. soit révisé pour décrire plus directement la notion de compartiment, plutôt que par comparaison avec les zones. Le texte devrait également présenter les objectifs de l'établissement de compartiments (par exemple, comme indiqué par les Membres dans la section 3 ci-dessus), les avantages pour faciliter le commerce et la gestion des maladies, et le rôle du secteur privé et des autorités compétentes en général.

Il est également proposé qu'un nouvel article 4.3.X. soit inclus dans le chapitre révisé afin de décrire clairement les différents objectifs de l'établissement de compartiments, comme l'ont indiqué les Membres dans leurs réponses à l'enquête (voir l'[annexe 1](#)). Il s'agit notamment de faciliter les échanges d'animaux et de produits dérivés d'animaux indemnes de maladies (sans se limiter au commerce international), de contribuer à la gestion des maladies et de protéger et préserver les animaux aquatiques de valeur (par exemple, les lignées sélectionnées) en cas d'apparition d'un foyer de maladie dans un pays ou une zone par ailleurs indemne.

7.2. Article 4.3.2. Principes appliqués pour la définition d'un compartiment

Situation actuelle et analyse

L'article 4.3.2. indique que les éléments constitutifs et les liens réciproques d'un compartiment doivent être décrits et que les facteurs épidémiologiques doivent être définis. Ce texte ne formule pas de manière adéquate un ensemble de principes permettant de définir un compartiment.

Approche recommandée

Il est proposé de réviser cette section afin d'énoncer clairement les principes de haut niveau qui doivent être respectés pour qu'un compartiment soit établi et pour qu'une auto-déclaration de compartiment indemne soit faite. Ces principes seront ensuite harmonisés avec la structure de l'article du chapitre, qui fournira des détails supplémentaires sur la manière de satisfaire aux exigences de chaque principe. Cette approche a été utilisée au chapitre 4.1. Sécurité biologique dans les établissements d'aquaculture (voir article 4.1.2.) et au chapitre 4.4. Désinfection des établissements d'aquaculture et de leur équipement (voir article 4.4.2).

Les principes susceptibles d'être inclus dans cet article pourraient refléter ceux de la section 3 ci-dessus.

Q6. Êtes-vous favorable à la révision de l'article 4.3.2. en vue d'y inclure les principes énoncés à la section 6 ci-dessus (tels que modifiés sur la base des commentaires formulés par les Membres) ? Existe-t-il d'autres questions ou exigences clés qui devraient être abordées dans le cadre d'un ensemble de principes ?

Réponse :

7.3. Article 4.3.3. Séparation du compartiment par rapport aux sources potentielles d'infection

Situation actuelle et analyse

L'article 4.3.3. est un article long qui couvre quatre sujets principaux sous forme de sous-points :

1. Paramètres physiques ou spatiaux ayant une incidence sur le statut du compartiment en matière de sécurité biologique
2. Facteurs liés aux infrastructures
3. Plan de sécurité biologique
4. Système de traçabilité

Une grande partie de cet article traite de la planification et des mesures de sécurité biologique qui sont abordées plus en détail au chapitre 4.1. Sécurité biologique dans les établissements d'aquaculture.

Approche recommandée

Il est proposé que l'article 4.3.3. soit révisé pour se concentrer sur la description d'un compartiment et sur la nature de son indépendance d'un point de vue épidémiologique. Il s'agit notamment de décrire les notions de compartiments dépendants et indépendants (voir section 5 ci-dessus).

Il est proposé que les exigences en matière de plan de sécurité biologique et de traçabilité fassent l'objet d'articles distincts, le cas échéant, afin de se conformer aux principes proposés pour l'article 4.3.2.

7.4. Article 4.3.4. Documentation

Situation actuelle et analyse

L'article 4.3.4. fournit des orientations sur les documents à conserver pour prouver que les exigences relatives à un compartiment sont respectées. Une grande partie de cet article est consacrée à la tenue de registres relatifs aux questions abordées dans un plan de sécurité biologique ou aux exigences en matière de surveillance. L'article indique que les délais de conservation des documents peuvent varier.

Approche recommandée

Concernant les éléments de cet article relatifs à la documentation d'un plan de sécurité biologique, il est proposé qu'un renvoi aux articles pertinents du chapitre 4.1. soit inclus.

Concernant les éléments de cet article relatifs à la surveillance, il est proposé que ce texte soit révisé et remplacé par des exigences plus spécifiques concernant les preuves à fournir pour satisfaire aux exigences de surveillance afin de faire une auto-déclaration de statut indemne du compartiment et pour maintenir ce statut. Cela comprendrait un renvoi à l'article 4.3.5. (tel que révisé, voir ci-dessous) et à tous les articles pertinents du chapitre 1.4.

Il est proposé de fournir des orientations sur les facteurs permettant de déterminer les périodes durant lesquelles les registres doivent être conservés. Elles doivent être liées aux cycles de production, à la surveillance, aux exigences quant au plan de sécurité biologique, à l'audit et aux exigences quant à la traçabilité.

Il est proposé que cet article soit déplacé vers le bas afin de suivre tous les articles pertinents qui comportent une obligation de conservation de registres.

7.5. Article 4.3.5 Surveillance de l'agent pathogène ou de la maladie

Situation actuelle et analyse

Il est recommandé dans cet article que le système de surveillance soit conforme aux exigences du chapitre 1.4. relatif à la surveillance et qu'il suive les recommandations spécifiques en matière de surveillance pour la ou les maladies qui ont motivé la définition de ce compartiment. L'article souligne que la sensibilité du système de surveillance doit être revue s'il existe un risque accru d'exposition à l'agent pathogène qui a motivé la définition du compartiment.

L'article décrit également les exigences en matière de surveillance interne et externe. La surveillance interne est décrite comme un mécanisme permettant à l'Autorité compétente de certifier que les animaux au sein du compartiment sont conformes au statut défini de ce dernier et permettant la détection précoce des maladies. La surveillance externe vise à identifier un changement significatif du niveau d'exposition pour les voies identifiées d'introduction de la maladie dans le compartiment.

Approche recommandée

Il est proposé de réviser cet article afin de l'harmoniser au mieux sur les exigences relatives à l'auto-déclaration de statut indemne du compartiment et sur les exigences relatives au maintien du statut indemne. Ces exigences figurent au chapitre 1.4. et aux chapitres du *Code aquatique* spécifiques aux maladies correspondants.

Les notions de surveillance interne et externe peuvent s'avérer utiles, mais elles ne sont pas mentionnées dans le Chapitre 1.4. ou dans les chapitres spécifiques aux maladies. Il est proposé que ces notions soient examinées et éventuellement appliquées dans le contexte des compartiments dépendants et indépendants. Voir section 5 ci-dessus.

7.6. L'article 4.3.6. Capacités et techniques de diagnostic

Situation actuelle et analyse

Il est recommandé dans cet article que les laboratoires d'analyse soient agréés de façon officielle et que les techniques de diagnostic soient conformes aux exigences du *Manuel aquatique*. Il est également conseillé aux laboratoires d'analyse de mettre en place des procédures de communication des résultats obtenus à l'Autorité compétente.

L'article 4.3.6. fournit des orientations sur les techniques de diagnostic qui sous-tendent la surveillance au sein d'un compartiment et la crédibilité relative au statut indemne du compartiment. Plusieurs facteurs qui influencent la qualité des épreuves de diagnostic ne sont pas mentionnés dans l'article.

Approche recommandée

Il est suggéré que l'article 4.3.6. soit révisé pour tenir compte des facteurs supplémentaires qui contribuent à la fiabilité des épreuves de diagnostic. Ceux-ci incluent notamment l'indépendance du laboratoire d'analyse par rapport aux structures de gestion et de propriété du compartiment et l'obligation pour les laboratoires d'analyse officiellement agréés d'être accrédités selon la norme ISO 17025 ou une norme équivalente.

Les laboratoires d'analyse devraient être tenus de communiquer à l'Autorité compétente les résultats positifs qu'ils obtiennent pour les compartiments déclarés indemnes de maladie aux fins du commerce international. Cela s'avère nécessaire pour satisfaire aux conditions élémentaires de sécurité biologique d'un compartiment, telles que spécifiées à l'article 1.4.6. du chapitre 1.4 du *Code aquatique*.

Q7. Êtes-vous favorable à l'approche recommandée pour la révision de l'article 4.3.6, y compris les exigences en matière d'indépendance, d'accréditation et d'obligation de communication de résultats d'analyse de la part des laboratoires ? Veuillez fournir une justification ou des commentaires supplémentaires.

Réponse :

7.7. Article 4.3.7. Notification et intervention d'urgence

Situation actuelle et analyse

Cet article fournit des orientations sur les actions à prendre en cas de suspicion d'apparition de la maladie pour laquelle le compartiment a été déclaré indemne. Le paragraphe 1 indique qu'en cas de suspicion d'apparition de la maladie, le statut indemne doit être suspendu et les pays importateurs doivent être notifiés conformément au chapitre 1.1. Le libellé de ce paragraphe diffère de celui du chapitre 1.1., qui exige la notification de l'apparition ou de la réapparition, et non de la suspicion.

Le paragraphe 2 indique qu'il convient de procéder à un examen des mesures de sécurité biologique afin de déterminer si elles ont souffert d'une faille et que le statut indemne ne doit être rétabli que lorsque le compartiment a adopté les mesures nécessaires pour rétablir le niveau initial de sécurité biologique et que l'Autorité compétente a approuvé à nouveau le statut du compartiment. Les exigences énoncées dans ce paragraphe diffèrent légèrement de celles du chapitre 1.4. et des chapitres spécifiques aux maladies qui exigent que les mesures élémentaires de sécurité biologique soient réexaminées et modifiées le cas échéant. En outre, aux fins du commerce international, le statut indemne ne peut être recouvré que lorsque les exigences du chapitre 1.4. et des chapitres spécifiques aux maladies correspondants ont été satisfaites.

Le paragraphe 3 indique qu'il convient de prendre en compte le risque de changement de la situation sanitaire dans la zone environnante, de réévaluer le statut du compartiment et de mettre en œuvre des mesures de sécurité biologique complémentaires. Ce paragraphe semble plus pertinent pour les compartiments dépendants ; toutefois, il pourrait être envisagé dans le cadre de l'examen des conditions élémentaires de sécurité biologique. Une mention spécifique des facteurs à examiner pour les compartiments dépendants ou indépendants peut être justifiée.

Approche recommandée

L'article 4.3.7. nécessite une révision pour assurer la cohérence des orientations avec d'autres dispositions du *Code aquatique*, par exemple les exigences relatives à la notification du chapitre 1.1. et les conditions de recouvrement du statut indemne du compartiment spécifiées au chapitre 1.4. et aux chapitres spécifiques aux maladies correspondants. L'article peut également nécessiter des renvois aux nouveaux chapitres en cours d'élaboration pour le Titre 4 du *Code aquatique* sur la préparation aux situations d'urgence et la gestion des foyers.

7.8. Article 4.3.8. Supervision et contrôle d'un compartiment

Situation actuelle et analyse

L'article 4.3.8. exige que l'autorité, l'organisation et l'infrastructure des Services chargés de la santé des animaux aquatiques soient clairement documentées afin d'assurer la crédibilité de l'intégrité du compartiment. L'article renvoie au chapitre 3.1. Qualité des Services chargés de la santé des animaux aquatiques, mais ne limite pas la documentation des Services chargés de la santé des animaux aquatiques aux aspects pertinents en ce qui concerne l'auto-déclaration de statut indemne de compartiment. L'article précise que l'autorité, l'organisation et l'infrastructure des Services chargés de la santé des animaux aquatiques doivent être documentées ; cependant, le Chapitre 3.1. comprend 14 principes fondamentaux de la qualité. L'article pourrait être amélioré en précisant que les Services chargés de la santé des animaux aquatiques pertinents pour l'auto-déclaration de statut indemne doivent être documentés, y compris la manière dont ces Services répondent aux exigences du Chapitre 3.1.

L'article indique également que l'Autorité compétente a le pouvoir final d'approuver ou de suspendre le statut et que l'Autorité compétente doit superviser en permanence le respect de toutes les exigences essentielles au maintien du statut du compartiment. Il s'agit d'un concept fondamental de la supervision d'un compartiment indemne de maladie par l'Autorité compétente. Il pourrait être utile de définir plus clairement le rôle des autorités compétentes et de l'autorité vétérinaire dans l'établissement et l'approbation d'un compartiment indemne de maladie, dans la supervision continue (y compris des Services chargés de la santé des animaux aquatiques pertinents) et dans la communication avec l'OMSA et les partenaires commerciaux, comme spécifié dans les chapitres correspondants du *Code aquatique*.

Approche recommandée

Il est suggéré que l'article 4.3.8. soit scindé en deux articles : l'un sur la qualité des Services chargés de la santé des animaux aquatiques et l'autre sur la supervision et l'autorité. L'article portant sur la qualité des Services chargés de la santé des animaux aquatiques devrait préciser que les Services chargés de la santé des animaux aquatiques pertinents en ce qui concerne l'auto-déclaration de statut indemne

doivent être documentés, y compris la manière dont ils répondent aux exigences du Chapitre 3.1. Le second article devrait clairement définir le rôle des autorités compétentes et de l'Autorité vétérinaire dans l'établissement et l'approbation d'un compartiment indemne de maladie, ainsi que dans la supervision continue.

Q8. Êtes-vous favorable à la proposition de révision de l'article 4.3.8., y compris le fait de scinder ce dernier en deux articles : l'un sur la qualité des Services chargés de la santé des animaux aquatiques et l'autre sur la supervision par l'Autorité compétente ? Veuillez fournir une justification ou des commentaires supplémentaires.

Réponse :

8. Définitions

Statut actuel

Deux termes spécifiques aux compartiments sont inclus dans le glossaire du *Code aquatique* et devront être pris en compte lors de la révision du chapitre 4.3. Compartimentation, à savoir « compartiment » et « compartiment indemne ». Les définitions actuelles de ces termes, telles qu'elles figurent dans l'édition 2023 du *Code aquatique*, sont les suivantes :

COMPARTIMENT désigne un ou plusieurs établissements d'aquaculture partageant un système commun de gestion de la sécurité biologique, qui détiennent une population d'animaux aquatiques caractérisée par un statut zoosanitaire particulier au regard d'une ou plusieurs maladies particulières pour lesquelles les mesures de surveillance et de contrôle sanitaire requises sont appliquées et les conditions élémentaires de sécurité biologique sont remplies aux fins des échanges internationaux. Ces compartiments doivent être clairement documentés par l'autorité compétente ou les autorités compétentes concernées.

COMPARTIMENT INDEMNÉ désigne un compartiment qui remplit les conditions requises au(x) chapitre(s) correspondant(s) du *Code aquatique* pour s'auto-déclarer indemne de la ou des maladies considérées.

De nombreux termes définis supplémentaires sont pertinents pour la révision du chapitre 4.3., par exemple ceux liés à la surveillance et à la sécurité biologique. Nombre de ces termes ont été récemment révisés lors de l'élaboration et de l'adoption du nouveau chapitre 4.1. Sécurité biologique dans les établissements d'aquaculture (adopté en 2021) et de la révision du chapitre 1.4. Surveillance des maladies des animaux aquatiques (adopté en 2022).

Analyse

Les termes spécifiques relatifs aux compartiments devront probablement être révisés afin de s'assurer qu'ils sont adaptés au champ d'application, aux objectifs et aux concepts convenus dans le chapitre révisé. Par exemple, il peut être nécessaire d'aborder les questions suivantes :

- la définition actuelle d'un compartiment restreint l'objectif de ce dernier au commerce international. Cela pourrait s'avérer trop limité si l'on en croit les commentaires des Membres (voir [annexe 1](#)) et la prise en compte des notions énoncées aux sections 5 et 6 ci-dessus.
- il peut être nécessaire de définir des « types » de compartiments qui offrent différents niveaux de gestion du risque en fonction de leur objectif (par exemple, compartiments dépendants et indépendants). Dans leurs réponses au questionnaire (voir [annexe 1](#)), les Membres ont évoqué différents types de compartiments et d'objectifs qu'il pourrait s'avérer utile de prendre en compte dans les définitions révisées ou qui devraient faire l'objet de nouvelles définitions.

9. Autres normes en interaction

Plusieurs chapitres du *Code aquatique* de l'OMSA sont pertinents pour la révision du Chapitre 4.3. Il est important que ces normes soient prises en compte afin que des renvois appropriés soient inclus et que soient évités les doubles emplois ou les orientations contradictoires. Cette section du document identifie les normes clés du *Code aquatique* qui devraient être prises en compte dans la révision du Chapitre 4.3.

Chapitres spécifiques aux maladies

Chaque chapitre du *Code aquatique* consacré à une maladie spécifique fournit des orientations sur les exigences à respecter pour déclarer un compartiment indemne de la maladie en question. Les exigences de ces articles sont cohérentes avec le chapitre 1.4. Surveillance. et renvoient à ce dernier.

En outre, les chapitres spécifiques aux maladies fournissent des recommandations sur la gestion du risque pour les marchandises issues d'animaux aquatiques (d'espèces sensibles à la maladie en question) destinées à différentes utilisations finales, en particulier lorsque la source des produits est un pays, une zone ou un compartiment qui n'a pas été déclaré indemne.

Chapitre 1.4. Surveillance

Le chapitre 1.4. fournit des orientations sur la surveillance requise à mettre en œuvre pour démontrer le statut indemne d'un compartiment. Les dispositions du Chapitre 1.4. relatives à la surveillance requise pour déclarer un compartiment indemne viennent compléter les dispositions des chapitres spécifiques aux maladies.

Chapitre 3.1. Qualité des Services chargés de la santé des animaux aquatiques

Le chapitre 3.1. énonce les principes fondamentaux de nature éthique, organisationnelle, législative, réglementaire et technique qui définissent la qualité des Services chargés de la santé des animaux aquatiques. Les dispositions du Chapitre 3.1. sont importantes pour caractériser les services transparents et indépendants qui sous-tendent la crédibilité du statut indemne de maladie d'un compartiment en vigueur.

Chapitre 4.1. Sécurité biologique dans les établissements d'aquaculture

Le chapitre 4.1. fournit des orientations détaillées sur les exigences relatives à l'élaboration et à la mise en œuvre d'un plan de sécurité biologique. Les dispositions du chapitre 4.1. sont fondamentales pour établir et maintenir le statut indemne d'un compartiment.

10. Discussion

Ce document a pour but d'engager les Membres de l'OMSA sur les questions relatives à la révision du chapitre 4.3. afin que le chapitre révisé fournisse des orientations cohérentes et claires quant à la compartimentation. Des principes sont présentés dans la section 3 pour encadrer le résultat escompté de la révision. Le document de travail a permis d'explorer les questions conceptuelles pertinentes pour la révision du chapitre, d'analyser la structure actuelle du chapitre 4.3. et de solliciter les Membres sur les questions clés importantes pour sa révision.

Un projet de structure d'article pour le chapitre 4.3. révisé est proposé à l'**annexe 2**, sur la base de l'analyse et de la discussion présentées dans le présent document.

Après examen des commentaires formulés par les Membres, la Commission transmettra à nouveau le document de travail à ces derniers, accompagné d'un résumé des réponses des Membres et des points de vue ayant fait l'objet d'un consensus. Le document de travail et les réponses des Membres définiront l'orientation de la révision du chapitre 4.3.

Annexe 1. Synthèse des réponses des Membres au questionnaire 2022

L'Allemagne, l'Australie, le Brésil, le Canada, la Chine, l'Espagne, les États-Unis, l'Irlande, le Japon, la Nouvelle-Zélande, la Slovénie, la Suède, la Suisse, le Royaume-Uni et l'Union européenne ont fait part de leurs commentaires.

Lors de sa réunion de septembre 2022, la Commission a convenu de distribuer un questionnaire aux Membres afin de faciliter la révision du Chapitre 4.3. Application de la compartimentation. Les Membres ayant répondu qu'ils avaient établi ou étaient en train d'établir des compartiments, ont indiqué que ces derniers étaient principalement destinés aux objectifs suivants :

- Commerce intérieur ou international (espèces d'aquaculture et animaux aquatiques ornementaux)
- Soutenir et protéger les éclosiers contre l'introduction de maladies ou mettre en place des activités de lutte contre les maladies en cas d'incursion d'une maladie dans la zone.
- Renforcement des populations d'animaux aquatiques sauvages
- Consommation humaine

Les Membres ont fait part d'expériences positives liées à l'établissement de compartiments, principalement en ce qui concerne les avantages pour le commerce et la lutte contre les maladies, notamment :

- amélioration de l'accès au marché et facilitation des échanges ;
- amélioration globale du statut sanitaire des populations d'animaux aquatiques définies ;
- protection du statut sanitaire en cas d'incursion d'une maladie dans le milieu environnant ;
- durée plus courte pour recouvrer un statut indemne de maladie.

Pour les Membres disposant de compartiments établis, l'acceptation de ces compartiments par les partenaires commerciaux est variable. Lorsque les compartiments n'ont pas été acceptés ou ont été acceptés tardivement par les partenaires commerciaux, c'était en raison de contraintes ou d'obstacles à surmonter, par exemple :

- Les Membres peuvent avoir une compréhension ou une application différente de la compartimentation, ce qui peut avoir une incidence sur l'acceptation des compartiments reconnus par les partenaires commerciaux ;
- L'utilisation de compartiments dépendants peut limiter l'accès potentiel au marché ;
- L'audit des compartiments établis par les partenaires commerciaux a été exigé avant l'acceptation et l'initiation du commerce.

Outre les contraintes et les obstacles liés au commerce, d'autres contraintes ou menaces ont dû être surmontées ou ont empêché la création de compartiments. Ces menaces concernaient principalement l'industrie et l'Autorité compétente :

Industrie

- L'établissement de compartiments est limité ou empêché à cause du type de système d'aquaculture utilisé (systèmes ouverts/semi-ouverts/semi-fermés). Les exigences relatives à l'établissement d'un compartiment peuvent s'avérer irréalisables.
- L'établissement d'aquaculture doit prendre la décision commerciale d'investir l'argent et de produire les efforts nécessaires à l'établissement d'un compartiment en fonction de l'accès potentiel au marché. Le véritable retour sur investissement ne sera connu qu'une fois le compartiment établi.

-
- Une fois le statut indemne établi, l'introduction d'une nouvelle lignée génétique ou de nouveaux animaux vivants peut être limitée en raison d'un changement potentiel du statut sanitaire qui en résulterait.

Autorité compétente

- L'élaboration de paramètres garantissant la séparation du compartiment de la zone environnante et la mise en place de compartiments en fonction du statut sanitaire de la zone nécessitent une supervision par l'Autorité compétente et les ressources correspondantes (humaines et financières).
- Manque potentiel de compréhension de la part de l'Autorité compétente

En particulier en ce qui concerne la révision du Chapitre 4.3. Application de la compartimentation, les Membres ont apporté leur soutien et ont identifié plusieurs lacunes dans le chapitre actuel qui pourrait se voir enrichi de précisions supplémentaires :

- Présenter les cas où la compartimentation s'avère appropriée ;
- Intégrer des renvois au Chapitre 4.1. Sécurité biologique dans les établissements d'aquaculture et les différents types de systèmes de production aquacole où la compartimentation est possible (par exemple, compartiments dépendants et indépendants) ;
- Indiquer la différence entre les normes relatives à l'établissement du statut sanitaire d'un compartiment et les normes relatives au maintien du statut sanitaire et au recouvrement du statut sanitaire après l'incursion d'une maladie.

Annexe 2. Projet de structure des articles pour le Chapitre 4.3. révisé

Numéro d'article	Contenu
4.3.1.	Objectifs et introduction
4.3.2.	Objectifs des compartiments
4.3.3.	Principes appliqués pour l'établissement d'un compartiment
4.3.4.	Compartiments dépendants et indépendants
4.3.5.	Sécurité biologique
4.3.6.	Exigences en matière de surveillance pour revendiquer et maintenir un statut indemne de maladie
4.3.7.	Analyse en laboratoire
4.3.8.	Traçabilité
4.3.9.	Tenue de registres
4.3.10.	Supervision officielle
4.3.11.	Qualité des Services chargés de la santé des animaux aquatiques
4.3.12.	Notification et mesures d'intervention

Annexe 3. Questions adressées aux Membres

Les questions ci-dessous sont incluses dans le corps du texte du document de travail et sont rassemblées ici pour en faciliter la consultation.

Question	Référence de la section
Q1. Les principes énoncés ci-dessus (points A à E) relatifs à la révision du Chapitre 4.3. Compartimentation sont-ils appropriés ? Si ce n'est pas le cas, veuillez proposer des alternatives.	2. Objectifs du document
Q2. Ces objectifs recouvrent-ils les principales raisons d'établir un compartiment, définies par le type de produit, la filière et l'utilisation finale ? Si ce n'est pas le cas, veuillez proposer des alternatives.	4. Objectifs de la compartimentation
Q3. Êtes-vous favorable à l'inclusion des notions de compartiments indépendants et dépendants dans le Chapitre 4.3. révisé ? Quelles en sont les raisons ?	5. Compartiments indépendants ou dépendants
Q4. Un compartiment dépendant doit-il pouvoir fournir des animaux aquatiques vivants pour l'aquaculture ou le repeuplement ? Dans l'affirmative, dans quelles conditions ce type de commerce devrait-il être autorisé (par exemple, séparation épidémiologique, surveillance ciblée) ?	5. Compartiments indépendants ou dépendants
Q5. Les principes généraux de la compartimentation décrits ci-dessus fournissent-ils un cadre de haut niveau approprié pour l'établissement et la reconnaissance d'un compartiment ? Veuillez suggérer des modifications ou des principes supplémentaires à prendre en considération.	6. Principes généraux de la compartimentation
Q6. Êtes-vous favorable à la révision de l'article 4.3.2. en vue d'y inclure les principes énoncés à la section 6 ci-dessus (tels que modifiés sur la base des commentaires formulés par les Membres) ? Existe-t-il d'autres questions ou exigences clés qui devraient être abordées dans le cadre d'un ensemble de principes ?	7.2. Article 4.3.2. Principes appliqués pour la définition d'un compartiment
Q7. Êtes-vous favorable à l'approche recommandée pour la révision de l'article 4.3.6, y compris les exigences en matière d'indépendance, d'accréditation et d'obligation de communication de résultats d'analyse de la part des laboratoires ? Veuillez fournir une justification ou des commentaires supplémentaires.	7.6. Article 4.3.6. Capacités et techniques de diagnostic
Q8. Êtes-vous favorable à la révision proposée de l'article 4.3.8., y compris le fait de le scinder en deux articles : l'un sur la qualité des Services chargés de la santé des animaux aquatiques et l'autre sur la supervision par l'Autorité compétente ? Veuillez fournir une justification ou des commentaires supplémentaires.	7.8. Article 4.3.8. Supervision et contrôle d'un compartiment

TITRE 4.

PRÉVENTION ET CONTRÔLE DES MALADIES

CHAPITRE 4.X.

PRÉPARATION AUX SITUATIONS D'URGENCE SANITAIRE

Article 4.X.1.

Objet

Décrire les éléments essentiels d'un cadre pour la préparation aux situations d'urgence sanitaire, qu'une *Autorité compétente* doit élaborer afin de veiller à ce que les *foyers de maladies* importantes des *animaux aquatiques* puissent être rapidement identifiés et gérés efficacement, et qui permettra de guider un pays, une zone ou un *compartiment* sur une voie appropriée conduisant au rétablissement.

Article 4.X.2.

Champ d'application

Le présent chapitre décrit les recommandations ayant trait à l'élaboration d'un cadre pour la préparation aux situations d'urgence sanitaire. Ce cadre couvre tous les éléments qui permettront à l'*Autorité compétente* de mettre en œuvre une réponse efficace en cas d'apparition d'un *foyer de maladie*, réduisant ainsi au minimum les conséquences sur les populations d'*animaux aquatiques*, les échanges commerciaux, l'économie et les ressources financières qui sont requises pour la gestion des *foyers de maladie*. Les actions spécifiques qui sont nécessaires pour rendre le cadre opérationnel en cas d'apparition d'un *foyer de maladie* sont décrites au chapitre 4.Y.

Article 4.X.3.

Introduction

Les *maladies des animaux aquatiques* peuvent se propager rapidement, les conséquences étant souvent graves. Dans de nombreuses régions du monde, la fréquence et la gravité de ces événements sanitaires semblent augmenter en raison de l'accroissement de la production aquacole et des *échanges internationaux*. Le présent chapitre propose des recommandations permettant à une *Autorité compétente* d'identifier et de coordonner les éléments d'un cadre, afin d'atteindre un niveau approprié de préparation pour ces situations d'urgence.

Lors de l'élaboration du cadre, il est essentiel de veiller à ce que les *maladies des animaux aquatiques* d'importance pour un pays, une zone ou un *compartiment* soient identifiées à l'avance (c'est-à-dire en temps de paix) par l'*Autorité compétente* et que leur contrôle à venir s'appuie sur des mesures législatives et financières appropriées. La liste officielle des *maladies* importantes, qui est établie après avoir procédé à une *analyse des risques* telle qu'elle est décrite à l'article 4.X.6., peut comprendre des *maladies des animaux aquatiques* qui figurent dans la liste du chapitre 1.3., ainsi que d'autres *maladies* qui ont été identifiées comme étant importantes pour le pays, la zone ou le *compartiment*.

En temps de paix, l'*Autorité compétente* doit également adopter une approche systématique pour planifier chaque élément du cadre qui sera mis en œuvre dès lors qu'une *maladie* importante est suspectée pendant la phase d'alerte, par le biais de l'activation du *plan d'urgence* pendant la phase opérationnelle, jusqu'au moment où la phase de rétablissement débute et où la situation d'urgence prend officiellement fin.

L'Autorité compétente doit prendre en compte le fait qu'ils peuvent s'appliquer soit à une *maladie* spécifique des *animaux aquatiques*, soit à un groupe de ces *maladies*. L'Autorité compétente doit décider, en temps de paix, laquelle de ces approches répond le mieux à ses besoins, en tenant compte des *maladies* des *animaux aquatiques* qui figurent dans la liste de son pays, des *espèces sensibles* concernées et des types de production.

Article 4.X.4.

Principes généraux

La préparation aux situations d'urgence sanitaire est une fonction essentielle de l'Autorité compétente. Les différents éléments nécessaires pour garantir que l'Autorité compétente est préparée pour faire face à un foyer d'une *maladie* importante sont élaborés dans un cadre. Ce cadre est constitué en temps de paix, avant l'apparition d'un foyer de *maladie*.

Le succès final du cadre sera influencé par la qualité des préparatifs auxquels l'Autorité compétente a procédé, ainsi que par l'implication et la coordination des *Services chargés de la santé des animaux aquatiques*.

Les principes généraux à prendre en considération lors de l'élaboration d'un cadre pour la préparation aux situations d'urgence sanitaire sont les suivants :

- 1) il convient que soient mis en place des dispositions juridiques et un financement permettant à une *Autorité compétente* de mettre en œuvre tous les éléments du cadre et de gérer les *foyers de maladie* conformément au *plan d'urgence* et aux mesures opérationnelles détaillées visées au chapitre 4.Y. ;
- 2) il faut recourir à une *analyse des risques* avant, pendant et après l'apparition d'un foyer de *maladie*, comme décrit à l'article 4.X.6. ; l'*analyse des risques* qui est effectuée en amont permettra d'identifier les *maladies* importantes des *animaux aquatiques* qui seront l'objet de mesures d'urgence ; l'*analyse des risques* qui est menée pendant et après l'apparition du foyer de *maladie* permettra d'apporter des informations pour les mesures de riposte et de rétablissement qui seront adoptées par l'Autorité compétente et les *Services chargés de la santé des animaux aquatiques* ;
- 3) un *plan d'urgence* doit être élaboré pour une *maladie* spécifique des *animaux aquatiques* ou un groupe de *maladies* apparentées des *animaux aquatiques*, à la suite d'une consultation appropriée des *Services chargés de la santé des animaux aquatiques*, comprenant au moins les éléments décrits aux points a) à f) de l'article 4.X.7. Le *plan d'urgence* est activé :
 - a) partiellement conformément au chapitre 4.Y., lorsque la présence d'une *maladie* importante est suspectée pendant la « phase d'alerte » ;
 - b) en totalité conformément au chapitre 4.Y., une fois que l'urgence sanitaire a débuté, pendant la « phase opérationnelle » ;
- 3) des exercices de simulation doivent être planifiés et exécutés afin de mettre à l'essai les éléments pertinents du cadre pour la préparation relative à la *maladie* ; les exercices de simulation permettent de s'assurer que les *Autorités compétentes* et les *Services chargés de la santé des animaux aquatiques* sont formés et correctement équipés pour gérer la suspicion et la confirmation d'une *maladie* importante sur leur *territoire*, conformément à l'article 4.X.8. ;
- 4) tous les éléments du cadre doivent être régulièrement examinés et révisés comme décrit dans l'article 4.X.9. ;
- 5) un « plan de rétablissement » doit être préparé comme décrit à l'article 4.X.11., qui sera basé sur l'*analyse des risques* et sur les options de rétablissement qui figurent dans l'article 4.X.10.

Article 4.X.5.

Dispositions juridiques et financement

Il existe certaines conditions préalables concernant le cadre pour la préparation aux situations d'urgence sanitaire. Ces conditions préalables impliquent notamment que l'*Autorité compétente* :

- 1) ait recours à la législation sanitaire relatives aux *animaux aquatiques* qui sous-tend l'exécution de tous les éléments et actions qui sont nécessaires pour gérer la suspicion et la confirmation d'un foyer d'une *maladie* importante des *animaux aquatiques*, comme décrit à l'article 4.X.6. ;
- 2) ait accès à des fonds alloués aux urgences, qui sont suffisants pour permettre l'exécution des éléments pertinents du cadre pour la préparation relative à la *maladie* ainsi que des mesures opérationnelles qui sont définies au chapitre 4.Y.

Tout retard dans la capacité de l'*Autorité compétente* à s'appuyer sur des dispositions juridiques ou à accéder à des fonds est susceptible de contrarier la gestion efficace d'une urgence sanitaire. Il convient d'éviter les délais, ou au moins de les réduire au minimum, en veillant à ce que toutes les étapes administratives qui doivent être suivies pour la transmission des fonds nécessaires de l'autorité centrale chargée du financement à l'*Autorité compétente* soient identifiées.

Article 4.X.6.

Analyse des risques

L'*analyse des risques* joue un rôle important avant, pendant et après l'apparition d'un foyer de *maladie*. Il est donc essentiel que l'*Autorité compétente* ait cette expertise à disposition, afin de s'assurer que le cadre pour la préparation aux situations d'urgence sanitaire, puisse être mis en œuvre de manière efficace.

Identification des *maladies* des *animaux aquatiques* qui seront l'objet de mesures d'urgence

L'*Autorité compétente* doit recourir à l'*analyse des risques* pour déterminer quelles *maladies* importantes des *animaux aquatiques* constituent une menace et doivent donc faire l'objet de mesures d'urgence en cas d'apparition d'un foyer d'une *maladie*.

L'*analyse des risques* doit prendre en compte les situations d'un pays. En particulier, la connaissance des espèces d'*animaux aquatiques* sauvages et d'élevage présentes sur le territoire, ainsi que leur distribution géographique, leur statut sanitaire et leur importance économique, sont essentielles pour mener à bien une *analyse des risques* efficace. Cette *analyse des risques* doit également intégrer des informations relatives aux principales routes d'introduction, voies de transmission, étapes du cycle de vie, persistance dans l'environnement, probabilité d'éradication, etc., qui seront une source d'informations pour établir les stratégies de contrôle de la *maladie* et les options de réponse, auxquelles il est fait référence dans l'article 4.X.10.

La liste des *maladies* importantes des *animaux aquatiques* qui peuvent être soumises à des mesures d'urgence doit faire l'objet d'un examen continu par l'*Autorité compétente*. L'*analyse des risques* doit prendre en compte les dernières découvertes scientifiques pertinentes et doit être renouvelée régulièrement afin d'évaluer la menace que constituent les *maladies émergentes*. Les évolutions ayant trait aux espèces d'élevage et à la distribution ou la virulence des *agents pathogènes* connus doivent être une source d'informations pour l'adoption de modifications des listes nationales de *maladies*. Les *Autorités compétentes* doivent veiller à collecter les données nécessaires pour compléter et actualiser l'*analyse des risques*.

Activités de surveillance

Une suspicion de foyer d'une *maladie* importante des *animaux aquatiques*, qui fait l'objet d'un contrôle réglementaire, résulte souvent d'activités de *surveillance*. Par conséquent, les systèmes de préparation aux situations d'urgence sanitaire sont fortement tributaires des activités de *surveillance* menées par les *Services chargés de la santé des animaux aquatiques*, conformément au chapitre 1.4. Les résultats d'un cadre pour la préparation aux situations d'urgence sanitaire dépendent essentiellement de la qualité des activités de *surveillance*.

En outre, lorsque la présence d'une *maladie* importante des *animaux aquatiques* est suspectée ou a été confirmée, l'*analyse des risques* joue un rôle crucial dans l'établissement des priorités en matière d'activités de *surveillance*, dans le cadre de la traçabilité épidémiologique en amont et en aval.

Mesures de riposte lors d'une situation d'urgence sanitaire

Dans le cadre pour la planification de la préparation, des protocoles d'*appréciation des risques* doivent être élaborés pour aider aux prises de décisions de l'*Autorité compétente* durant un *foyer*. Des protocoles sont nécessaires pour couvrir un ensemble d'options de contrôle de la *maladie*, par exemple la possibilité d'élever des animaux dans un *établissement d'aquaculture* infecté jusqu'à ce qu'ils atteignent le poids d'abattage (ce qui comprendra une appréciation du *risque* de propagation dans une étendue aquatique spécifique), et la possibilité de déplacer des *animaux aquatiques* vivants au sein de *zones infectées*.

Il convient de procéder à une *appréciation du risque* ayant trait aux activités de dépopulation, afin de garantir qu'elles sont effectuées avec un risque le plus faible possible de propagation de la *maladie*. En outre, avant le repeuplement, une *appréciation du risque* doit être réalisée afin de déterminer si des mesures supplémentaires d'atténuation des risques sont nécessaires pour prévenir la réinfection du nouvel effectif d'*animaux aquatiques*.

Article 4.X.7.

Plan d'urgence

L'*Autorité compétente* doit décider si le *plan d'urgence* peut s'appliquer soit à une *maladie* spécifique des *animaux aquatiques*, soit à un groupe de ces *maladies* qui, en raison de leurs similitudes, peuvent être gérées efficacement en ayant recours aux mêmes principes, par exemple certaines *maladies* des poissons survenant en eau douce ou certaines *maladies* des mollusques survenant en eau de mer

L'*Autorité compétente* doit également prendre en considération le fait qu'en raison de la nature des *maladies émergentes*, le *plan d'urgence* et le plan de reprise, qui sont élaborés pour ces *maladies* des *animaux aquatiques*, doivent être génériques. Ces plans génériques nécessiteront toutefois d'être ajustés rapidement et efficacement, une fois que les détails de la *maladie émergente* seront connus et que l'*Autorité compétente* aura estimé que la *maladie* en question doit faire l'objet de mesures de préparation aux situations d'urgence sanitaire.

Le *plan d'urgence* doit comprendre au moins les éléments suivants :

- 1) l'établissement d'une chaîne de commandement claire au sein du pays, du niveau central aux niveaux régional et local, l'*Autorité compétente* assurant le commandement général ; cette chaîne de commandement doit intégrer les décideurs des *Services chargés de la santé des animaux aquatiques* qui sont susceptibles de ne pas s'occuper directement de la santé des *animaux aquatiques*, mais qui jouent un rôle dans le cadre pour la préparation aux situations d'urgence, relative aux *maladies* ;
- 2) un cadre pour la coopération entre l'*Autorité compétente* et les *Services chargés de la santé des animaux aquatiques* ; cette coopération doit :
 - a) garantir que toutes les actions faisant partie du plan sont bien comprises et ont été l'objet de discussions en amont et durant tout *foyer* de *maladie*, assurant ainsi que des décisions rapides et efficaces peuvent être adoptées si nécessaire ;
 - b) conduire à la mise en place des groupes suivants, a minima, qui se réunissent à des fréquences susceptibles de varier en fonction de la phase de l'urgence :
 - i) un groupe de gestion de l'urgence officiellement reconnu, et qui est présidé par l'*Autorité compétente* ;
 - ii) des sous-groupes spécialisés qui proposeront des conseils spécifiques en vue de leur examen, au Groupe de travail sur l'urgence, par exemple un groupe épidémiologique, un groupe de laboratoires, un groupe logistique, un groupe des communications, un groupe environnemental, un groupe de producteurs, un groupe d'accompagnement psychologique et de soutien à la santé mentale.

-
- 3) l'identification et les modalités de l'accès au / aux :
- a) centre principal et centres locaux appropriés de contrôle de la *maladie* ;
 - b) laboratoires appropriés ;
 - c) équipements appropriés ;
 - d) personnels formés appropriés ;
 - e) systèmes de gestion des données ou systèmes d'information appropriés ;
 - f) matériels et ressources supplémentaires appropriés pouvant être nécessaires, comprenant, par exemple, les télécommunications, le transport, les vaccins, les experts (par exemple, dans les domaines de la logistique, de la gestion de la pêche, de la protection de l'environnement) ;
 - g) les prestataires de services appropriés (par exemple, les entreprises d'élimination des déchets, les fournisseurs d'équipements de protection individuelle (EPI), les fournisseurs de produits chimiques, les générateurs de secours) ;
- 4) les mesures générales de *sécurité biologique* et de contrôle des *maladies* qui seront adoptées en cas de suspicion ou de confirmation de la présence d'une *maladie* importante des *animaux aquatiques* à laquelle le *plan d'urgence* s'applique ; les mesures générales de *sécurité biologique* qui seront appliquées aux *établissements d'aquaculture* doivent être en ligne avec les mesures décrites au chapitre 4.1. ; il convient de prendre en compte la coordination des mesures de contrôle avec les pays voisins partageant des étendues d'eaux ;
- 5) s'agissant des mesures spécifiques de contrôle de la *maladie*, la durée de la période de *vide sanitaire* qui peut s'appliquer après la dépopulation, le nettoyage et la *désinfection* doit être prise en considération, en ayant recours à une *appréciation du risque* ; cette évaluation doit prendre en compte des facteurs pertinents tels que la nature de l'*agent pathogène* concerné, le type et l'étendue du système de production, les facteurs hydrographiques et la nature des populations locales d'*animaux aquatiques* sauvages ; l'*appréciation du risque* doit également apporter des informations relatives à la nécessité, dans certaines circonstances, de synchroniser le *vide sanitaire* dans un ensemble d'*établissements d'aquaculture* ;
- 6) les options de riposte envisageables qui peuvent être appliquées pour gérer un *foyer de maladie*, en s'appuyant sur une *appréciation du risque* ; ces options en matière de réponse dépendront de la progression du *foyer de maladie* et peuvent comprendre des mesures telles que l'éradication, le confinement par le biais de mesures de *sécurité biologique*, l'atténuation des conséquences de la *maladie* ou l'absence d'intervention face à la *maladie* ;
- 7) la stratégie de *communication relative au risque* qui s'appliquera à chaque étape du processus, à la fois au sein et entre les différentes autorités et services, ainsi qu'avec les parties prenantes concernées ; par exemple, le *plan d'urgence* doit définir la nature et le calendrier des communications avec le personnel, qui sont décrits aux points 2b)(i) et (ii) ci-dessus, et tenir compte, le cas échéant, de l'implication de la communauté.

Les actions nécessaires pour rendre les points 1) à 7) ci-dessus opérationnels sont décrites au chapitre 4.Y.

Article 4.X.8.

Exercices de simulation

Les exercices de simulation sont une composante essentielle de la préparation aux situations d'urgence relative aux *maladies*. Les objectifs de ces exercices consistent à valider et tester la fonctionnalité et l'adéquation du *plan d'urgence* et des mesures opérationnelles qui sont décrites au chapitre 4.Y. Les exercices de simulation permettront également de valider et de mettre à l'essai les capacités des *Autorités compétentes* et des *Services chargés de la santé des animaux aquatiques* à répondre à une *maladie* importante des *animaux aquatiques*. Le cadre pour la préparation aux situations d'urgence relative aux *maladies*, doit comporter une exigence ayant trait à la réalisation régulière d'exercices de

simulation, visant à vérifier que l'ensemble du personnel est correctement formé et préparé de manière appropriée aux tâches qui lui ont été attribuées.

L'*Autorité compétente* doit fixer une fréquence minimale pour la réalisation de ces exercices, afin de s'assurer de l'état de préparation en vue de l'exécution efficace des différents éléments du *plan d'urgence*, si celui-ci doit être mis en œuvre. Les exercices de simulation peuvent être organisés au sein d'un pays ou en impliquant les *Autorités compétentes* et les *Services chargés de la santé des animaux aquatiques* de pays ou de zones partageant des étendues d'eaux.

Un exercice de simulation devra présenter des objectifs clairement définis concernant les éléments du cadre de préparation aux situations d'urgence, relative aux *maladies*, ou de la capacité de réponse aux foyers qui fait l'objet d'une évaluation. Les objectifs détermineront le type d'exercice, la participation et la conception de l'exercice.

La planification, l'organisation et la réalisation des exercices de simulation doivent prendre les points suivants en compte :

- 1) les différents types d'exercices qui peuvent être employés, par exemple des exercices sur table, des exercices limités sur le terrain ou des exercices plus étendus sur le terrain ;
- 2) l'échelle, la fréquence et le champ d'application des exercices doivent s'appuyer sur la hiérarchisation des priorités en matière de *risques*, qui a été effectuée par l'*Autorité compétente*, en prenant en compte tout nouveau facteur de *risque* qui a été identifié ;
- 3) les exercices doivent impliquer différents niveaux administratifs de l'*Autorité compétente*, ainsi que les *Services chargés de la santé des animaux aquatiques* qui interviendront dans la mise en œuvre du *plan d'urgence* en cas d'urgence relative à la *maladie* ;
- 4) les exercices doivent permettre de tester les capacités de l'*Autorité compétente* à gérer chaque élément du cadre pour la préparation aux situations d'urgence relative aux *maladies*, depuis l'alerte sanitaire initiale jusqu'à la fin de la phase de rétablissement ;
- 5) une fois achevé, chaque exercice de simulation doit faire l'objet d'une évaluation approfondie menée par l'organisateur, dont l'objectif est d'identifier :
 - a) les éléments du cadre pour la préparation aux situations d'urgence relative aux *maladies*, qui sont adaptés à l'usage prévu et ceux qui ne le sont pas ;
 - b) l'état de préparation et la capacité de l'*Autorité compétente* et des *Services chargés de la santé des animaux aquatiques* à répondre aux éléments du cadre pour la préparation aux situations d'urgence relative aux *maladies*, qui ont été testés au cours de l'exercice.

Article 4.X.9.

Révision et examen

L'*Autorité compétente* doit mettre en place un mécanisme visant à améliorer son cadre pour la préparation aux situations d'urgence relative aux *maladies*, en procédant à un examen régulier et, lorsqu'il y a lieu, à une révision des différents éléments de ce cadre.

La liste des *maladies* des *animaux aquatiques* qui sont concernées par le cadre pour la préparation aux situations d'urgence relative aux *maladies*, doit être l'objet d'un examen continu, comme décrit dans l'article 4.X.6.

L'examen et la révision du *plan d'urgence* et des mesures opérationnelles qui sont exposés dans le chapitre 4.Y. doivent prendre en compte les résultats de l'évaluation des exercices de simulation décrits dans l'article 4.X.8., ainsi que de la mise en œuvre d'une réponse d'urgence à une *maladie*, le cas échéant.

Le processus d'examen peut par conséquent nécessiter une révision du *plan d'urgence* ou d'autres éléments du cadre pour la préparation aux situations d'urgence relative aux *maladies*. Ces exercices et réponses doivent également être

utilisés pour mettre en évidence les besoins en matière de formation du personnel de l'*Autorité compétente* et des *Services chargés de la santé des animaux aquatiques*, et afin d'apporter des informations pour la révision éventuelle de la législation qui étaye le cadre.

L'examen et la révision réguliers du cadre pour la préparation aux situations d'urgence relative aux *maladies* doivent également prendre en compte des mesures visant à renforcer le *plan d'urgence* ou à la prévention d'un autre événement d'urgence relative à une *maladie*, par exemple la mise à jour des informations scientifiques, l'amélioration des technologies ou des pratiques pertinentes, ainsi que tout autre nouvel élément qui permettra d'améliorer l'adéquation et l'efficacité globales du cadre.

Toutes les révisions qui sont apportées à la suite du processus d'examen décrit ci-dessus doivent être communiquées aux *Services chargés de la santé des animaux aquatiques* dans un délai convenu.

Article 4.X.10.

Options de réponse

L'*Autorité compétente* devra tenir compte du fait que l'objectif initial consistant à mener à bien un programme d'éradication et à rétablir l'absence de *maladie* dans un pays, une *zone* ou un *compartiment* à la suite de l'apparition d'un *foyer de maladie* est susceptible de changer en fonction de l'évolution du *foyer*.

Si l'objectif du plan de rétablissement peut être de rétablir la situation indemne de maladie qui existait avant l'apparition du *foyer de maladie*, il convient de tenir compte du fait que, dans certains cas, le *statut zoosanitaire des animaux aquatiques* obtenu à l'issue de la situation d'urgence est susceptible d'être différent de celui qui existait avant l'apparition du *foyer*. Il convient donc de définir, dans le cadre de la préparation aux situations d'urgence, relative aux maladies, différentes options de réponse sur lesquelles le plan de rétablissement peut se fonder, en fonction de la situation épidémiologique prévalant à la fin de la situation d'urgence.

En ce qui concerne les *maladies des animaux aquatiques* énumérées au chapitre 1.3. et compte tenu du chapitre 1.4., les options envisageables par l'*Autorité compétente* dans le cadre de son plan de relèvement sont les suivantes :

- 1) démontrer le rétablissement de l'absence de maladie au niveau du pays, de la *zone* ou du *compartiment* ;
- 2) établir une *zone indemne de maladie* dans un pays précédemment *indemne de maladie* ;
- 3) établir une *zone redéfinie (réduite) indemne de maladie* ;
- 4) établir un ou plusieurs *compartiments indemnes de maladie* ;
- 5) renoncer au statut indemne de *maladie* et prendre des mesures pour contenir la *maladie* ;
- 6) prendre des mesures visant à atténuer les effets de la *maladie* ;
- 7) accepter qu'aucune des options décrites ci-dessus n'est réalisable et qu'aucune mesure officielle de contrôle de la *maladie* ne sera appliquée.

Si les opérations de lutte contre la *maladie* sont interrompues avant que le pays ou la *zone* ne retrouve son statut indemne de *maladie* tel qu'il existait avant l'apparition du *foyer*, le plan de relèvement doit indiquer comment l'*Autorité compétente* peut étudier la possibilité d'établir des *zones* ou des *compartiments* redéfinis comme *indemnes de maladie*.

Lorsque les options décrites aux points 1 à 6 ci-dessus ne sont pas réalisables pour des raisons épidémiologiques, logistiques ou économiques, l'*Autorité compétente* peut accepter une évolution du statut initial indemne de la *maladie* vers un statut où la maladie est devenue endémique, mais où la situation épidémiologique est stable.

En ce qui concerne les *maladies importantes des animaux aquatiques* qui ne sont pas énumérées au chapitre 1.3. mais qui sont répertoriées dans la législation nationale d'un pays, l'*Autorité compétente* peut décider d'appliquer un ensemble d'options similaires à celles décrites aux points 1 à 4 ci-dessus. Toutefois, ces maladies n'entrent pas dans le champ

d'application des statuts officiels indemnes de maladie qui peuvent être établis pour un pays, une zone ou un *compartiment*, tels que décrit au chapitre 1.4.

Article 4.X.11.

Plan de rétablissement

L'*Autorité compétente* doit décider si le plan de relèvement s'applique à une *maladie* spécifique des *animaux aquatiques* ou à un groupe de *maladies* qui, en raison de leur similitude, peuvent être gérées efficacement selon les mêmes principes, par exemple certaines *maladies* des poissons qui surviennent en eau douce ou certaines *maladies* des mollusques qui surviennent en eau de mer.

Le plan de relèvement doit être activé lorsque l'*Autorité compétente* a déclaré la fin de la situation d'urgence. Le moment où la situation d'urgence prend fin et la nature du plan de relèvement seront déterminés par l'*évaluation des risques*, qui tiendra compte des facteurs suivants ainsi que des options décrites à l'article 4.X.10. :

- 1) la répartition géographique actuelle de l'*agent pathogène* ;
- 2) la présence ou non de la *maladie* dans les populations d'*animaux aquatiques* sauvages ;
- 3) les coûts et la faisabilité de l'établissement et du maintien de la situation indemne de *maladie* au niveau du pays, de la zone ou du *compartiment*, en tenant compte des liens hydrologiques et épidémiologiques ;
- 4) l'impact socio-économique de la ou des option(s) de relèvement possible(s) ;
- 5) tout risque que la *maladie* peut présenter pour les populations d'*animaux aquatiques* sauvages vulnérables dans les secteurs infectés ou adjacents.

Concernant les options de réponse décrites aux points 1 à 6 de l'article 4.X.10., le plan de relèvement doit contenir des précisions sur les mesures que l'*Autorité compétente* et les exploitants d'*établissements d'aquaculture* doivent prendre pour :

- 6) préparer une auto-déclaration d'absence de *maladie*, conformément aux points 1 à 4 de l'article 4.X.10., ou
 - 7) mettre en place des mesures de sécurité biologique appropriées, conformément au chapitre 4.1, pour garantir le contrôle de la *maladie*, conformément au point 5 de l'article 4.X.10., ou
 - 8) mettre en place les mesures d'atténuation visées au point 6 de l'article 4.X.10., par exemple la vaccination, le changement d'espèces de production ou la modification des pratiques d'élevage ;
 - 9) envisager les besoins en matière de recherche pour soutenir les actions visées aux points 6 à 8.
-

TITRE 4

PRÉVENTION ET CONTRÔLE DES MALADIES

CHAPITRE 4.Y.

GESTION DES FOYERS DE MALADIES

Article 4.Y.1.

Objet

Fournir des recommandations concernant les mesures à prendre par l'*Autorité compétente* et les *Services chargés de la santé des animaux aquatiques* pour gérer la réponse à une situation d'urgence en cas de suspicion ou de confirmation de la présence d'une *maladie* importante des *animaux aquatiques*, et activer son plan d'urgence tel qu'il est décrit au chapitre 4.X.

Article 4.Y.2.

Champ d'application

Fournir des recommandations concernant les mesures à prendre par l'*Autorité compétente* et les *Services chargés de la santé des animaux aquatiques*, à partir du moment où une *maladie* importante, telle qu'elle est décrite à l'article 4.X.6. est suspectée dans un pays, une zone ou un *compartiment indemne*, ou a été suspectée ou confirmée dans une population épidémiologiquement liée, jusqu'au moment où la phase de rétablissement commence. Ces mesures rendent opérationnels les éléments décrits au chapitre 4.X., qui sont nécessaires pour gérer le *foyer de maladie*.

Article 4.Y.3.

Principes généraux

Pour gérer efficacement une réponse à une situation d'urgence, il convient que les principes suivants soient pris en compte :

- 1) les mesures à prendre par l'*Autorité compétente* et les *Services chargés de la santé des animaux aquatiques* doivent reposer sur le cadre de préparation aux situations d'urgence sanitaire qui a été élaboré conformément au chapitre 4.X. ;
- 2) les éléments opérationnels du cadre de préparation aux situations d'urgence sanitaire doivent être décrits dans un Manuel opérationnel. L'*Autorité compétente* peut s'appuyer sur le Manuel opérationnel pour apporter des orientations sur tous les aspects de la réponse, y compris les mesures à prendre pendant les phases d'alerte, d'urgence et de rétablissement ;
- 3) l'objectif initial de la réponse à un *foyer de maladie* est d'éradiquer la *maladie*, permettant ainsi à un pays, une zone ou un *compartiment* de redevenir indemne de la *maladie*. Toutefois, si la progression du *foyer* empêche d'atteindre cet objectif, il convient de décrire d'autres mesures qui aideront l'*Autorité compétente* à suivre une autre voie vers la phase de rétablissement ;

-
- 4) les mesures décrites dans le Manuel opérationnel doivent être exécutées au bon moment et de manière coordonnée, par un personnel compétent ayant accès à toutes les ressources nécessaires pour gérer le foyer de *maladie*.

Article 4.Y.4.

Phase d'alerte

Les mesures à prendre pendant la phase d'alerte d'une situation d'urgence doivent tenir compte des facteurs suivants :

- 1) la phase d'alerte commence lorsque la présence d'une *maladie* importante des *animaux aquatiques* est suspectée, généralement à la suite d'une *surveillance* active ou passive dans le pays ou dans un autre pays, voisin ou partenaire commercial. Au cours de cette phase, l'*Autorité compétente* prendra des mesures pour détecter la présence de la *maladie* et empêcher son éventuelle propagation ;
- 2) après le début de cette phase, une enquête épidémiologique doit être lancée afin de :
 - a) confirmer ou d'infirmier la présence de la *maladie*, dans les plus brefs délais;
 - b) déterminer si la *maladie* s'est propagée à partir de ou vers des *établissements d'aquaculture* ou des étendues d'eau autres que ceux pour lesquels la suspicion initiale a été émise ;
- 3) au cours de l'investigation épidémiologique :
 - a) la *surveillance* fondée sur les *risques* est utilisée pour déterminer quelles populations d'*animaux aquatiques*, identifiées par le traçage, doivent faire l'objet d'un échantillonnage prioritaire. Par exemple, les *établissements d'aquaculture* qui sont étroitement liés à l'*établissement d'aquaculture* ou à la masse d'eau où la suspicion est apparue, par des mouvements d'*animaux aquatiques* vivants et d'autres voies de transmission, comme décrit à l'article 4.1.7, doivent être prioritaires pour l'inspection clinique et l'échantillonnage ;
 - b) les échantillons doivent être soumis aux laboratoires identifiés dans le *Plan d'urgence*, tel qu'il est décrit au chapitre 4.X., comme étant dotés de l'équipement et du personnel adéquats pour fournir des résultats fiables dans les délais les plus brefs possibles ;
- 4) au cours de la phase d'alerte, compte tenu du chapitre 4.1., l'*Autorité compétente* doit prendre des dispositions pour prévenir la propagation de la *maladie* en mettant en œuvre des mesures de *sécurité biologique* dans l'*établissement d'aquaculture* ou la masse d'eau en question. Il convient également d'envisager d'autres mesures spécifiques de lutte contre la maladie, telles que :
 - a) l'interdiction des mouvements d'*animaux aquatiques* et de *produits issus d'animaux aquatiques* ainsi que d'équipements, de *véhicules*, d'*aliments pour animaux* et de *déchets d'animaux aquatiques* à destination ou en provenance de l'*établissement d'aquaculture* ou de la masse d'eau, sauf si l'*Autorité compétente* l'autorise sur la base d'une *appréciation des risques* ;
 - b) élargir les mesures décrites ci-dessus à d'autres *établissements d'aquaculture* ou étendues d'eau ayant un lien épidémiologique avec l'*établissement d'aquaculture* ou la masse d'eau ayant fait l'objet de la suspicion ;
- 5) dans l'attente des résultats de l'enquête épidémiologique décrite ci-dessus, l'*Autorité compétente* doit contacter le groupe de gestion des urgences, comme décrit au chapitre 4.X., et convoquer une réunion pour l'informer de l'évolution de la situation et revoir le *Plan d'urgence* ; les objectifs de cette révision sont les suivants :
 - a) renforcer la structure de la chaîne de commandement et du cadre de coopération tels qu'ils sont décrits à l'article 4.X.6. ;
 - b) veiller à ce que le *Plan d'urgence*, tel qu'il est décrit au chapitre 4.X., est prêt à être pleinement activé au cas où la présence de la *maladie* en question serait confirmée dans le pays, la zone ou le *compartiment* ; et

-
- c) procéder à toute actualisation permettant de garantir que le *Plan d'urgence* est prêt à être immédiatement activé ;
 - 6) pendant que la présence de la *maladie* en question est en cours de confirmation, l'*Autorité compétente* doit contacter le personnel, les laboratoires et les sous-traitants concernés, en les mettant en alerte afin de s'assurer qu'ils sont prêts à agir rapidement conformément au *Plan d'urgence*, au cas où la présence de la maladie serait confirmée ; ces échanges se font par le biais des coordonnées conservées conformément au chapitre 4.X. ;
 - 7) l'*Autorité compétente* doit s'efforcer de veiller à ce que la phase d'alerte soit suffisamment courte pour minimiser la propagation de la *maladie* et suffisamment longue pour permettre de confirmer ou d'infirmer avec certitude la suspicion ;
 - 8) si la suspicion n'est pas confirmée, la phase d'alerte prend fin et tout élément justifiant une révision du *Plan d'urgence* est pris en compte ;
 - 9) la phase d'alerte prend fin lorsque la présence d'une *maladie* importante est confirmée ou infirmée par l'*Autorité compétente* ; les interlocuteurs concernés des *Services chargés de la santé des animaux aquatiques* doivent être contactés afin d'être informés de la fin de la phase d'alerte et du retour au temps de paix ou du passage à la phase d'urgence telle qu'elle est décrite à l'article 4.Y.5.

Article 4.Y.5.

Phase d'urgence

La phase d'urgence de la gestion des foyers de maladie commence lorsque la présence d'une *maladie* importante a été confirmée. Les mesures à prendre pendant la phase d'urgence sont définies dans le *Plan d'urgence* et les mesures détaillées correspondantes sont décrites dans le Manuel opérationnel, tenant compte des facteurs suivants :

- 1) la chaîne de commandement telle qu'elle est décrite à l'article 4.Y.6. ;
- 2) les installations, les compétences et les ressources adéquates, telles qu'elles sont décrites à l'article 4.Y.7. ;
- 3) les mesures de *sécurité biologique* et autres mesures de lutte contre les *maladies* telles qu'elles sont décrites à l'article 4.Y.8.

Article 4.Y.6

Chaîne de commandement

Dès que l'apparition du foyer de la *maladie* a été confirmée, l'*Autorité compétente* convoque une réunion du groupe de gestion des urgences tel qu'il est décrit au chapitre 4.X., et l'activation de tous les éléments du *Plan d'urgence* commence.

La première réunion du groupe de gestion des urgences aborde au minimum les questions suivantes, avec l'aide de sous-groupes de spécialistes compétents :

- 1) les informations épidémiologiques les plus récentes disponibles concernant la situation d'urgence sanitaire, y compris :
 - a) la localisation du ou des cas confirmés, y compris les coordonnées et les cartes ;
 - b) l'inventaire des espèces élevées dans le ou les établissements d'aquaculture infectés, ainsi que le nombre et le poids des animaux aquatiques ;
 - c) la situation clinique, y compris la description des signes cliniques et l'estimation de la morbidité et de la mortalité ;

-
- d) l'identification du cas index ;
 - e) les détails concernant les espèces *sensibles* à proximité du ou des cas confirmés ;
 - f) les résultats de la recherche préliminaire et de la *surveillance* ;
 - g) les résultats de l'*appréciation* préliminaire des *risques* ;
- 2) les objectifs et les options de réponse immédiate, en tenant compte des informations épidémiologiques existantes telles qu'elles sont mentionnées ci-dessus, notamment :
- a) la confirmation officielle du *foyer* de la *maladie* aux opérateurs concernés ;
 - b) la notification internationale conformément au chapitre 1.1. ;
 - c) le renforcement des mesures préliminaires de *sécurité biologique* mises en place durant la phase d'alerte, l'imposition de nouvelles mesures de lutte contre la *maladie*, ou les deux ;
- 3) les questions susceptibles de se poser quant aux échanges commerciaux, tant à l'intérieur du pays qu'avec les partenaires commerciaux à l'étranger ;
- 4) l'examen des dispositions juridiques, administratives et financières afin de s'assurer que tous les outils nécessaires sont en place pour gérer immédiatement la situation d'urgence sanitaire. ; cet examen doit porter sur les points suivants :
- a) les détails de l'instrument juridique qui sous-tend l'octroi d'un financement pour la gestion des urgences sanitaires concernant les *animaux aquatiques* ;
 - b) les coordonnées du service compétent qui traitera la demande de fonds une fois que le *plan d'urgence* aura été activé ;
 - c) les détails concernant les mécanismes par lesquels les fonds seront transférés, ainsi que la fréquence des transferts et le personnel autorisé à prélever les fonds ;
- 5) le format et le calendrier des communications avec les *Services chargés de la santé des animaux aquatiques* qui participent à la réponse à la situation d'urgence, avec les partenaires commerciaux concernés et avec le public ; ces communications sont fondées sur des versions génériques de projets de communiqués de presse et de courriers destinés aux *Services chargés de la santé des animaux aquatiques*, qui ont été préparés en temps de paix et qui ont été ajustés de façon pertinente pour tenir compte des circonstances actuelles ;
- 6) un calendrier des réunions à venir tout au long de la phase d'urgence de la réponse, permettant de planifier des réunions dans un délai très court, si cela s'avérerait nécessaire.

Article 4.Y.7.

Installations, compétences et ressources adéquates

1) Centre de contrôle des maladies

- a) L'*Autorité compétente* met en place un centre principal de contrôle des *maladies* et, le cas échéant et autant que de besoin, plusieurs centres de contrôle des *maladies* au niveau local ; ces centres, identifiés dans le *plan d'urgence*, doivent être en mesure de fournir a minima les services suivants :
 - i) des infrastructures informatiques et de télécommunication adéquates ;
 - ii) des systèmes d'information pour gérer la collecte de données concernant les *établissements d'aquaculture*, les détails de la collecte d'échantillons et les résultats de laboratoire correspondants, ainsi

que l'imposition de mesures de lutte contre les *maladies* aux *établissements d'aquaculture* et aux transporteurs ;

- iii) un espace pour la préparation et le stockage des kits d'échantillonnage en vue de leur envoi sur le terrain ;
 - iv) des points de *désinfection* pour le personnel chargé de l'échantillonnage et de l'inspection des *établissements d'aquaculture* ;
 - v) espace de stockage pour les kits de terrain, les équipements de protection individuelle, le matériel de nettoyage et de *désinfection* ;
 - vi) des mesures de *sécurité biologique* adaptées aux spécificités des installations et à l'usage qui en est fait.
- b) Le personnel des *Services chargés de la santé des animaux aquatiques* qui travaille dans les centres principaux et locaux de contrôle des *maladies* a été identifié dans le *plan d'urgence*. Au niveau opérationnel, ce groupe comprend du personnel technique, administratif et juridique, le cas échéant, qui est parfaitement formé pour accomplir les tâches suivantes conformément aux procédures normalisées détaillées qui sont définies dans le Manuel opérationnel :
- i) inspections cliniques des *établissements d'aquaculture* et des habitats aquatiques sauvages, le cas échéant ;
 - ii) collecte d'échantillons ;
 - iii) préparation et publication des avis juridiques ;
 - iv) gestion des mesures générales de *sécurité biologique* et d'autres mesures spécifiques de contrôle des *maladies* ;
 - v) communications avec le personnel et les interlocuteurs concernés.

2) Laboratoires

- a) Au cours de la situation d'urgence, les *Services chargés de la santé des animaux aquatiques* doivent soumettre des échantillons aux laboratoires qui ont été identifiés dans le *Plan d'urgence*. Ces laboratoires fournissent des tests et rapports rapides et précis, qui reposent sur les ressources suivantes :
- i) un personnel suffisamment formé et compétent ;
 - ii) un équipement adapté, ayant fait l'objet d'un entretien adéquat et convenant à l'usage auquel il est destiné ;
 - iii) des consommables en quantité et en variété suffisantes ;
 - iv) des systèmes d'information adéquats pour assurer la traçabilité des échantillons et la transmission des résultats de laboratoire ;
 - v) des mesures de *sécurité biologique* permettant de contenir *l'agent pathogène* en question.

Les coordonnées du personnel visé au point (i) et des sociétés qui fournissent les services et les biens visés aux points (ii),(iii) et (iv) sont détaillées dans le Manuel opérationnel.

- b) Pour les *maladies listées*, les méthodes des laboratoires doivent respecter le chapitre correspondant du *Manuel aquatique* de l'OMSA. Pour les *maladies non listées*, il convient d'utiliser une procédure identifiée dans le Manuel opérationnel ou une autre méthode ayant été validée aux fins de l'utilisation.

3) Prestataires de services

- a) La disponibilité des prestataires de services concernés pendant la phase d'urgence est d'une importance cruciale, en particulier si l'on considère qu'un *foyer de maladie* peut s'étendre à de multiples *établissements d'aquaculture* dans des lieux dispersés, et potentiellement à des *animaux aquatiques* sauvages. Il convient donc de prendre des mesures pour garantir que les services suivants soient disponibles :
- i) prestataires de services de gestion de la mortalité intervenant dans la récupération et/ou le transport, et disposant de la capacité nécessaire pour le tonnage journalier requis ;
 - ii) infrastructures d'abattage sanitaire pouvant accueillir le tonnage journalier requis ;
 - iii) prestataires de télécommunication ;
 - iv) fournisseurs d'équipements et de consommables de laboratoire disposant d'un délai de livraison raisonnable pour les articles nouveaux et de remplacement ;
 - v) entreprises assurant l'entretien des équipements de laboratoire utiles et disposant d'un temps de réponse acceptable pour les pièces de matériel critiques ;
 - vi) fournisseurs de vaccins/médicaments vétérinaires, capables de fournir un nombre de doses adéquat et disposant d'un délai de livraison suffisant ;
 - vii) des experts dans les domaines utiles à la bonne gestion de la situation d'urgence, disposant des compétences nécessaires (par exemple, dans les domaines de la logistique, de la gestion de la pêche, de la protection de l'environnement, de la vaccination ou du traitement des *animaux aquatiques*), et qui sont disponibles pour faire face aux situations d'urgence ;
 - viii) des fournisseurs de remplacement pour chaque type de service, au cas où ils seraient sollicités en cas de *foyer de maladie* de grande ampleur.

Les coordonnées des prestataires visés aux points (i) à (viii) ci-dessus sont détaillées dans le Manuel opérationnel.

Article 4.Y.8.

Sécurité biologique et autres mesures de contrôle des maladies

Les mesures prises par l'*Autorité compétente* en matière de *sécurité biologique* et d'autres mesures de contrôle des *maladies* pendant la phase d'urgence sont décrites dans le Manuel opérationnel :

- 1) définir la *zone infectée* et les *zones de protection* qui s'appliquent dans les environnements d'eau douce ou marins, selon le cas, après confirmation d'un *foyer de maladie*, et en tenant compte des recommandations du chapitre 4.2 ;
- 2) fournir des cartes indiquant la *zone infectée* et la *zone de protection* l'entourant, ainsi que les *établissements d'aquaculture* situés dans ces zones ;
- 3) coordonner les actions concernant la *sécurité biologique* et d'autres mesures de contrôle des *maladies* avec d'autres *Autorités compétentes*, lorsque l'établissement d'une *zone infectée* ou de *zones de protection* a des répercussions sur les pays voisins ;
- 4) préciser les mesures de *sécurité biologique* et les autres mesures spécifiques de contrôle des *maladies*, notamment :
 - a) contrôler les mouvements d'*animaux aquatiques*, de *produits issus d'animaux aquatiques* et d'équipements destinés à l'alimentation animale à destination ou en provenance de l'établissement ou des établissements infectés, sauf si l'*Autorité compétente* l'autorise après avoir conduit une *appréciation des risques* ;

-
- b) étendre les contrôles de mouvements visés ci-dessus à d'autres *établissements d'aquaculture* ou étendues d'eau ayant un lien épidémiologique avec l'*établissement d'aquaculture* dans lequel la suspicion est apparue ;
 - c) des dérogations aux interdictions de mouvement décrites ci-dessus, si l'*appréciation des risques* a indiqué qu'elles représentent un risque acceptable, ou bien que des mesures de mouvement plus strictes sont nécessaires en raison de l'évolution de la situation de la *maladie* ;
 - d) préciser les procédures à utiliser lors de l'abattage ou de la mise à mort d'*animaux aquatiques*, en fonction de leur espèce, de leur taille et du nombre d'*animaux aquatiques* concernés, y compris :
 - i) les détails du matériel et, le cas échéant, des produits vétérinaires à utiliser, ainsi que leurs fournisseurs ;
 - ii) la désignation d'un responsable du bien-être animal chargé de veiller à ce que les procédures soient appliquées selon les normes les plus strictes possibles et, dans le cas des poissons, de veiller à ce que l'abattage ou la mise à mort soit effectué conformément aux dispositions du chapitre 7.4 ;
 - iii) les détails des mesures de *sécurité biologique* nécessaires pour garantir que le processus d'abattage ou de mise à mort n'entraîne pas la propagation de la *maladie* ; il s'agit notamment des mesures applicables aux *véhicules* autorisés à transporter des animaux ou des produits des établissements infectés (ou d'autres établissements, selon les instructions de l'*Autorité compétente*) vers des usines de transformation ou des établissements de production de sous-produits animaux ;
 - iv) les options de vaccination qui peuvent être utilisées, en fonction des circonstances du foyer de la *maladie*, y compris :
 - l'absence de vaccination ;
 - la vaccination mise en œuvre dans les *établissements d'aquaculture* situés dans la *zone infectée*, c'est-à-dire la vaccination suppressive, dont l'objectif est de réduire la propagation de la *maladie* à partir de la *zone infectée* ;
 - la vaccination mise en œuvre en dehors de la *zone infectée* où la *maladie* n'a pas été suspectée ou confirmée, c'est-à-dire la vaccination de protection, dont l'objectif est de prévenir la propagation de la *maladie* dans les populations d'*animaux aquatiques* qui sont exposées au risque d'infection ;
 - la combinaison des vaccination suppressive et protective.
 - e) les options de décontamination disponibles, tenant compte des recommandations du chapitre 4.4. ; il convient également de dresser une liste des agents de nettoyage, des *désinfectants* et des matériels qui peuvent être utilisés, sont disponibles dans le commerce et répondent aux exigences de décontamination relatives à l'*agent pathogène* en question ;
 - f) les procédures de rétention des eaux usées produites après *désinfection*, qui ont été élaborées conformément aux instructions des *Autorités compétentes* chargées des rejets dans l'environnement.

Article 4.Y.9.

Phase de rétablissement

La phase de rétablissement de la gestion des *foyers de maladie* est activée lorsque la fin de la situation d'urgence a été déclarée par l'*Autorité compétente*. Cette phase prend en considération le plan de rétablissement décrit au chapitre 4.X. et les mesures détaillées y afférentes qui sont décrites dans le Manuel opérationnel.

1. Dans les cas où la phase de rétablissement vise à notamment rétablir l'absence de *maladie* conformément au Processus 4 tel qu'il est mentionné au chapitre 1.4, soit pour l'entité (pays, *zone* ou *compartiment*) qui était auparavant indemne de *maladie*, soit pour faire une *auto-déclaration d'absence de maladie* pour une ou plusieurs entités plus petites (*zone(s)* ou *compartiment(s)*), cette phase doit commencer par un examen des *conditions*

élémentaires de sécurité biologique qui s'appliquaient avant l'apparition du foyer de la maladie. Cet examen permettra de déterminer si des *mesures sanitaires* supplémentaires sont nécessaires pour renforcer les *conditions élémentaires de sécurité biologique* qui s'appliqueront dans l'entité pour laquelle la nouvelle déclaration de statut indemne sera faite. Cette étape sera suivie, en temps voulu, par le repeuplement des *animaux aquatiques* et la reprise des échanges commerciaux. L'objectif ultime de la phase de rétablissement est de réussir à reprendre les activités habituelles en temps de paix.

2. Dans les cas où la phase de rétablissement ne vise pas à rétablir l'absence de maladie, les actions nécessaires pour contenir la maladie ou pour en atténuer les effets doivent être identifiées et définies dans le Manuel opérationnel.
 - a) Lorsque l'objectif du plan de rétablissement est de contenir la *maladie*, les mesures suivantes peuvent être envisagées :
 - i) contrôles des mouvements ;
 - ii) *mesures de sécurité biologique*, telles qu'elles sont décrites au chapitre 4.1. ;
 - iii) *désinfection des établissements d'aquaculture* et de leur matériel, tel qu'elle est décrite au chapitre 4.4. ;
 - iv) *vide sanitaire* périodique, tel qu'il est décrit au chapitre 4.7. ;
 - v) manipulation, élimination et traitement des *déchets issus d'animaux aquatiques*, tels qu'ils sont décrits au chapitre 4.8.
 - b) Lorsque l'objectif du plan de rétablissement est d'atténuer l'impact de la *maladie*, les mesures suivantes peuvent être envisagées :
 - i) la vaccination, en utilisant une ou plusieurs des stratégies décrites à l'article 4.Y.5. ;
 - ii) la possibilité de changer la production d'une espèce d'*animaux aquatiques*, qui ne sont pas sensibles à la *maladie* ayant causé la situation d'urgence ;
 - iii) la possibilité de modifier les pratiques de production et d'élevage afin de réduire autant que possible les facteurs de *risque* connus comme entraînant la morbidité ou la mortalité des *espèces sensibles* ;
 - iv) la formation qui peut être dispensée aux opérateurs afin de les sensibiliser davantage à la *maladie* en question, ainsi que les mesures qui peuvent être prises au niveau de l'établissement pour en atténuer l'impact.
3. En outre, le plan de rétablissement est susceptible de comporter les détails :
 - a) des étapes nécessaires pour :
 - i) permettre la levée partielle ou totale des contrôles des mouvements (y compris les dispositions relatives aux autorisations), afin que les échanges commerciaux concernés puissent reprendre à l'intérieur du pays ;
 - ii) engager des discussions avec les producteurs et les partenaires internationaux, en vue de favoriser une reprise rapide des *échanges internationaux* ou de rechercher d'autres partenaires commerciaux ;
 - b) toute mesure de *surveillance* ou de *sécurité biologique* accrue susceptible de s'appliquer à la reprise des échanges commerciaux à l'intérieur du pays et avec les partenaires internationaux ;
 - c) toutes les ressources que l'*Autorité compétente* entend fournir, y compris les aides à la recherche, les aides financières, les aides techniques ou toute autre aide correspondante ;

-
- d) tout examen de la législation nationale et des procédures de gestion des *foyers de maladie* qui pourrait être nécessaire pour justifier le plan de rétablissement qui a été élaboré concernant le *foyer de maladie* en question;
 - e) une communication permanente avec les *Services chargés de la santé des animaux aquatiques* afin d'expliquer les détails pertinents du plan de rétablissement et de renforcer le rôle que jouent les *Services chargés de la santé des animaux aquatiques* dans les futures activités de prévention et de contrôle des maladies.
-

TITRE 4

PRÉVENTION ET CONTRÔLE DES MALADIES

CHAPITRE 4.Z.

MAÎTRISE DES AGENTS PATHOGÈNES DANS LA LAITANCE ET LES ŒUFS FÉCONDÉS DE POISSONS FAISANT L'OBJET D'UN COMMERCE

Article 4.Z.1.

Objectif

Fournir des recommandations pour le commerce de laitance et d'œufs fécondés de poissons destinés à l'aquaculture et définir des mesures d'atténuation du *risque* pour l'importation dans un *pays indemne*, une *zone indemne* ou un *compartiment indemne* lorsque :

- 1) l'intention est d'élever et de récolter les *animaux aquatiques* importés, ou
- 2) l'intention est d'établir une nouvelle population destinée à l'aquaculture.

Pour obtenir des recommandations spécifiques à des maladies, il convient de se reporter au Titre 10.

Article 4.Z.2.

Champ d'application

Le présent chapitre décrit les recommandations générales visant à assurer un commerce de laitance et d'œufs fécondés de poissons qui soit dénué de risques en provenance d'un secteur autre qu'un *pays indemne*, une *zone indemne* ou un *compartiment indemne*. Ces recommandations réduisent, cumulées les unes avec les autres, le *risque* de transfert de l'infection aux populations d'*animaux aquatiques* dans un *pays indemne*, une *zone indemne* ou un *compartiment indemne*.

Le commerce de laitance et d'œufs fécondés de poissons provenant d'un *pays indemne*, d'une *zone indemne* ou d'un *compartiment indemne* doit répondre aux exigences mentionnées dans l'article 10.X.9. (et dans l'article 10.4.14. pour l'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon) des chapitres spécifiques aux maladies des poissons et n'est pas abordé dans le présent chapitre.

Article 4.Z.3.

Mesures spécifiques requises pour le commerce de la laitance et des œufs fécondés de poissons

Le commerce de laitance et d'œufs fécondés de poissons en provenance d'un pays, d'une *zone* ou d'un *compartiment* qui n'a pas été déclaré indemne d'infection par les *maladies listées* jugées préoccupantes doit répondre aux exigences suivantes :

-
- 1) il convient que l'état sanitaire des stocks de géniteurs dans l'établissement d'aquaculture d'origine soit déterminé ; seules les populations de géniteurs ayant été trouvées, au terme de tests, exemptes des agents pathogènes suscitant des préoccupations peuvent être fournies aux centres de collecte et d'incubation, conformément à l'article 4.Z.4. ;
 - 2) la laitance et les œufs fécondés doivent provenir d'un centre de collecte et d'incubation agréé par l'Autorité compétente du lieu d'origine, qui fonctionne dans le respect des conditions décrites aux articles 4.Z.5., 4.Z.6. et 4.Z.7. ;
 - 3) avant l'exportation, la surface des œufs fécondés doit être désinfectée au moyen d'une méthode reconnue pour inactiver les agents pathogènes, comme décrit au chapitre 4.5. et conformément aux recommandations des chapitres spécifiques aux maladies des poissons pour ce qui concerne les œufs de salmonidés (articles 10.X.15. pour l'infection par l'alphavirus des salmonidés, l'infection par le virus de la nécrose hématopoïétique infectieuse et l'infection par le virus de la septicémie hémorragique virale ; article 10.4.20. pour l'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon) ;
 - 4) lorsqu'ils sont destinés aux échanges internationaux, l'envoi doit être accompagné d'un certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques délivré par l'Autorité compétente du pays exportateur qui doit attester que la laitance et les œufs fécondés proviennent de parents qui ont été trouvés, au terme d'un test, indemnes de la maladie en question et qui satisfont aux exigences mentionnées aux points 1 et 2.

L'application des mesures recommandées dans le présent chapitre doit être conforme aux exigences des chapitres 5.1., 5.2. et 5.3.

Article 4.Z.4.

Statut sanitaire des stocks de géniteurs sur le lieu d'origine

Les établissements d'aquaculture détenant des stocks de géniteurs destinés à la production, de la laitance et des œufs fécondés de poissons provenant d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment qui n'a pas été déclaré indemne d'infection par une maladie listée, doivent satisfaire aux exigences suivantes :

- 1) être approuvés par l'Autorité compétente ;
- 2) disposer d'un plan de sécurité biologique conformément au chapitre 4.1. ;
- 3) les stocks de géniteurs doivent être soumis à des tests de dépistage des agents pathogènes suscitant des préoccupations avant leur entrée dans le centre de collecte et d'incubation, afin de démontrer avec un niveau de confiance de 95 % que l'agent pathogène serait détecté s'il était présent au-delà d'une prévalence de 2 %, par le biais des méthodes de diagnostic décrites dans le Manuel aquatique ; si les résultats de ces tests sont positifs, les stocks de géniteurs ne doivent pas être déplacés vers le centre de collecte et d'incubation ;
- 4) les stocks de géniteurs destinés à être déplacés vers un centre de collecte et d'incubation doivent être cliniquement sains au moment du déplacement, ne doivent pas provenir d'une population ayant connu une mortalité récente ou en cours et ne doivent pas être exposés à des animaux dont le statut sanitaire est inférieur à la suite de la réalisation des tests indiqués au point 3.

Article 4.Z.5.

Centres de collecte et d'incubation

Les centres de collecte et d'incubation doivent être approuvés par l'Autorité compétente sur la base des critères suivants :

- 1) se trouver sous la supervision d'un professionnel de la santé des animaux aquatiques ou d'un vétérinaire ;
- 2) disposer d'un plan de sécurité biologique conformément au chapitre 4.1. ;

-
- 3) disposer d'une infrastructure permettant de détenir des groupes de géniteurs distincts sur le plan épidémiologique ;
 - 4) disposer d'un système de traçabilité valable garantissant que chaque lot de gamètes ou d'œufs fécondés peut être relié à un groupe distinct sur le plan épidémiologique, et comprenant la documentation et l'audit des résultats des tests, des antécédents de la *maladie* et des mouvements des *animaux aquatiques* ;
 - 5) être compartimentés comme suit:
 - a) une salle de collecte des œufs et de la laitance ;
 - b) un centre d'incubation des œufs fécondés ;
 - c) un laboratoire d'analyse de la laitance et une zone de stockage de la laitance ;
 - d) des bureaux administratifs.
 - 6) être soumis par l'*Autorité compétente* ou une tierce partie agréée à des audits et satisfaire aux critères de ces derniers, au moins une fois par an, au regard des exigences du présent chapitre.

Article 4.Z.6.

Contrôle des stocks de géniteurs au centre de collecte et d'incubation

Les stocks de géniteurs destinés à la production de laitance et d'œufs fécondés de poissons doivent répondre aux exigences suivantes dans le *centre de collecte et d'incubation* :

- 1) au moment de procéder à l'extraction, les stocks de géniteurs doivent être échantillonnés individuellement et soumis à des tests de dépistage des *maladies listées* jugées préoccupantes, conformément aux méthodes de diagnostic décrites dans le *Manuel aquatique*, dans un laboratoire qui a été approuvé par l'*Autorité compétente* ;
- 2) les poissons qui ont été trouvés positifs au terme d'un test ainsi que la laitance ou les œufs qui en sont issus, ne doivent pas être commercialisés et l'ensemble des gamètes et des poissons de ce groupe épidémiologique doivent être éliminés dans des conditions de sécurité biologique adéquates ; les installations atteintes doivent être désinfectées afin d'éviter toute contamination croisée d'autres lots de laitance ou d'œufs.

Article 4.Z.7.

Conditions applicables à la collecte et au stockage de la laitance et à la préparation des échantillons de laitance en laboratoire

Les conditions suivantes doivent être réunies au laboratoire pour la collecte et le stockage de la laitance :

- 1) l'intégrité du système de traçabilité tel qu'il est décrit à l'article 4.Z.5. doit être assurée à tout moment ;
 - 2) les récipients utilisés pour congeler la laitance doivent être stérilisés avant utilisation ;
 - 3) les diluants doivent être produits de manière à éviter toute contamination par des *agents pathogènes* ;
 - 4) la laitance congelée doit être stockée dans des récipients hermétiquement fermés dans une pièce séparée.
-

Annexe 13. Point 6.7. – Modèle d'article 10.X.10. destiné au chapitre 10.5. Infection par l'alphavirus des salmonidés, au chapitre 10.6. Infection par le virus de la nécrose hématopoïétique infectieuse et au chapitre 10.10. Infection par le virus de la septicémie hémorragique virale, et article 10.4.15. du chapitre 10.4. Infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon

MODÈLE D'ARTICLE 10.X.10. DESTINÉ AU CHAPITRE 10.5. INFECTION PAR L'ALPHAVIRUS DES SALMONIDÉS, AU CHAPITRE 10.6. INFECTION PAR LE VIRUS DE LA NÉCROSE HÉMATOPOÏÉTIQUE INFECTIEUSE ET AU CHAPITRE 10.10. INFECTION PAR LE VIRUS DE LA SEPTICÉMIE HÉMORRAGIQUE VIRALE

CHAPITRE 10.X.

INFECTION PAR [L'AGENT PATHOGÈNE X]

[...]

Article 10.X.10.

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'agent pathogène X]

Lors de l'importation d'*animaux aquatiques* appartenant à l'une des espèces visées à l'article 10.X.2. à des fins d'aquaculture 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 cette importation conformément au chapitre 2.1. et ~~prendre en considération~~ envisager d'appliquer les mesures d'atténuation du *risque* prévues ~~aux points au point 1 et ou au point 2~~ ci-dessous.

- 1) Si l'objectif est le grossissement et la récolte des *animaux aquatiques* importés, il convient d'appliquer les principes suivants:

Soit

- a) la livraison directe et le maintien à vie des *animaux aquatiques* importés dans une installation de *quarantaine*, et
- b) avant leur départ de *quarantaine* (qu'il s'agisse de l'installation d'origine ou d'une autre installation de *quarantaine* jusqu'à laquelle les animaux ont été transportés dans des conditions de *sécurité biologique* adéquates), la mise à mort et la transformation des *animaux aquatiques* en l'un ou plusieurs des *produits issus d'animaux aquatiques* visés à l'article 10.X.3. ou en d'autres produits autorisés par l'Autorité compétente, et
- c) le traitement de toute l'eau utilisée pour le transport ainsi que de l'ensemble des équipements, effluents et déchets en vue d'assurer l'inactivation de [l'agent pathogène X] conformément aux chapitres 4.4., 4.8. et 5.5. ;

Ou

- d) les exigences mentionnées au chapitre 4.Z. doivent être appliquées.

OU

-
- 2) Si l'objectif est l'établissement d'une nouvelle population à des fins d'*aquaculture*, il convient d'appliquer les principes suivants :

Soit

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* pendant une durée suffisante, et dans des conditions propices, pour permettre l'expression clinique de l'infection par [l'agent pathogène X], et prélever des échantillons et tester la présence de [l'agent pathogène X] chez cette population conformément au chapitre 1.4. du *Code aquatique* et au chapitre 2.3.6. 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 de manière biosécurisée, conformément au chapitre 4.8.

Ou

- c) les exigences mentionnées au chapitre 4.Z. doivent être appliquées.

[...]

CHAPITRE 10.4.

INFECTION PAR LE VIRUS DE L'ANÉMIE INFECTIEUSE DU SAUMON

[...]

Article 10.4.15.

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'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 RHPO.

Lors de l'importation d'*animaux aquatiques* appartenant à l'une des espèces visées à l'article 10.4.2. 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, l'*Autorité compétente* du *pays importateur* doit apprécier le *risque* associé à cette importation conformément au chapitre 2.1. et ~~prendre en considération~~ envisager d'appliquer les mesures d'atténuation du risque prévues ~~aux points au point 1 et ou au point 2~~ ci-dessous :

- 1) Si l'objectif est le grossissement et la récolte des *animaux aquatiques* importés, il convient d'appliquer les principes suivants :

Soit

- a) la livraison directe et le maintien à vie des *animaux aquatiques* importés dans une installation de *quarantaine*, et
- b) avant leur départ de *quarantaine* (qu'il s'agisse de l'installation d'origine ou d'une autre installation de quarantaine jusqu'à laquelle les animaux ont été transportés dans des conditions de *sécurité biologique* adéquates), la mise à mort et la transformation des *animaux aquatiques* en l'un ou plusieurs des *produits issus d'animaux aquatiques* visés à l'article 10.4.3. ou en d'autres produits autorisés par l'*Autorité compétente*, et
- c) le traitement de toute l'eau utilisée pour le transport ainsi que de l'ensemble des équipements, effluents et déchets en vue d'assurer l'inactivation du virus de l'anémie infectieuse du saumon conformément aux chapitres 4.4., 4.8. et 5.5.

Ou

- d) les exigences mentionnées au chapitre 4.Z. doivent être appliquées.

OU

- 2) Si l'objectif est l'établissement d'une nouvelle population à des fins d'aquaculture, il convient d'appliquer les principes suivants :

Soit

- 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'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 pendant une durée suffisante, et dans des conditions propices, pour permettre l'expression clinique de l'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon, et prélever des échantillons et tester la présence du virus de l'anémie infectieuse du saumon 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 de manière biosécurisée, conformément au chapitre 4.8.

Ou

c) les exigences mentionnées au chapitre 4.Z. doivent être appliquées.

[...]

Annexe 14. Item 6.7. – Modèle d'article 10.X.15. destiné au chapitre 10.5. Infection par l'alphavirus des salmonidés, au chapitre 10.6. Infection par le virus de la nécrose hématopoïétique infectieuse et au chapitre 10.10. Infection par le virus de la septicémie hémorragique virale, et article 10.4.20. du chapitre 10.4. Infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon

MODÈLE D'ARTICLE 10.X.15. DESTINÉ AU CHAPITRE 10.5. INFECTION PAR L'ALPHAVIRUS DES SALMONIDÉS, AU CHAPITRE 10.6. INFECTION PAR LE VIRUS DE LA NÉCROSE HÉMATOPOÏÉTIQUE INFECTIEUSE ET AU CHAPITRE 10.10. INFECTION PAR LE VIRUS DE LA SEPTICÉMIE HÉMORRAGIQUE VIRALE

CHAPITRE 10.X.

INFECTION PAR [L'AGENT PATHOGÈNE X]

[...]

Article 10.X.15

Importation de laitance et d'œufs fécondés de poissons 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'agent pathogène X]

L'Autorité compétente du pays importateur, lorsqu'elle autorise l'importation de laitance ou d'œufs fécondés destinés à l'aquaculture de l'une des espèces visées à l'article 10.X.2., à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par [l'agent pathogène X], doit s'assurer que :

- 1) l'envoi satisfait aux exigences mentionnées dans le chapitre 4.Z. ; et
- 2) les œufs fécondés ont été désinfectés selon une méthode pour laquelle il a été prouvé qu'elle inactive les agents pathogènes, conformément aux recommandations du chapitre 4.5. pour les œufs de salmonidés ; et
- 3) toute l'eau (y compris la glace) ainsi que l'ensemble des équipements, conteneurs et le matériel d'emballage utilisés pendant le transport sont traités pour garantir l'inactivation de [l'agent pathogène X] ou éliminés dans le respect des conditions de sécurité biologique conformément aux chapitres 4.4. et 4.8. et 5.5. ; et
- 4) l'ensemble des effluents et déchets sont traités en vue d'assurer l'inactivation de [l'agent pathogène X] ou éliminés dans le respect des conditions de sécurité biologique conformément aux chapitres 4.4. et 4.8.

Lorsqu'elle l'estime nécessaire, l'Autorité compétente doit prendre des mesures au niveau national, telles que la réalisation d'une opération de désinfection des œufs fécondés additionnelle dès l'arrivée dans le pays importateur.

L'envoi doit être accompagné d'un certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques délivré par l'Autorité compétente du pays exportateur, attestant que la laitance et les œufs fécondés satisfont aux recommandations des articles 4.Z.3. à 4.Z.7.

- 1) L'Autorité compétente du pays importateur, lorsqu'elle autorise l'importation d'œufs désinfectés destinés à son aquaculture de l'une des espèces visées à l'article 10.X.2. à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par [l'agent pathogène X], doit au moins apprécier les éléments suivants :

-
- a) ~~la probabilité que l'eau utilisée pour la désinfection des œufs soit contaminée par [l'agent pathogène X];~~
 - b) ~~la prévalence de l'infection par [l'agent pathogène X] chez les géniteurs (notamment les résultats des tests pratiqués sur le liquide ovarien et la laitance).~~
- 2) ~~L'Autorité compétente du pays importateur, si elle arrive à la conclusion que l'importation peut être acceptée, doit exiger que des mesures d'atténuation du risque soient appliquées, notamment :~~
- a) ~~les œufs doivent être désinfectés préalablement à leur importation selon les recommandations contenues dans le chapitre 4.5., et~~
 - b) ~~il est nécessaire qu'entre la désinfection et l'importation, les œufs n'entrent pas en contact avec du matériel susceptible de détériorer leur statut sanitaire.~~

~~Lorsqu'elle l'estime nécessaire, l'Autorité compétente doit prendre des mesures au niveau national, telles que la réalisation d'une opération de désinfection des œufs additionnelle 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 de l'une des espèces visées à l'article 10.X.2. à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré indemne d'infection par [l'agent pathogène X], doit exiger qu'ils soient accompagnés d'un certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques délivré par l'Autorité compétente du pays exportateur attestant que les mesures prévues aux points 2 a) et 2 b) du présent article ont été appliquées.~~

[...]

CHAPITRE 10.4.

INFECTION PAR LE VIRUS DE L'ANÉMIE INFECTIEUSE DU SAUMON

[...]

Article 10.4.20.

Importation de laitance et d'œufs fécondés de poissons 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

- 1) l'envoi satisfait aux exigences mentionnées dans le chapitre 4.Z., et
- 2) les œufs fécondés ont été désinfectés selon une méthode pour laquelle il a été prouvé qu'elle inactive les agents pathogènes, conformément aux recommandations du chapitre 4.5. pour les œufs de salmonidés, et
- 3) toute l'eau (y compris la glace) ainsi que l'ensemble des équipements, conteneurs et le matériel d'emballage utilisés pendant le transport sont traités pour garantir l'inactivation du virus de l'anémie infectieuse du saumon ou éliminés dans le respect des conditions de sécurité biologique conformément aux chapitres 4.4. et 4.8. et 5.5., et
- 4) l'ensemble des effluents et déchets sont traités en vue d'assurer l'inactivation du virus de l'anémie infectieuse du saumon ou éliminés dans le respect des conditions de sécurité biologique conformément aux chapitres 4.4. et 4.8.

Lorsqu'elle l'estime nécessaire, l'Autorité compétente doit prendre des mesures au niveau national, telles que la réalisation d'une opération de désinfection des œufs fécondés additionnelle dès l'arrivée dans le pays importateur.

L'envoi doit être accompagné d'un certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques délivré par l'Autorité compétente du pays exportateur, attestant que la laitance et les œufs fécondés satisfont aux recommandations des articles 4.Z.3. à 4.Z.7.

- 1) ~~L'Autorité compétente du pays importateur, lorsqu'elle autorise l'importation d'œufs désinfectés destinés à son aquaculture de l'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 l'anémie infectieuse du saumon, doit au moins apprécier les éléments suivants:~~
 - a) ~~la probabilité que l'eau utilisée pour la désinfection des œufs soit contaminée par l'anémie infectieuse du saumon;~~
 - b) ~~la prévalence de l'infection par l'anémie infectieuse du saumon chez les géniteurs (notamment les résultats des tests pratiqués sur le liquide ovarien et la laitance).~~
- 2) ~~L'Autorité compétente du pays importateur, si elle arrive à la conclusion que l'importation peut être acceptée, doit exiger que des mesures d'atténuation du risque soient appliquées, notamment:~~
 - a) ~~les œufs doivent être désinfectés préalablement à leur importation selon les recommandations contenues dans le chapitre 4.5., et~~
 - b) ~~il est nécessaire qu'entre la désinfection et l'importation, les œufs n'entrent pas en contact avec du matériel susceptible de détériorer leur statut sanitaire.~~

~~Lorsqu'elle l'estime nécessaire, l'Autorité compétente doit prendre des mesures au niveau national, telles que la réalisation d'une opération de désinfection des œufs additionnelle 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 de l'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 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 attestant que les mesures prévues aux points 2 a) et 2 b) du présent article ont été appliquées.~~

[...]

GLOSSAIRE

[...]

CENTRE DE COLLECTE ET D'INCUBATION

désigne une installation destinée à la collecte, à la fécondation et à l'incubation des œufs, ainsi qu'à la collecte, au traitement et au stockage de la laitance, agréée par l'Autorité compétente conformément aux dispositions du chapitre 4.Z.

[...]

ANIMAL AQUATIQUE ORNEMENTAL

désigne un animal aquatique destiné à faire l'objet d'une présentation au public, d'une exposition, ou d'une compétition, ou à être détenu en tant qu'animal de compagnie.

[...]

TITRE 5

MESURES COMMERCIALES, PROCÉDURES D'IMPORTATION ET D'EXPORTATION ET CERTIFICATION SANITAIRE

CHAPITRE 5.X.

MOUVEMENT D'ANIMAUX AQUATIQUES ORNEMENTAUX

Article 5.X.1.

Introduction

Le présent chapitre fournit des recommandations quant au *risque* de transmission de *maladies* induite par les mouvements d'*animaux aquatiques ornementaux* afin d'empêcher l'entrée d'*agents pathogènes* suscitant des préoccupations dans un pays, une zone ou un *compartiment indemne*.

Les *animaux aquatiques ornementaux* peuvent provenir de l'environnement naturel ou d'*établissements d'aquaculture*. Après leur entrée dans la chaîne d'approvisionnement, ils peuvent être séparés, d'un point de vue épidémiologique, des populations d'*animaux aquatiques* d'élevage ou sauvages, mais ils peuvent être détournés vers d'autres utilisations finales pour lesquelles ils n'étaient pas destinés initialement. Cela peut constituer une voie de transmission de la *maladie* et exposer à un *risque* d'autres populations d'*espèces sensibles*.

Les mouvements internationaux d'*animaux aquatiques ornementaux* se caractérisent par le transfert de nombreux animaux individuels composés de diverses espèces de poissons, de crustacés, de mollusques et d'amphibiens en provenance de divers environnements. Les chaînes d'approvisionnement peuvent impliquer le regroupement d'animaux en provenance de sources multiples et leur circulation dans le commerce de détail en tant qu'animaux de compagnie, ce qui engendre des possibilités de transmission de *maladies*. Ces caractéristiques des mouvements d'*animaux aquatiques ornementaux* peuvent poser des problèmes pour la *gestion du risque* de *maladie* des *animaux aquatiques*.

Article 5.X.2.

Champ d'application

Le présent chapitre fournit des recommandations quant à la gestion du *risque* de *maladie* lié aux mouvements d'*animaux aquatiques ornementaux*, qui complètent d'autres dispositions du *Code aquatique*, y compris les mesures spécifiées dans les chapitres spécifiques aux maladies.

Article 5.X.3.

Principes généraux

Les principes généraux relatifs aux mouvements d'*animaux aquatiques ornementaux* à prendre en considération lors de l'élaboration de mesures d'atténuation du *risque* sont les suivants :

- 1) l'admissibilité au mouvement d'une espèce (ou d'un groupe taxonomique d'espèces) doit être déterminée en tenant compte de son état de conservation (par exemple, les espèces inscrites à la Convention sur le commerce international des espèces de faune et de flore sauvages menacées d'extinction) et des impacts potentiels sur la biodiversité et les écosystèmes dans le *pays importateur* (par exemple, le risque de devenir une espèce exotique envahissante), comme décrit à l'article 5.X.4.;

-
- 2) les *animaux aquatiques ornementaux* destinés à un mouvement international doivent être cliniquement sains au moment du mouvement, ne pas être exposés à des animaux dont le statut sanitaire est inférieur et ne pas provenir d'un établissement connaissant une mortalité récente ou en cours, comme décrit à l'article 5.X.5.;
 - 3) les mesures de *gestion des risques* pour les *maladies listées* doivent être conformes aux dispositions des chapitres spécifiques aux *maladies*, comme décrit à l'article 5.X.6.;
 - 4) les mesures de *gestion des risques* pour les *maladies non listées*, ou toute mesure relative aux *maladies listées* plus contraignantes que celles décrites dans les chapitres spécifiques aux *maladies*, doivent être justifiées par une *analyse des risques*, comme décrit à l'article 5.X.7.;
 - 5) toute mesure de *gestion des risques* doit être la moins restrictive possible pour atténuer les *risques* de maladie identifiés par l'*appréciation du risque*, comme indiqué aux articles 5.X.8. à 5.X.11.;
 - 6) des mesures doivent être prises pour préserver le bien-être des *animaux aquatiques ornementaux* pendant le transit, y compris celles décrites à l'article 5.X.12.

Article 5.X.4.

Admissibilité aux mouvements internationaux d'animaux aquatiques ornementaux

Avant d'examiner les *risques* pour la santé des *animaux aquatiques* liés à l'importation d'une espèce d'*animal aquatique ornemental*, l'*Autorité compétente* du *pays importateur* doit consulter les réglementations nationales et les obligations internationales correspondantes pour déterminer si l'espèce est admissible à l'importation.

Les espèces d'*animaux aquatiques ornementaux* peuvent faire l'objet de contrôles sur les mouvements internationaux ou le commerce international en raison de leur état de conservation (par exemple, les espèces inscrites à la Convention sur le commerce international des espèces de faune et de flore sauvages menacées d'extinction (CITES)). Ces contrôles peuvent entraîner l'interdiction de mouvement à l'international ou l'obligation de présenter des documents d'importation supplémentaires.

Les espèces d'*animaux aquatiques ornementaux* (ou les groupes taxonomiques d'espèces) peuvent également être identifiées comme envahissantes par une *Autorité compétente* ou une autre autorité d'un *pays importateur*. Ces espèces peuvent être interdites au commerce, à la propriété ou à l'élevage en raison des risques qu'elles présentent pour la biodiversité, les écosystèmes, le secteur industriel ou les aménagements publics dans le *pays importateur*.

Article 5.X.5.

Statut sanitaire général des animaux aquatiques ornementaux

Les *établissements d'aquaculture* qui détiennent ou conditionnent des *animaux aquatiques ornementaux* destinés à des mouvements internationaux doivent disposer d'installations et de pratiques d'élevage appropriées pour assurer le statut sanitaire de toutes les espèces détenues dans les installations.

L'*Autorité compétente* d'un *pays exportateur* doit s'assurer que les *établissements d'aquaculture* font l'objet d'une surveillance suffisante pour garantir le respect des exigences de l'*Autorité compétente* du *pays importateur* en matière d'*animaux aquatiques ornementaux*. Les *Services chargés de la santé des animaux aquatiques* qui répondent aux exigences du *pays importateur* doivent se conformer aux principes énoncés au chapitre 3.1.

Si les *établissements d'aquaculture* sont tenus par l'*Autorité compétente* de maintenir un *plan de sécurité biologique* ou, si cela est nécessaire, de répondre aux exigences du *pays importateur*, le *plan de sécurité biologique* doit être élaboré comme décrit au chapitre 4.1.

Les *animaux aquatiques ornementaux* ne doivent pas être déplacés ou échangés à partir d'un *établissement d'aquaculture* s'ils présentent des signes cliniques de *maladie* ou s'ils connaissent une mortalité inexpliquée.

Article 5.X.6.

Application de mesures pour les maladies listées

Les *mesures sanitaires* appliquées pour gérer le *risque* de transmission des *maladies listées* associé aux mouvements d'*animaux aquatiques ornementaux* doivent être conformes aux chapitres spécifiques aux maladies correspondants. L'*Autorité compétente* d'un *pays importateur* ne peut exiger des mesures spécifiques à une *maladie* que si ce pays est indemne de la *maladie* suscitant des préoccupations ou si la *maladie* suscitant des préoccupations fait l'objet d'un programme de contrôle officiel, comme décrit au chapitre 5.1.

Lors de l'importation d'*animaux aquatiques ornementaux* d'espèces sensibles (énumérées à l'article X.X.2. de chaque chapitre spécifique à une maladie), en provenance d'un *pays indemne*, d'une *zone indemne* ou d'un *compartiment indemne*, l'*Autorité compétente* du *pays importateur* doit exiger, conformément à l'article X.X.9. du chapitre spécifique à la *maladie* suscitant des préoccupations, que l'envoi soit accompagné d'un *certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques* délivré par l'*Autorité compétente* du *pays exportateur* attestant que l'envoi provient d'un *pays indemne*, d'une *zone indemne* ou d'un *compartiment indemne*.

L'*Autorité compétente* d'un *pays importateur* ne peut exiger, pour une *maladie listée*, des *mesures sanitaires* plus strictes que les normes du *Code aquatique* que si ces mesures sont étayées par une *analyse des risques* conformément au chapitre 2.1.

Article 5.X.7.

Analyse des risques

L'*Autorité compétente* d'un *pays importateur* doit utiliser l'*analyse des risques* pour justifier toute *mesure sanitaire* concernant des *maladies* non listées liée à des *animaux aquatiques ornementaux* importés. L'*analyse des risques* doit également être utilisée pour justifier toute *mesure sanitaire* concernant les *maladies listées* si les mesures sont plus strictes que les normes du *Code aquatique*. L'*Autorité compétente* d'un *pays importateur* ne peut exiger des *mesures sanitaires* spécifiques à un *agent pathogène* que si le pays est indemne de la *maladie* suscitant des préoccupations ou si la *maladie* suscitant des préoccupations fait l'objet d'un programme de contrôle officiel, comme décrit au chapitre 5.1.

L'*analyse des risques* liés à l'importation d'*animaux aquatiques ornementaux* doit être effectuée conformément au chapitre 2.1. Outre les facteurs mentionnés au chapitre 2.1., l'*analyse des risques* doit tenir compte des facteurs suivants, qui sont pertinents pour l'évaluation de la probabilité d'entrée et d'exposition aux *dangers* associées aux *animaux aquatiques ornementaux*.

Entrée

- 1) Le statut sanitaire des *dangers* identifiés dans le pays, la *zone* ou le *compartiment* d'origine, y compris les informations sur la prévalence des *dangers* identifiés dans les populations d'*animaux aquatiques ornementaux* ou dans leurs populations d'origine (par exemple, les animaux sauvages).
- 2) Les pratiques de prévention et de contrôle des *maladies* au sein de la chaîne d'approvisionnement des *animaux aquatiques ornementaux* dans le *pays exportateur*, et la qualité des *Services chargés de la santé des animaux aquatiques* qui soutiennent la prévention et le contrôle des *maladies*.
- 3) Les différentes espèces sensibles aux *agents pathogènes* spécifiques identifiés comme des *dangers* et les éléments probants étayant cette sensibilité conformément au chapitre 1.5.
- 4) L'adéquation des conditions environnementales (par exemple, la température, la salinité) au *danger* sur le lieu d'origine des *animaux aquatiques ornementaux*.
- 5) La nature des chaînes d'approvisionnement et le degré de mélange ou de séparation épidémiologique des populations en provenance de sources dont le statut sanitaire est différent.

Exposition

-
- 6) La présence de populations d'*espèces sensibles* dans le *pays importateur*.
 - 7) L'adéquation des conditions environnementales (par exemple, la température, la salinité) pour les *espèces sensibles d'animaux aquatiques ornementaux* importés dans le *pays importateur*.
 - 8) L'adéquation des conditions environnementales (par exemple, la température, la salinité) pour le *danger* dans le *pays importateur*.
 - 9) Les utilisations finales prévues des *animaux aquatiques ornementaux* et implications en termes d'exposition, par exemple :
 - a) la présentation au public dans des zoos ou des aquariums publics - les *animaux aquatiques ornementaux* peuvent être exposés dans des installations gérées par des professionnels, qui peuvent avoir mis en place une supervision vétérinaire et des mesures de *sécurité biologique* ;
 - b) la présentation au public ou un concours - les *animaux aquatiques ornementaux* peuvent être déplacés au niveau international pendant de courtes périodes pour participer à des présentations au public ou à des concours ; ils peuvent être isolés sur le plan épidémiologique, puis renvoyés dans leur pays d'origine ;
 - c) les animaux de compagnie - les *animaux aquatiques ornementaux* peuvent faire l'objet d'un mouvement international en grand nombre et être largement distribués dans le commerce de détail pour être vendus en tant qu'animaux de compagnie.
 - 10) Les pratiques culturelles susceptibles d'influencer l'exposition, y compris le détournement des utilisations finales prévues (par exemple, le relâchement délibéré dans les cours d'eau, l'utilisation comme appât).
 - 11) Les mesures internes de prévention et de contrôle des maladies et de limitation des détournements vers des utilisations finales non prévues.

Article 5.X.8.

Gestion des risques

Les normes du *Code aquatique* constituent le choix privilégié en matière de *mesures sanitaires* pour la gestion des *risques des maladies listées* liés aux *animaux aquatiques ornementaux*.

Pour élaborer des *mesures sanitaires* concernant les *maladies* non listées ou pour justifier des mesures concernant des *maladies listées* qui sont plus strictes que les normes du *Code aquatique*, l'*Autorité compétente* d'un *pays importateur* doit suivre les recommandations relatives à la *gestion des risques* comme décrit au chapitre 2.1. Les *mesures sanitaires* doivent également être conformes aux exigences du Titre 5 du *Code aquatique*.

Les *mesures sanitaires* applicables aux *animaux aquatiques ornementaux* importés peuvent être appliquées tout au long de la procédure d'importation. Les options possibles en termes de *gestion des risques* sont prévues aux articles 5.X.9. à 5.X.11. et comprennent celles qui sont appliquées :

- 1) dans le *pays exportateur*, comme décrit à l'article 5.X.9. ;
- 2) au *poste frontière*, comme décrit à l'article 5.X.10. ;
- 3) dans le *pays importateur*, comme décrit à l'article 5.X.11.

Article 5.X.9.

Mesures de gestion des risques dans le pays exportateur

Lorsque l'*Autorité compétente* du *pays importateur* l'exige sur la base d'une *analyse des risques*, des mesures de *gestion des risques* peuvent être appliquées dans le *pays exportateur* afin d'atténuer les risques de maladie associés aux

mouvements internationaux d'animaux aquatiques ornementaux en provenance d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment qui n'a pas été déclaré indemne des *maladies* suscitant des préoccupations. L'*Autorité compétente* du pays importateur doit choisir les mesures les moins restrictives nécessaires pour atténuer les *risques de maladie* identifiés au moyen d'une *appréciation du risque*. Les mesures de *gestion des risques* peuvent inclure :

- 1) l'enregistrement ou l'agrément par une *Autorité compétente* des établissements d'aquaculture qui produisent, détiennent ou conditionnent des animaux aquatiques ornementaux destinés à l'exportation; l'enregistrement ou l'agrément est un moyen de s'assurer que les établissements d'aquaculture satisfont à toutes les exigences nécessaires à l'exportation d'animaux aquatiques ornementaux (par exemple, les exigences sanitaires générales, la sécurité biologique, la tenue de registres) ;
- 2) la confirmation que les animaux aquatiques ornementaux exportés ne présentent pas de signes de *maladie* ou de mortalité au lieu d'origine (comme décrit au point 2 de l'article 5.X.7.) et satisfont aux exigences sanitaires générales conformément à l'article X.X.5. ;
- 3) la *quarantaine* préalable à l'exportation dans un établissement d'aquaculture (par exemple, une installation dédiée au conditionnement) afin de vérifier le statut sanitaire des animaux à exporter ; la durée de la *quarantaine* est basée sur l'*appréciation du risque* et peut varier en fonction de l'espèce et des *maladies* spécifiques suscitant des préoccupations;
- 4) la réalisation de tests préalables à l'exportation d'animaux aquatiques ornementaux afin de confirmer qu'ils sont indemnes des *agents pathogènes* suscitant des préoccupations;
- 5) les systèmes de traçabilité et de tenue de registre garantissant la transparence du statut sanitaire de populations ou de lots spécifiques d'animaux aquatiques ornementaux ;
- 6) le conditionnement approprié des animaux aquatiques ornementaux afin d'assurer leur statut sanitaire pendant la durée et dans les conditions de transport prévues ;
- 7) la certification ou la fourniture d'autres documents permettant de vérifier que les mesures de gestion des risques exigées par l'*Autorité compétente* du pays importateur ont été respectées.

Article 5.X.10.

Mesures de gestion des risques aux frontières

Lorsque l'*Autorité compétente* du pays importateur l'exige sur la base d'une *appréciation du risque*, des mesures de *gestion des risques* peuvent être appliquées aux frontières afin d'atténuer les *risques de maladie* liés aux mouvements internationaux d'animaux aquatiques ornementaux en provenance d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment qui n'a pas été déclaré indemne des *maladies* suscitant des préoccupations. L'*Autorité compétente* du pays importateur doit choisir les mesures les moins restrictives nécessaires pour atténuer les *risques de maladie* identifiés au moyen d'une *appréciation du risque*. Les mesures de *gestion des risques* peuvent inclure :

- 1) à l'arrivée au poste frontalier, l'*Autorité compétente* du pays importateur peut procéder à une inspection des conteneurs, en vérifiant que le lot correspond aux informations figurant sur le certificat joint ou sur d'autres documents; l'inspection peut consister à vérifier si les conteneurs ont été endommagés et à observer les animaux afin de déceler un comportement anormal et des signes cliniques suspects ;
- 2) l'application d'une *quarantaine* aux frontières sous la supervision de l'*Autorité compétente*; la durée de la *quarantaine* est basée sur l'*appréciation du risque* et peut varier en fonction de l'espèce et des *maladies* spécifiques suscitant des préoccupations ; les effluents et les déchets en provenance des installations de *quarantaine* peuvent être traités ou éliminés dans des conditions de sécurité biologique conformément aux chapitres 4.4. et 4.8. ;
- 3) la pratique de tests aux frontières sous la supervision de l'*Autorité compétente*; toute exigence en matière de tests est basée sur l'*appréciation du risque* ;

-
- 4) la destruction (comme décrit au chapitre 7.4.) et l'élimination des animaux cliniquement atteints dans des conditions de sécurité biologique; toute l'eau (y compris la glace), ainsi que l'ensemble des équipements, des conteneurs et du matériel de conditionnement utilisés pendant le transport peuvent être traités ou éliminés dans des conditions de sécurité biologique conformément aux chapitres 4.4., 4.8. et 5.5.

Article 5.X.11.

Mesures de gestion des risques dans le pays importateur

L'*Autorité compétente* du pays importateur peut appliquer des mesures internes de *gestion des risques*, notamment pour faire face aux risques liés à l'utilisation d'animaux aquatiques ornementaux à des fins non prévues ou à leur relâchement dans la nature. Les mesures de *gestion des risques* peuvent inclure :

- 1) l'interdiction du détournement des *animaux aquatiques ornementaux* en vue d'une autre utilisation finale (par exemple pour l'*aquaculture*, l'alimentation, les appâts, la recherche) ou de leur relâchement dans la nature ;
- 2) la communication à l'*Autorité compétente* du pays exportateur de la détection d'un *agent pathogène* suscitant des préoccupations dans un lot, conformément au chapitre 5.3. ;
- 3) la traçabilité des *animaux aquatiques ornementaux* importés tout au long de la chaîne d'approvisionnement commerciale.

Article 5.X.12.

Bien-être des animaux pendant le transport

Le bien-être des *animaux aquatiques ornementaux* au cours de leurs mouvements internationaux dépend du maintien de conditions environnementales adaptées aux caractéristiques biologiques des espèce en question. Les exigences minimales pour assurer le bien-être varient d'une espèce à l'autre.

Le transport d'*animaux aquatiques ornementaux* dans des conditions qui ne sont pas adaptées à leurs caractéristiques biologiques peut accroître leur vulnérabilité à l'infection et le développement de maladies cliniques, conduisant à la probabilité de transmission de maladies.

Le transport d'*animaux aquatiques ornementaux* devrait suivre des protocoles appropriés pour assurer le bien-être des espèces transportées (par exemple, pour le conditionnement, la qualité de l'eau, la température, la densité de peuplement, la durée). Lorsque des protocoles existants ne sont pas disponibles, ils peuvent être élaborés en tenant compte des facteurs indiqués au chapitre 7.2. *Bien-être des poissons d'élevage pendant le transport* et devraient tenir compte d'autres exigences pendant le transport, par exemple le besoin d'inspection et de reconditionnement.

Des plans d'urgence doivent être élaborés afin d'identifier les éventuels événements néfastes pour le bien-être des animaux susceptibles de se produire pendant le transport, les procédures de gestion de chacun de ces événements, les mesures à prendre et les responsabilités des parties concernées.

(VERSION AVEC LES MARQUES DE RÉVISION)

CHAPITRE 8.1.

INFECTION À *BATRACHOCHYTRIUM DENDROBATIDIS*

[...]

Article 8.1.3.

Mesures pour l'importation ou le 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. dendrobatidis*

~~1) Il a été démontré que les produits issus d'animaux aquatiques suivants énumérés ci-dessous ont été évalués comme satisfaisaient aux critères d'évaluation de la sécurité des produits issus d'animaux aquatiques conformément à l'article 5.4.1. Lorsqu'elles autorisent, pour quelque usage que ce soit, l'importation ou le transit par leur territoire des de ces produits issus d'animaux aquatiques énumérés ci-dessous 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 de l'une des espèces visées à l'article 8.1.2. et que ces produits satisfont aux dispositions prévues à l'article 5.1.4., les Autorités compétentes ne doivent imposer aucune condition mesure sanitaire ayant trait à *B. dendrobatidis*, quel que soit le statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection à *B. dendrobatidis* :~~

1) produits issus d'animaux aquatiques ayant été soumis à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins 60°C pendant au moins cinq minutes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive *B. dendrobatidis* :

- 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. dendrobatidis*) et présentés en conditionnement hermétique ;~~
- b) ~~produits à base d'amphibiens cuits 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*) ;~~
- e) ~~produits à base d'amphibiens pasteurisés 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) ~~2) produits à base d'amphibiens séchés par un procédé mécanique (ayant subi été soumis à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins 100 °C 60°C pendant au moins 30 cinq minutes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive *B. dendrobatidis* toute combinaison de température et de temps dont l'équivalence a été démontrée en termes d'inactivation de *B. dendrobatidis*) ;~~

e) ~~2) cuir élaboré à partir de peau d'amphibien.~~

2) ~~Lorsqu'elles autorisent l'importation ou le transit par leur territoire de produits issus d'animaux aquatiques appartenant à l'une des espèces visées à l'article 8.1.2., autres que ceux visés au point 1 de l'article 8.1.3., les Autorités compétentes doivent imposer le respect des conditions prescrites aux articles 8.1.9. à 8.1.14. en fonction du statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection à *B. dendrobatidis*.~~

-
- 3) ~~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 8.1.2. mais dont on peut raisonnablement s'attendre à ce qu'ils posent un risque en termes de transmission de *B. dendrobatidis*, l'Autorité compétente doit procéder à une analyse des risques conformément aux recommandations contenues dans le chapitre 2.1. L'Autorité compétente du pays exportateur doit être tenue informée du résultat de cette analyse.~~

[...]

CHAPITRE 8.1.

INFECTION À *BATRACHOCHYTRIUM DENDROBATIDIS*

[...]

Article 8.1.3.

Mesures pour l'importation ou le 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. dendrobatidis*

Les *produits issus d'animaux aquatiques* énumérés ci-dessous ont été évalués comme satisfaisant aux critères d'évaluation de la sécurité des *produits issus d'animaux aquatiques* conformément à l'article 5.4.1. Lorsqu'elles autorisent l'importation ou le transit par leur *territoire* de ces *produits issus d'animaux aquatiques*, les *Autorités compétentes* ne doivent imposer aucune *mesure sanitaire* ayant trait à *B. dendrobatidis*, quel que soit le statut sanitaire du pays, de la zone ou du *compartiment* d'exportation au regard de l'infection à *B. dendrobatidis* :

- 1) *produits issus d'animaux aquatiques* ayant été soumis à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins 60°C pendant au moins cinq minutes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive *B. dendrobatidis* ;
- 2) cuir élaboré à partir de peau d'amphibien.

[...]

CHAPITRE 8.2

INFECTION À *BATRACHOCHYTRIUM SALAMANDRIVORANS*

[...]

Article 8.2.3.

Mesures pour l'importation ou le 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*

~~Il a été démontré que~~ Les produits issus d'animaux aquatiques suivants énumérés ci-dessous ont été évalués comme satisfaisaient aux critères d'évaluation de la sécurité des produits issus d'animaux aquatiques conformément à l'article 5.4.1. Lorsqu'elles autorisent, pour quelque usage que ce soit, l'importation ou le transit par leur territoire des ~~de ces~~ produits issus d'animaux aquatiques énumérés ci-dessous 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 de l'une des espèces visées à l'article 8.2.2. et que ces produits satisfont aux dispositions prévues à l'article 5.1.4., les Autorités compétentes ne doivent imposer aucune condition ~~mesure sanitaire~~ ayant trait à *B. salamandrivorans*, quel que soit le statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection à *B. salamandrivorans* :

- 1) produits issus d'animaux aquatiques ayant été soumis à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins 60°C pendant au moins cinq minutes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive *B. salamandrivorans* ;
 - 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 à base d'amphibiens cuits 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 à base d'amphibiens pasteurisés 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*) ;
 - d2) produits à base d'amphibiens séchés par un procédé mécanique (ayant subi été soumis à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins 100°C 60°C pendant au moins cinq minutes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive *B. salamandrivorans* toute combinaison de température et de temps dont l'équivalence a été démontrée en termes d'inactivation de *B. salamandrivorans*) ;
 - e32) cuir élaboré à partir de peau d'amphibien.
- 2) ~~Lorsqu'elles autorisent l'importation ou le transit par leur territoire de produits issus d'animaux aquatiques appartenant à l'une des espèces visées à l'article 8.2.2., autres que ceux visés au point 1 de l'article 8.2.3., les Autorités compétentes doivent imposer le respect des conditions prescrites aux articles 8.2.9. à 8.2.14. en fonction du statut sanitaire du pays exportateur ou de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection à *B. salamandrivorans*.~~

-
- 3) ~~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 8.2.2. 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. L'Autorité compétente doit procéder à une analyse des risques conformément aux recommandations contenues dans le chapitre 2.1.~~

[...]

(VERSION SANS LES MARQUES DE RÉVISION)

CHAPITRE 8.2.

INFECTION À *BATRACHOCHYTRIUM SALAMANDRIVORANS*

[...]

Article 8.2.3.

Mesures pour l'importation ou le 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*

Les *produits issus d'animaux aquatiques* énumérés ci-dessous ont été évalués comme satisfaisant aux critères d'évaluation de la sécurité des *produits issus d'animaux aquatiques* conformément à l'article 5.4.1. Lorsqu'elles autorisent l'importation ou le transit par leur territoire de ces *produits issus d'animaux aquatiques*, les *Autorités compétentes* ne doivent imposer aucune *mesure sanitaire* ayant trait à *B. salamandrivorans*, quel que soit le statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection à *B. salamandrivorans* :

- 1) *produits issus d'animaux aquatiques* ayant été soumis à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins 60°C pendant au moins cinq minutes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive *B. salamandrivorans* ;
- 2) cuir élaboré à partir de peau d'amphibien.

[...]

CHAPITRE 8.3.

INFECTION PAR LES ESPÈCES DU GENRE *RANAVIRUS*

[...]

Article 8.3.3.

Mesures pour l'importation ou le 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 par les espèces du genre *Ranavirus*

~~Il a été démontré que~~ Les produits issus d'animaux aquatiques suivants énumérés ci-dessous ont été évalués comme satisfaisaient aux critères d'évaluation de la sécurité des produits issus d'animaux aquatiques conformément à l'article 5.4.1. Lorsqu'elles autorisent, ~~pour quelque usage que ce soit,~~ l'importation ou le transit par leur territoire ~~des de ces produits issus d'animaux aquatiques énumérés ci-dessous 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 de l'une des espèces visées à l'article 8.3.2. et que ces produits satisfont aux dispositions prévues à l'article 5.1.4.,~~ les Autorités compétentes ne doivent imposer aucune condition mesure sanitaire ayant trait aux espèces du genre *Ranavirus*, quel que soit le statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection par les espèces du genre *Ranavirus* :

- 1) produits issus d'animaux aquatiques ayant été soumis à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins 65/60°C pendant au moins 30 minutes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive les espèces du genre *Ranavirus*;
 - 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 des espèces du genre *Ranavirus*) et présentés en conditionnement hermétique;~~
 - b) ~~produits à base d'amphibiens cuits ayant subi un traitement thermique à 65 °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 espèces du genre *Ranavirus*);~~
 - c) ~~produits à base d'amphibiens pasteurisés 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 espèces du genre *Ranavirus*);~~
 - d2) ~~produits à base d'amphibiens séchés par un procédé mécanique (ayant subi été soumis à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins 65°C 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 à un couple temps/température équivalent qui inactive les espèces du genre *Ranavirus*).~~
- 2) ~~Lorsqu'elles autorisent l'importation ou le transit par leur territoire de produits issus d'animaux aquatiques appartenant à l'une des espèces visées à l'article 8.3.2., autres que ceux visés au point 1 de l'article 8.3.3., les Autorités compétentes doivent imposer le respect des conditions prescrites aux articles 8.3.9. à 8.3.14. en fonction du statut sanitaire du pays exportateur ou de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection par les espèces du genre *Ranavirus*.~~

-
- 2) ~~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 8.3.2. mais dont on peut raisonnablement s'attendre à ce qu'ils posent un risque en termes de transmission des espèces du genre *Ranavirus*, l'Autorité compétente doit procéder à une analyse des risques conformément aux recommandations contenues dans le chapitre 2.1. L'Autorité compétente du pays exportateur doit être tenue informée du résultat de cette analyse.~~

[...]

(VERSION SANS LES MARQUES DE RÉVISION)

CHAPITRE 8.3.

INFECTION PAR LES ESPÈCES DU GENRE *RANAVIRUS*

[...]

Article 8.3.3.

Mesures pour l'importation ou le 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 par les espèces du genre *Ranavirus*

Les *produits issus d'animaux aquatiques* énumérés ci-dessous ont été évalués comme satisfaisant aux critères d'évaluation de la sécurité des *produits issus d'animaux aquatiques* conformément à l'article 5.4.1. Lorsqu'elles autorisent l'importation ou le transit par leur territoire de ces *produits issus d'animaux aquatiques*, les *Autorités compétentes* ne doivent imposer aucune *mesure sanitaire* ayant trait aux espèces du genre *Ranavirus*, quel que soit le statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection par les espèces du genre *Ranavirus* :

- 1) *produits issus d'animaux aquatiques* ayant été soumis à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins 60°C pendant au moins 30 minutes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive les espèces du genre *Ranavirus*.

[...]

CHAPITRE 9.3.

INFECTION PAR LE VIRUS 1 IRIDESCENT DES DÉCAPODES

[...]

Article 9.3.3.

Mesures pour l'importation ou le 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 par le virus 1 iridescent des décapodes

Les *produits issus d'animaux aquatiques* énumérés ci-dessous ont été évalués comme satisfaisant aux critères d'évaluation de la sécurité des *produits issus d'animaux aquatiques* conformément à l'article 5.4.1. Lorsqu'elles autorisent l'importation ou le transit par leur *territoire* de ces *produits issus d'animaux aquatiques*, les *Autorités compétentes* ne doivent imposer aucune *mesure sanitaire* ayant trait au virus 1 iridescent des décapodes, quel que soit le statut sanitaire du pays, de la zone ou du *compartiment* d'exportation au regard de l'infection par le virus 1 iridescent des décapodes :

- 1) ~~Les~~ *produits issus d'animaux aquatiques* ayant été soumis à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins ~~56~~68°C pendant au moins 30 minutes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive le virus 1 iridescent des décapodes ;
- 2) *farine* de crustacés ayant été soumise à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins ~~56~~68°C pendant au moins 30 minutes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive le virus 1 iridescent des décapodes ;
- 3) huile de crustacés ;
- 4) chitine extraite par un procédé chimique. ~~(à l'étude)~~

[...]

CHAPITRE 9.4.

INFECTION À *HEPATOBACTER PENAEI* (HEPATOPANCREATITE NECROSANTE)

[...]

Article 9.4.3.

Mesures pour l'importation ou le 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 *H. penaei*

Les *produits issus d'animaux aquatiques* énumérés ci-dessous ont été évalués comme satisfaisant aux critères d'évaluation de la sécurité des *produits issus d'animaux aquatiques* conformément à l'article 5.4.1. Lorsqu'elles autorisent l'importation ou le transit par leur territoire de ces *produits issus d'animaux aquatiques*, les *Autorités compétentes* ne doivent imposer aucune *mesure sanitaire* ayant trait à *H. penaei*, quel que soit le statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection à *H. penaei* :

- 1) *produits issus d'animaux aquatiques* ayant été soumis à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins ~~63~~95°C pendant au moins ~~30~~cinq minutes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive *H. penaei* ;
- 2) *farine* de crustacés ayant été soumise à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins ~~63~~95°C pendant au moins ~~30~~cinq minutes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive *H. penaei* ;
- 3) huile de crustacés ;
- 4) chitine extraite par un procédé chimique.

[...]

CHAPITRE 9.6.

INFECTION PAR LE VIRUS DE LA MYONÉCROSE INFECTIEUSE

[...]

Article 9.6.3.

Mesures pour l'importation ou le 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 par le virus de la myonécrose infectieuse

Les *produits issus d'animaux aquatiques* énumérés ci-dessous ont été évalués comme satisfaisant aux critères d'évaluation de la sécurité des *produits issus d'animaux aquatiques* conformément à l'article 5.4.1. Lorsqu'elles autorisent l'importation ou le transit par leur *territoire* de ces *produits issus d'animaux aquatiques*, les *Autorités compétentes* ne doivent imposer aucune *mesure sanitaire* ayant trait au virus de la myonécrose infectieuse, 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 myonécrose infectieuse :

- 1) *produits issus d'animaux aquatiques* ayant été soumis à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins ~~60~~75°C pendant au moins ~~60~~cinq minutes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive le virus de la myonécrose infectieuse ;
- 2) *farine* de crustacés ayant été soumise à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins ~~60~~75°C pendant au moins ~~60~~cinq minutes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive le virus de la myonécrose infectieuse ;
- 3) huile de crustacés ;
- 4) chitine extraite par un procédé chimique.

[...]

CHAPITRE 9.7.

INFECTION PAR LE NODAVIRUS DE *MACROBRACHIUM ROSENBERGII* (MALADIE DES QUEUES BLANCHES)

[...]

Article 9.7.3.

Mesures pour l'importation ou le 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 par le nodavirus de *Macrobrachium rosenbergii*

Les *produits issus d'animaux aquatiques* énumérés ci-dessous ont été évalués comme satisfaisant aux critères d'évaluation de la sécurité des *produits issus d'animaux aquatiques* conformément à l'article 5.4.1. Lorsqu'elles autorisent l'importation ou le transit par leur territoire de ces *produits issus d'animaux aquatiques*, les *Autorités compétentes* ne doivent imposer aucune *mesure sanitaire* ayant trait au nodavirus de *Macrobrachium rosenbergii*, quel que soit le statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection par le nodavirus de *Macrobrachium rosenbergii*:

- 1) *produits issus d'animaux aquatiques* ayant été soumis à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins ~~60~~50°C pendant au moins ~~60~~cinq minutes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive le nodavirus de *Macrobrachium rosenbergii*;
- 2) *farine* de crustacés ayant été soumise à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins ~~60~~50°C pendant au moins ~~60~~cinq minutes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive le nodavirus de *Macrobrachium rosenbergii*;
- 3) huile de crustacés;
- 4) chitine extraite par un procédé chimique.

[...]

CHAPITRE 9.8.

INFECTION PAR LE VIRUS DU SYNDROME DE TAURA

[...]

Article 9.8.3.

Mesures pour l'importation ou le 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 par le virus du syndrome de Taura

Les *produits issus d'animaux aquatiques* énumérés ci-dessous ont été évalués comme satisfaisant aux critères d'évaluation de la sécurité des *produits issus d'animaux aquatiques* conformément à l'article 5.4.1. Lorsqu'elles autorisent l'importation ou le transit par leur *territoire* de ces *produits issus d'animaux aquatiques*, les *Autorités compétentes* ne doivent imposer aucune *mesure sanitaire* ayant trait au virus du syndrome de Taura, quel que soit le statut sanitaire du pays, de la zone ou du *compartiment* d'exportation au regard de l'infection par le virus du syndrome de Taura :

- 1) *produits issus d'animaux aquatiques* ayant été soumis à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins 70°C pendant au moins ~~30~~108 minutes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive le virus du syndrome de Taura ;
- 2) *farine* de crustacés ayant été soumise à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins 70°C pendant au moins ~~30~~108 minutes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive le virus du syndrome de Taura ;
- 3) huile de crustacés ;
- 4) chitine extraite par un procédé chimique.

[...]

CHAPITRE 10.1.

INFECTION PAR LE VIRUS DE LA NÉCROSE HÉMATOPOÏÉTIQUE ÉPIZOOTIQUE

[...]

Article 10.1.3.

Mesures pour l'importation ou le 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 par le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique

Les *produits issus d'animaux aquatiques* énumérés ci-dessous ont été évalués comme satisfaisant aux critères d'évaluation de la sécurité des *produits issus d'animaux aquatiques* conformément à l'article 5.4.1. Lorsqu'elles autorisent l'importation ou le transit par leur *territoire* de ces *produits issus d'animaux aquatiques*, les *Autorités compétentes* ne doivent imposer aucune *mesure sanitaire* ayant trait au virus de la nécrose hématopoïétique épizootique, 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 épizootique :

- 1) *produits issus d'animaux aquatiques* ayant été soumis à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins 60°C pendant au moins 15 minutes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique ;
- 2) ~~poissons éviscérés et séchés par un procédé mécanique ayant été soumis à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins 60°C pendant au moins 15 minutes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique ;~~
- 32) farine de poisson ayant été soumise à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins 60°C pendant au moins 15 minutes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive le virus de la nécrose hématopoïétique épizootique ;
- 43) huile de poisson ;
- 54) cuir élaboré à partir de peau de poisson.

[...]

CHAPITRE 10.2.

INFECTION À *APHANOMYCES INVADANS* (SYNDROME ULCÉRATIF ÉPIZOOTIQUE)

[...]

Article 10.2.3.

Mesures pour l'importation ou le 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 *A. invadans*

Les *produits issus d'animaux aquatiques* énumérés ci-dessous ont été évalués comme satisfaisant aux critères d'évaluation de la sécurité des *produits issus d'animaux aquatiques* conformément à l'article 5.4.1. Lorsqu'elles autorisent l'importation ou le transit par leur territoire de ces *produits issus d'animaux aquatiques*, les *Autorités compétentes* ne doivent imposer aucune *mesure sanitaire* ayant trait à *A. invadans*, quel que soit le statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection à *A. invadans* :

- 1) *produits issus d'animaux aquatiques* ayant été soumis à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins ~~60~~100°C pendant au moins ~~cinq~~une minutes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive *A. invadans* ;
- 2) ~~poissons éviscérés et séchés par un procédé mécanique ayant été soumis à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins 60°C pendant au moins cinq minutes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive *A. invadans* ;~~
- 32) farine de poisson ayant été soumise à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins ~~60~~100°C pendant au moins ~~cinq~~une minutes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive *A. invadans* ;
- 43) huile de poisson ;
- 54) poissons éviscérés congelés ;
- 65) filets ou darnes / pavés de poisson congelés.

[...]

CHAPITRE 10.3.

INFECTION À *GYRODACTYLUS SALARIS*

[...]

Article 10.3.3.

Mesures pour l'importation ou le 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 *G. salaris*

Les *produits issus d'animaux aquatiques* énumérés ci-dessous ont été évalués comme satisfaisant aux critères d'évaluation de la sécurité des *produits issus d'animaux aquatiques* conformément à l'article 5.4.1. Lorsqu'elles autorisent l'importation ou le transit par leur territoire de ces *produits issus d'animaux aquatiques*, les *Autorités compétentes* ne doivent imposer aucune *mesure sanitaire* ayant trait à *G. salaris*, quel que soit le statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection à *G. salaris* :

- 1) ~~produits issus d'animaux aquatiques ayant subi un traitement thermique et qui sont présentés en conditionnement hermétique~~ ayant été soumis à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins 40°C pendant au moins une minute, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive *G. salaris* ;
- 2) ~~poissons éviscérés et séchés par un procédé mécanique ;~~
- 32) poissons éviscérés et séchés dans des conditions naturelles (c'est-à-dire à l'air ou au soleil) ;
- 43) poissons éviscérés et congelés ayant été soumis à des températures inférieures ou égales à moins 18 °C ;
- 54) filets ou darnes / pavés de poisson congelés ayant été soumis à des températures inférieures ou égales à moins 18 °C ;
- 65) poissons éviscérés réfrigérés ayant été pêchés dans une eau de mer de salinité supérieure ou égale à 25 ppt ;
- 76) filets ou darnes / pavés réfrigérés de poissons ayant été pêchés dans une eau de mer de salinité supérieure ou égale à 25 ppt ;
- 87) produits réfrigérés à base de poisson dont la peau, les arêtes et les nageoires ont été retirés ;
- 98) œufs de poisson non viables ;
- 109) huile de poisson ;
- 110) farine de poisson ;
- 121) cuir élaboré à partir de peau de poisson.

[...]

CHAPITRE 10.4.

INFECTION PAR LE VIRUS DE L'ANÉMIE INFECTIEUSE DU SAUMON

[...]

Article 10.4.3.

Mesures pour l'importation ou le 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 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 RHPO.

Les *produits issus d'animaux aquatiques* énumérés ci-dessous ont été évalués comme satisfaisant aux critères d'évaluation de la sécurité des *produits issus d'animaux aquatiques* conformément à l'article 5.4.1. Lorsqu'elles autorisent l'importation ou le transit par leur *territoire* de ces *produits issus d'animaux aquatiques*, les *Autorités compétentes* ne doivent imposer aucune *mesure sanitaire* ayant trait au virus de l'anémie infectieuse du saumon, 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 :

- 1) *produits issus d'animaux aquatiques* ayant été soumis à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins 56°C pendant au moins cinq minutes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive le virus de l'anémie infectieuse du saumon ;
- ~~2) poissons éviscérés et séchés par un procédé mécanique ayant été soumis à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins 56°C pendant au moins cinq minutes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive le virus de l'anémie infectieuse du saumon ;~~
- ~~32) farine~~ de poisson ayant été soumise à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins 56°C pendant au moins cinq minutes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive le virus de l'anémie infectieuse du saumon ;
- ~~43) huile~~ de poisson ;
- ~~54) cuir~~ élaboré à partir de peau de poisson.

[...]

CHAPITRE 10.5.

INFECTION PAR L'ALPHAVIRUS DES SALMONIDÉS

[...]

Article 10.5.3.

Mesures pour l'importation ou le 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 par l'alphavirus des salmonidés

Les *produits issus d'animaux aquatiques* énumérés ci-dessous ont été évalués comme satisfaisant aux critères d'évaluation de la sécurité des *produits issus d'animaux aquatiques* conformément à l'article 5.4.1. Lorsqu'elles autorisent l'importation ou le transit par leur territoire de ces *produits issus d'animaux aquatiques*, les *Autorités compétentes* ne doivent imposer aucune *mesure sanitaire* ayant trait à l'alphavirus des salmonidés, 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 :

- 1) *produits issus d'animaux aquatiques* ayant été soumis à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins 60°C pendant au moins 60 minutes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive l'alphavirus des salmonidés ;
- 2) ~~poissons éviscérés et séchés par un procédé mécanique ayant été soumis à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins 60°C pendant au moins 60 minutes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive l'alphavirus des salmonidés ;~~
- 32) farine de poisson ayant été soumise à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins 60°C pendant au moins 60 minutes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive l'alphavirus des salmonidés ;
- 43) huile de poisson ;
- 54) cuir élaboré à partir de peau de poisson.

[...]

CHAPITRE 10.6.

INFECTION PAR LE VIRUS DE LA NÉCROSE HÉMATOPOÏÉTIQUE INFECTIEUSE

[...]

Article 10.6.3.

Mesures pour l'importation ou le 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 par le virus de la nécrose hématopoïétique infectieuse

Les *produits issus d'animaux aquatiques* énumérés ci-dessous ont été évalués comme satisfaisant aux critères d'évaluation de la sécurité des *produits issus d'animaux aquatiques* conformément à l'article 5.4.1. Lorsqu'elles autorisent l'importation ou le transit par leur *territoire* de ces *produits issus d'animaux aquatiques*, les *Autorités compétentes* ne doivent imposer aucune *mesure sanitaire* ayant trait au virus de la nécrose hématopoïétique infectieuse, 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 :

- 1) *produits issus d'animaux aquatiques* ayant été soumis à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins 90°C pendant au moins 30 secondes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive le virus de la nécrose hématopoïétique infectieuse ;
- 2) ~~poissons éviscérés et séchés par un procédé mécanique ayant été soumis à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins 90°C pendant au moins 30 secondes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive le virus de la nécrose hématopoïétique infectieuse ;~~
- 32) farine de poisson ayant été soumise à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins 90°C pendant au moins 30 secondes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive le virus de la nécrose hématopoïétique infectieuse ;
- 43) huile de poisson ;
- 54) cuir élaboré à partir de peau de poisson.

[...]

CHAPITRE 10.7.

INFECTION PAR L'HERPESVIRUS DE LA CARPE KOÏ

[...]

Article 10.7.3.

Mesures pour l'importation ou le 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 par l'herpèsvirus de la carpe koï

Les *produits issus d'animaux aquatiques* énumérés ci-dessous ont été évalués comme satisfaisant aux critères d'évaluation de la sécurité des *produits issus d'animaux aquatiques* conformément à l'article 5.4.1. Lorsqu'elles autorisent l'importation ou le transit par leur territoire de ces *produits issus d'animaux aquatiques*, les *Autorités compétentes* ne doivent imposer aucune *mesure sanitaire* ayant trait à l'herpèsvirus de la carpe koï, 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 :

- 1) *produits issus d'animaux aquatiques* ayant été soumis à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins 50°C pendant au moins ~~trois~~une minutes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive l'herpèsvirus de la carpe koï ;
- 2) ~~poissons éviscérés et séchés par un procédé mécanique ayant été soumis à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins 50°C pendant au moins trois minutes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive l'herpèsvirus de la carpe koï ;~~
- 3) 2) farine de poisson ayant été soumise à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins 50°C pendant au moins ~~trois~~une minutes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive l'herpèsvirus de la carpe koï ;
- 4) 3) huile de poisson.

[...]

CHAPITRE 10.8.

INFECTION PAR L'IRIDOVIRUS DE LA DAURADE JAPONAISE

[...]

Article 10.8.3.

Mesures pour l'importation ou le 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 par l'iridovirus de la daurade japonaise

Les *produits issus d'animaux aquatiques* énumérés ci-dessous ont été évalués comme satisfaisant aux critères d'évaluation de la sécurité des *produits issus d'animaux aquatiques* conformément à l'article 5.4.1. Lorsqu'elles autorisent l'importation ou le transit par leur territoire de ces *produits issus d'animaux aquatiques*, les *Autorités compétentes* ne doivent imposer aucune *mesure sanitaire* ayant trait à l'iridovirus de la daurade japonaise, quel que soit le statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection par l'iridovirus de la daurade japonaise :

- 1) *produits issus d'animaux aquatiques* ayant été soumis à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins 56°C pendant au moins 30 minutes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive l'iridovirus de la daurade japonaise ;
- 2) ~~poissons éviscérés et séchés par un procédé mécanique ayant été soumis à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins 56°C pendant au moins 30 minutes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive l'iridovirus de la daurade japonaise ;~~
- 32) farine de poisson ayant été soumise à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins 56°C pendant au moins 30 minutes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive l'iridovirus de la daurade japonaise ;
- 43) huile de poisson ;
- 54) cuir élaboré à partir de peau de poisson.

[...]

CHAPITRE 10.9.

INFECTION PAR LE VIRUS DE LA VIRÉMIE PRINTANIÈRE DE LA CARPE

[...]

Article 10.9.3.

Mesures pour l'importation ou le 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 par le virus de la virémie printanière de la carpe

Les *produits issus d'animaux aquatiques* énumérés ci-dessous ont été évalués comme satisfaisant aux critères d'évaluation de la sécurité des *produits issus d'animaux aquatiques* conformément à l'article 5.4.1. Lorsqu'elles autorisent l'importation ou le transit par leur *territoire* de ces *produits issus d'animaux aquatiques*, les *Autorités compétentes* ne doivent imposer aucune *mesure sanitaire* ayant trait au virus de la virémie printanière de la carpe, 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 :

- 1) *produits issus d'animaux aquatiques* ayant été soumis à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins ~~90~~60°C pendant au moins 60 ~~secondes~~minutes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive le virus de la virémie printanière de la carpe ;
- 2) ~~poissons éviscérés et séchés par un procédé mécanique ayant été soumis à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins 90°C pendant au moins 60 secondes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive le virus de la virémie printanière de la carpe ;~~
- 3) 2 farine de poisson ayant été soumise à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins ~~90~~60°C pendant au moins 60 ~~secondes~~minutes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive le virus de la virémie printanière de la carpe ;
- 4) 3 huile de poisson.

[...]

CHAPITRE 10.10.

INFECTION PAR LE VIRUS DE LA SEPTICÉMIE HÉMORRAGIQUE VIRALE

[...]

Article 10.10.3.

Mesures pour l'importation ou le 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 par le virus de la septicémie hémorragique virale

Les *produits issus d'animaux aquatiques* énumérés ci-dessous ont été évalués comme satisfaisant aux critères d'évaluation de la sécurité des *produits issus d'animaux aquatiques* conformément à l'article 5.4.1. Lorsqu'elles autorisent l'importation ou le transit par leur territoire de ces *produits issus d'animaux aquatiques*, les *Autorités compétentes* ne doivent imposer aucune *mesure sanitaire* ayant trait au virus de la septicémie hémorragique virale, 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 :

- 1) *produits issus d'animaux aquatiques* ayant été soumis à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins ~~90~~60°C pendant au moins 60 ~~secondes~~minutes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive le virus de la septicémie hémorragique virale ;
- 2) ~~poissons éviscérés et séchés par un procédé mécanique ayant été soumis à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins 90°C pendant au moins 60 secondes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive le virus de la septicémie hémorragique virale ;~~
- 3) 2) farine de poisson ayant été soumise à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins ~~90~~60°C pendant au moins 60 ~~secondes~~minutes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive le virus de la septicémie hémorragique virale ;
- 4) 3) poissons éviscérés et séchés dans des conditions naturelles (c'est-à-dire à l'air ou au soleil) ;
- 5) 4) huile de poisson ;
- 6) 5) cuir élaboré à partir de peau de poisson.

[...]

CHAPITRE 10.11.

INFECTION PAR LE VIRUS DU TILAPIA LACUSTRE

[...]

Article 10.10.3.

Mesures pour l'importation ou le 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 par le virus de la septicémie hémorragique virale

Les *produits issus d'animaux aquatiques* énumérés ci-dessous ont été évalués comme satisfaisant aux critères d'évaluation de la sécurité des *produits issus d'animaux aquatiques* conformément à l'article 5.4.1. Lorsqu'elles autorisent l'importation ou le transit par leur territoire de ces *produits issus d'animaux aquatiques*, les *Autorités compétentes* ne doivent imposer aucune *mesure sanitaire* ayant trait au virus du tilapia lacustre, quel que soit le statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection par le virus du tilapia lacustre :

- 1) ~~Les~~ *produits issus d'animaux aquatiques* ayant été soumis à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins ~~56~~60°C pendant au moins ~~une~~120 minutes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive le virus du tilapia lacustre ;
- 2) *farine de poisson* ayant été soumise à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins ~~56~~60°C pendant au moins ~~une~~120 minutes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive le virus du tilapia lacustre ~~(à l'étude)~~ ;
- 3) poissons éviscérés et séchés dans des conditions naturelles (c'est-à-dire à l'air ou au soleil) ;
- 4) huile de poisson ;
- 5) cuir élaboré à partir de peau de poisson.

[...]

(VERSION AVEC LES MARQUES DE RÉVISION)

CHAPITRE 11.1.

INFECTION PAR L'HERPÈSVIRUS DE L'ORMEAU

[...]

Article 11.1.3.

Mesures pour l'importation ou le 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 par l'herpèsvirus de l'ormeau

~~1) Les produits issus d'animaux aquatiques énumérés ci-dessous ont été évalués comme satisfaisant aux critères de l'évaluation de la sécurité des produits issus d'animaux aquatiques conformément à l'article 5.4.1. Lorsqu'elles autorisent, pour quelque usage que ce soit, l'importation ou le transit par leur territoire des de ces produits issus d'animaux aquatiques énumérés ci-dessous 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 de l'une des espèces visées à l'article 11.1.2. et que ces produits satisfont aux dispositions prévues à l'article 5.4.1., les Autorités compétentes ne doivent imposer aucune condition mesure sanitaire ayant trait à l'herpèsvirus de l'ormeau, 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 l'ormeau :~~

- ~~1) produits issus d'animaux aquatiques ayant été soumis à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins 121,50°C pendant au moins 3 cinq minutes et 36 secondes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive l'herpèsvirus de l'ormeau. ;~~
 - a) produits à base d'ormeaux 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) et présentés dans un conditionnement hermétique ;
 - b2) produits à base d'ormeaux 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 l'ormeau) ayant été soumis à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins 121°C pendant au moins 3 minutes et 36 secondes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive l'herpèsvirus de l'ormeau.
- 2) Lorsqu'elles autorisent l'importation ou le transit par leur territoire d'animaux aquatiques ou de produits issus d'animaux aquatiques appartenant à une espèce visée à l'article 11.1.2. autres que ceux énumérés au point 1 de l'article 11.1.3., les Autorités compétentes doivent exiger le respect des conditions prescrites par les articles 11.1.7. à 11.1.11. en fonction du statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection par l'herpèsvirus de l'ormeau.
- 3) L'Autorité compétente doit procéder à une analyse des risques conformément aux recommandations contenues dans le 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 11.1.2., mais dont on peut raisonnablement s'attendre à ce qu'ils posent un risque en termes de propagation de l'infection par l'herpèsvirus de l'ormeau. L'Autorité compétente du pays exportateur doit être tenue informée du résultat de cette analyse.

[...]

(VERSION SANS LES MARQUES DE RÉVISION)

CHAPITRE 11.1.

INFECTION PAR L'HERPÈSVIRUS DE L'ORMEAU

[...]

Article 11.1.3.

Mesures pour l'importation ou le 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 par l'herpèsvirus de l'ormeau

Les *produits issus d'animaux aquatiques* énumérés ci-dessous ont été évalués comme satisfaisant aux critères d'évaluation de la sécurité des *produits issus d'animaux aquatiques* conformément à l'article 5.4.1. Lorsqu'elles autorisent l'importation ou le transit par leur territoire de ces *produits issus d'animaux aquatiques*, les *Autorités compétentes* ne doivent imposer aucune *mesure sanitaire* ayant trait à l'herpèsvirus de l'ormeau, 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 l'ormeau :

- 1) *produits issus d'animaux aquatiques* ayant été soumis à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins 50°C pendant au moins cinq minutes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive l'herpèsvirus de l'ormeau.

[...]

CHAPITRE 11.2.

INFECTION À *BONAMIA EXITIOSA*

[...]

Article 11.2.3.

Mesures pour l'importation ou le 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. exitiosa*

~~1) Les produits issus d'animaux aquatiques énumérés ci-dessous ont été évalués comme satisfaisant aux critères de l'évaluation de la sécurité des produits issus d'animaux aquatiques conformément à l'article 5.4.1. Lorsqu'elles autorisent, pour quelque usage que ce soit, l'importation ou le transit par leur territoire des de ces produits issus d'animaux aquatiques énumérés ci-dessous 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 de l'une des espèces visées à l'article 11.2.2. et que ces produits satisfont aux dispositions prévues à l'article 5.4.1., les Autorités compétentes ne doivent imposer aucune condition mesure sanitaire ayant trait à *B. exitiosa*, quel que soit le statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection à *B. exitiosa* :~~

- ~~1) produits issus d'animaux aquatiques ayant été soumis à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins 100°C pendant au moins 15 minutes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive *B. exitiosa* ;~~
- ~~a)2) chair d'huître à l'état congelé ; et~~
- ~~b)3) huîtres congelées en demi-coquille.~~
- ~~2) Lorsqu'elles autorisent l'importation ou le transit par leur territoire d'animaux aquatiques ou de produits issus d'animaux aquatiques appartenant à une espèce visée à l'article 11.2.2. autres que ceux énumérés au point 1 de l'article 11.2.3., les Autorités compétentes doivent exiger le respect des conditions prescrites par les articles 11.2.7. à 11.2.11. en fonction du statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection à *B. exitiosa*.~~
- ~~3) L'Autorité compétente doit procéder à une analyse des risques conformément aux recommandations contenues dans le 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 11.2.2., mais dont on peut raisonnablement s'attendre à ce qu'ils posent un risque en termes de propagation de l'infection à *B. exitiosa*. L'Autorité compétente du pays exportateur doit être tenue informée du résultat de cette analyse.~~

[...]

(VERSION SANS LES MARQUES DE RÉVISION)

CHAPITRE 11.2.

INFECTION À *BONAMIA EXITIOSA*

[...]

Article 11.2.3.

Mesures pour l'importation ou le 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. exitiosa*

Les *produits issus d'animaux aquatiques* énumérés ci-dessous ont été évalués comme satisfaisant aux critères d'évaluation de la sécurité des *produits issus d'animaux aquatiques* conformément à l'article 5.4.1. Lorsqu'elles autorisent l'importation ou le transit par leur territoire de ces *produits issus d'animaux aquatiques*, les *Autorités compétentes* ne doivent imposer aucune *mesure sanitaire* ayant trait à *B. exitiosa*, quel que soit le statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection à *B. exitiosa* :

- 1) *produits issus d'animaux aquatiques* ayant été soumis à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins 100°C pendant au moins 15 minutes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive *B. exitiosa* ;
- 2) chair d'huître à l'état congelé ;
- 3) huîtres congelées en demi-coquille.

[...]

CHAPITRE 11.3.

INFECTION À *BONAMIA OSTREAE*

[...]

Article 11.3.3.

Mesures pour l'importation ou le 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. ostreae*

~~1) Les produits issus d'animaux aquatiques énumérés ci-dessous ont été évalués comme satisfaisant aux critères de l'évaluation de la sécurité des produits issus d'animaux aquatiques conformément à l'article 5.4.1. Lorsqu'elles autorisent, pour quelque usage que ce soit, l'importation ou le transit par leur territoire des de ces produits issus d'animaux aquatiques énumérés ci-dessous 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 de l'une des espèces visées à l'article 11.3.2. et que ces produits satisfont aux dispositions prévues à l'article 5.4.1., les Autorités compétentes ne doivent imposer aucune condition mesure sanitaire ayant trait à *B. ostreae*, quel que soit le statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection à *B. ostreae*:~~

~~1) produits issus d'animaux aquatiques ayant été soumis à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins 100°C pendant au moins 15 minutes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive *B. ostreae*;~~

~~a) 12) chair d'huître à l'état congelé ; ,et~~

~~b) 23) huîtres congelées en demi-coquille.~~

~~2) Lorsqu'elles autorisent l'importation ou le transit par leur territoire d'animaux aquatiques ou de produits issus d'animaux aquatiques appartenant à une espèce visée à l'article 11.3.2. autres que ceux énumérés au point 1 de l'article 11.3.3., les Autorités compétentes doivent exiger le respect des conditions prescrites dans les articles 11.3.7. à 11.3.11. en fonction du statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection à *B. ostreae*.~~

~~3) L'Autorité compétente doit procéder à une analyse des risques conformément aux recommandations contenues dans le 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 11.3.2., mais dont on peut raisonnablement s'attendre à ce qu'ils posent un risque en termes de propagation de l'infection à *B. ostreae*. L'Autorité compétente du pays exportateur doit être tenue informée du résultat de cette analyse.~~

[...]

(VERSION SANS LES MARQUES DE RÉVISION)

CHAPITRE 11.3.

INFECTION À *BONAMIA OSTREAE*

[...]

Article 11.3.3.

Mesures pour l'importation ou le 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. ostreae*

Les *produits issus d'animaux aquatiques* énumérés ci-dessous ont été évalués comme satisfaisant aux critères d'évaluation de la sécurité des *produits issus d'animaux aquatiques* conformément à l'article 5.4.1. Lorsqu'elles autorisent l'importation ou le transit par leur territoire de ces *produits issus d'animaux aquatiques*, les *Autorités compétentes* ne doivent imposer aucune *mesure sanitaire* ayant trait à *B. ostreae*, quel que soit le statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection à *B. ostreae* :

- 1) *produits issus d'animaux aquatiques* ayant été soumis à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins 100°C pendant au moins 15 minutes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive *B. ostreae* ;
- 2) chair d'huître à l'état congelé ;
- 3) huîtres congelées en demi-coquille.

[...]

CHAPITRE 11.4.

INFECTION À *MARTEILIA REFRINGENS*

[...]

Article 11.4.3.

Mesures pour l'importation ou le 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 *M. refringens*

~~1) Les produits issus d'animaux aquatiques énumérés ci-dessous ont été évalués comme satisfaisant aux critères de l'évaluation de la sécurité des produits issus d'animaux aquatiques conformément à l'article 5.4.1. Lorsqu'elles autorisent, pour quelque usage que ce soit, l'importation ou le transit par leur territoire des de ces produits issus d'animaux aquatiques énumérés ci-dessous 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 de l'une des espèces visées à l'article 11.4.2. et que ces produits satisfont aux dispositions prévues à l'article 5.4.1., les Autorités compétentes ne doivent imposer aucune condition mesure sanitaire ayant trait à *M. refringens*, quel que soit le statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection à *M. refringens* :~~

- ~~1) produits issus d'animaux aquatiques ayant été soumis à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins 121°C pendant au moins trois3 minutes et 36 secondes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive *M. refringens*.~~
- ~~2) Lorsqu'elles autorisent l'importation ou le transit par leur territoire d'animaux aquatiques ou de produits issus d'animaux aquatiques appartenant à une espèce visée à l'article 11.4.2. autres que ceux mentionnés au point 1 de l'article 11.4.3., les Autorités compétentes doivent exiger le respect des conditions prescrites par les articles 11.4.7. à 11.4.11. en fonction du statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection à *M. refringens*.~~
- ~~3) L'Autorité compétente doit procéder à une analyse des risques conformément aux recommandations contenues dans le 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 11.4.2., mais dont on peut raisonnablement s'attendre à ce qu'ils posent un risque en termes de propagation de l'infection à *M. refringens*. L'Autorité compétente du pays exportateur doit être tenue informée du résultat de cette analyse.~~

[...]

(VERSION SANS LES MARQUES DE RÉVISION)

CHAPITRE 11.4.

INFECTION À *MARTEILIA REFRINGENS*

[...]

Article 11.4.3.

Mesures pour l'importation ou le 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 *M. refringens*

Les *produits issus d'animaux aquatiques* énumérés ci-dessous ont été évalués comme satisfaisant aux critères d'évaluation de la sécurité des *produits issus d'animaux aquatiques* conformément à l'article 5.4.1. Lorsqu'elles autorisent l'importation ou le transit par leur territoire de ces *produits issus d'animaux aquatiques*, les *Autorités compétentes* ne doivent imposer aucune *mesure sanitaire* ayant trait à *M. refringens*, quel que soit le statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection à *M. refringens*:

- 1) *produits issus d'animaux aquatiques* ayant été soumis à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins 121°C pendant au moins trois minutes et 36 secondes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive *M. refringens*.

[...]

CHAPITRE 11.5.

INFECTION À *PERKINSUS MARINUS*

[...]

Article 11.5.3.

Mesures pour l'importation ou le 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 *P. marinus*

~~1) Les produits issus d'animaux aquatiques énumérés ci-dessous ont été évalués comme satisfaisant aux critères de l'évaluation de la sécurité des produits issus d'animaux aquatiques conformément à l'article 5.4.1. Lorsqu'elles autorisent, pour quelque usage que ce soit, l'importation ou le transit par leur territoire des de ces produits issus d'animaux aquatiques énumérés ci-dessous 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 de l'une des espèces visées à l'article 11.5.2. et que ces produits satisfont aux dispositions prévues à l'article 5.4.1., les Autorités compétentes ne doivent imposer aucune condition mesure sanitaire ayant trait à *P. marinus*, quel que soit le statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection à *P. marinus* :~~

- ~~1) produits issus d'animaux aquatiques ayant été soumis à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins 12160°C pendant au moins 360 minutes et 36 secondes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive *P. marinus*.~~
- ~~2) Lorsqu'elles autorisent l'importation ou le transit par leur territoire d'animaux aquatiques ou de produits issus d'animaux aquatiques appartenant à une espèce visée à l'article 11.5.2. autres que ceux énumérés au point 1 de l'article 11.5.3., les Autorités compétentes doivent exiger le respect des conditions prescrites par les articles 11.5.7. à 11.5.11. en fonction du statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection à *P. marinus*.~~
- ~~3) L'Autorité compétente doit procéder à une analyse des risques conformément aux recommandations contenues dans le 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 11.5.2., mais dont on peut raisonnablement s'attendre à ce qu'ils posent un risque en termes de propagation de l'infection à *P. marinus*. L'Autorité compétente du pays exportateur doit être tenue informée du résultat de cette analyse.~~

[...]

(VERSION SANS LES MARQUES DE RÉVISION)

CHAPITRE 11.5.

INFECTION À *PERKINSUS MARINUS*

[...]

Article 11.5.3.

Mesures pour l'importation ou le 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 *P. marinus*

Les *produits issus d'animaux aquatiques* énumérés ci-dessous ont été évalués comme satisfaisant aux critères d'évaluation de la sécurité des *produits issus d'animaux aquatiques* conformément à l'article 5.4.1. Lorsqu'elles autorisent l'importation ou le transit par leur territoire de ces *produits issus d'animaux aquatiques*, les *Autorités compétentes* ne doivent imposer aucune *mesure sanitaire* ayant trait à *P. marinus*, quel que soit le statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection à *P. marinus* :

- 1) *produits issus d'animaux aquatiques* ayant été soumis à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins 60°C pendant au moins 60 minutes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive *P. marinus*.

[...]

CHAPITRE 11.6.

INFECTION À *PERKINSUS OLSENI*

[...]

Article 11.6.3.

Mesures pour l'importation ou le 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 *P. olsenii*

~~1) Les produits issus d'animaux aquatiques énumérés ci-dessous ont été évalués comme satisfaisant aux critères de l'évaluation de la sécurité des produits issus d'animaux aquatiques conformément à l'article 5.4.1. Lorsqu'elles autorisent, pour quelque usage que ce soit, l'importation ou le transit par leur territoire des de ces produits issus d'animaux aquatiques énumérés ci-dessous 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 de l'une des espèces visées à l'article 11.6.2. et que ces produits satisfont aux dispositions prévues à l'article 5.4.1., les Autorités compétentes ne doivent imposer aucune condition mesure sanitaire ayant trait à *P. olsenii*, quel que soit le statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection à *P. olsenii* :~~

- ~~1) produits issus d'animaux aquatiques ayant été soumis à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins 12160°C pendant au moins 360 minutes et 36 secondes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive *P. olsenii*.~~
- ~~2) Lorsqu'elles autorisent l'importation ou le transit par leur territoire d'animaux aquatiques ou de produits issus d'animaux aquatiques appartenant à une espèce visée à l'article 11.6.2. autres que ceux énumérés au point 1 de l'article 11.6.3., les Autorités compétentes doivent exiger le respect des conditions prescrites par les articles 11.6.7. à 11.6.11. en fonction du statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection à *P. olsenii*.~~
- ~~3) L'Autorité compétente doit procéder à une analyse des risques conformément aux recommandations contenues dans le 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 11.6.2., mais dont on peut raisonnablement s'attendre à ce qu'ils posent un risque en termes de propagation de l'infection à *P. olsenii*. L'Autorité compétente du pays exportateur doit être tenue informée du résultat de cette analyse.~~

[...]

(VERSION SANS LES MARQUES DE RÉVISION)

CHAPITRE 11.6.

INFECTION À *PERKINSUS OLSENI*

[...]

Article 11.6.3.

Mesures pour l'importation ou le 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 *P. olsenii*

Les *produits issus d'animaux aquatiques* énumérés ci-dessous ont été évalués comme satisfaisant aux critères d'évaluation de la sécurité des *produits issus d'animaux aquatiques* conformément à l'article 5.4.1. Lorsqu'elles autorisent l'importation ou le transit par leur territoire de ces *produits issus d'animaux aquatiques*, les *Autorités compétentes* ne doivent imposer aucune *mesure sanitaire* ayant trait à *P. olsenii*, quel que soit le statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection à *P. olsenii* :

- 1) *produits issus d'animaux aquatiques* ayant été soumis à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins 60°C pendant au moins 60 minutes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive *P. olsenii*.

[...]

CHAPITRE 11.7.

INFECTION À *XENOHALIOTIS CALIFORNIENSIS*

[...]

Article 11.7.3.

Mesures pour l'importation ou le 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 *X. californiensis*

~~1) Les produits issus d'animaux aquatiques énumérés ci-dessous ont été évalués comme satisfaisant aux critères de l'évaluation de la sécurité des produits issus d'animaux aquatiques conformément à l'article 5.4.1. Lorsqu'elles autorisent, pour quelque usage que ce soit, l'importation ou le transit par leur territoire des de ces produits issus d'animaux aquatiques énumérés ci-dessous 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 de l'une des espèces visées à l'article 11.7.2. et que ces produits satisfont aux dispositions prévues à l'article 5.4.1., les Autorités compétentes ne doivent imposer aucune condition mesure sanitaire ayant trait à *X. californiensis*, quel que soit le statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection à *X. californiensis* :~~

- ~~1) produits issus d'animaux aquatiques ayant été soumis à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins 12195°C pendant au moins 3cinq minutes et 36 secondes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive *X. californiensis*.~~
- ~~2) Lorsqu'elles autorisent l'importation ou le transit par leur territoire d'animaux aquatiques ou de produits issus d'animaux aquatiques appartenant à une espèce visée à l'article 11.7.2. autres que ceux énumérés au point 1 de l'article 11.7.3., les Autorités compétentes doivent exiger le respect des conditions prescrites par les articles 11.7.7. à 11.7.11. en fonction du statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection à *X. californiensis*.~~
- ~~3) L'Autorité compétente doit procéder à une analyse des risques conformément aux recommandations contenues dans le 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 11.7.2., mais dont on peut raisonnablement s'attendre à ce qu'ils posent un risque en termes de propagation de l'infection à *X. californiensis*. L'Autorité compétente du pays exportateur doit être tenue informée du résultat de cette analyse.~~

[...]

(VERSION SANS LES MARQUES DE RÉVISION)

CHAPITRE 11.7.

INFECTION À *XENOHALIOTIS CALIFORNIENSIS*

[...]

Article 11.7.3.

Mesures pour l'importation ou le 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 *X. californiensis*

Les *produits issus d'animaux aquatiques* énumérés ci-dessous ont été évalués comme satisfaisant aux critères d'évaluation de la sécurité des *produits issus d'animaux aquatiques* conformément à l'article 5.4.1. Lorsqu'elles autorisent l'importation ou le transit par leur territoire de ces *produits issus d'animaux aquatiques*, les *Autorités compétentes* ne doivent imposer aucune *mesure sanitaire* ayant trait à *X. californiensis*, quel que soit le statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'infection à *X. californiensis* :

- 1) *produits issus d'animaux aquatiques* ayant été soumis à un traitement thermique suffisant pour atteindre une température à cœur d'au moins 95°C pendant au moins cinq minutes, ou à un couple temps/température équivalent qui inactive *X. californiensis*.

[...]

Modèles d'articles X.X.5. et X.X.6. destinés aux chapitres spécifiques aux maladies

CHAPITRE X.X.

INFECTION PAR [L'AGENT PATHOGÈNE X]

[...]

Article X.X.5.

Pays indemne d'infection par [l'agent pathogène X]

En cas de partage des étendues d'eau avec d'autres pays, un pays ne peut déposer une auto-déclaration d'absence d'infection par [l'agent pathogène X] que si toutes les étendues d'eau partagées sont situées dans des pays ou des zones déclarés indemnes de cette *infection* (voir l'article X.X.6.).

Comme indiqué dans l'article 1.4.4., un État membre peut déposer une auto-déclaration d'absence d'infection par [l'agent pathogène X] pour l'ensemble de son territoire s'il peut démontrer :

- 1) qu'aucune des espèces sensibles visées à l'article X.X.2. n'est présente dans le pays et que les conditions élémentaires de sécurité biologique sont réunies sans discontinuer depuis au moins [six mois] ;

OU

- 2) qu'aucune infection par [l'agent pathogène X] n'est apparue depuis au moins [10] ans, et :
 - a) que l'État membre peut démontrer que les conditions propices à l'expression clinique de l'infection par [l'agent pathogène X] sont réunies, comme indiqué au chapitre correspondant du *Manuel aquatique*, et
 - b) que les conditions élémentaires de sécurité biologique telles que décrites dans le chapitre 1.4. sont réunies sans discontinuer depuis au moins [10] ans ;

OU

- 3) qu'une surveillance ciblée, comme décrit au chapitre 1.4., est mise en œuvre depuis au moins [deux] ans sans que la présence de [l'agent pathogène X] ait été décelée, et que les conditions élémentaires de sécurité biologique ont été réunies sans discontinuer et mises en œuvre au moins [un] an avant le commencement de la surveillance ciblée ;

OU

- 4) que le pays, après avoir déposé une auto-déclaration d'absence d'infection par [l'agent pathogène X], a perdu son statut indemne par suite de la détection du virus du tilapia lacustre, mais que les conditions suivantes sont remplies :
 - a) dès la détection de [l'agent pathogène X], le secteur touché a été déclaré zone infectée et une zone de protection a été établie, et
 - b) les populations touchées par l'infection de la zone infectée ont été abattues et éliminées par des moyens réduisant autant que possible la probabilité de nouvelle transmission de [l'agent pathogène X], et les

opérations appropriées de *désinfection* (décrites au chapitre 4.4.) ont été menées à bien et suivies d'une période de *vide sanitaire* comme indiqué au chapitre 4.7., 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 [l'agent pathogène X], et
- d) une *surveillance ciblée*, comme décrit au chapitre 1.4., est exercée :
 - i) depuis au moins [deux] ans sur les espèces *sensibles* d'élevage et sauvages sans que la présence de [l'agent pathogène X] ait été décelée, ou
 - ii) depuis au moins [un] an sans que la présence de [l'agent pathogène X] ait été décelée dans le cas où les *établissements d'aquaculture* touchés ne présentent aucun lien épidémiologique avec des populations sauvages d'espèces *sensibles*.

~~Entre-temps, tout ou partie du pays, à l'exclusion des zones infectées et des zones de protection, la partie du pays, à l'exclusion de la zone infectée et de la zone de protection, peut être déclarée zone indemne sous réserve que les conditions énoncées au point 2 de l'article X.X.6. soient remplies comme indiqué dans l'article 1.4.4.~~

Article X.X.6.

Zone indemne d'infection par [l'agent pathogène X]

En cas d'extension au-delà du *territoire* de plus d'un pays, une zone ne peut être déclarée indemne d'infection par [l'agent pathogène X] que si l'ensemble des *Autorités compétentes* concernées confirment que toutes les conditions voulues sont remplies.

Comme indiqué dans l'article 1.4.4., un État membre peut déposer une auto-déclaration d'absence d'infection par [l'agent pathogène X] pour une zone établie sur son *territoire* s'il peut démontrer :

- 1) qu'aucune des espèces *sensibles* visées à l'article X.X.2. n'est présente et que les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins [six mois] ;

OU

- 2) qu'aucune infection par [l'agent pathogène X] n'est apparue depuis au moins [dix] ans, et :
 - a) que l'État membre peut démontrer que les conditions propices à l'expression clinique de l'infection par [l'agent pathogène X] sont réunies, comme décrit à l'article 1.4.8. du chapitre 1.4., et
 - b) que les *conditions élémentaires de sécurité biologique* telles que décrites dans le chapitre 1.4. sont réunies sans discontinuer dans la zone depuis au moins [dix] ans ;

OU

- 3) qu'une *surveillance ciblée*, comme décrit au chapitre 1.4., est mise en œuvre dans la zone depuis au moins [deux] ans sans que la présence de [l'agent pathogène X] ait été décelée, et que les *conditions élémentaires de sécurité biologique* ont été réunies sans discontinuer et mises en œuvre au moins [un] an avant le commencement de la *surveillance ciblée* ;

OU

- 4) que le pays, après avoir déposé une auto-déclaration d'absence d'infection par [l'agent pathogène X] pour une zone, a perdu son statut indemne par suite de la détection de [l'agent pathogène X] dans cette zone, mais que les conditions suivantes sont remplies :

-
- a) dès la détection de [l'agent pathogène X], le secteur touché a été déclaré *zone infectée* et une *zone de protection* a été établie, et
 - b) les populations touchées par l'*infection* de la *zone infectée* ont été abattues et éliminées par des moyens réduisant autant que possible la probabilité de nouvelle transmission de [l'agent pathogène X], et les opérations appropriées de *désinfection* (décrites au chapitre 4.4.) ont été menées à bien et suivies d'une période de *vide sanitaire* comme indiqué au chapitre 4.7., 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 [l'agent pathogène X], et
 - d) une *surveillance ciblée*, comme décrit au chapitre 1.4., est mise en œuvre depuis au moins [deux] ans sans que la présence de [l'agent pathogène X] ait été décelée.

Entre-temps, une partie de la zone, à l'exclusion de la zone infectée et de la zone de protection, peut être déclarée comme une nouvelle zone indemne comme indiqué dans l'article 1.4.4.

[...]

CHAPITRE 9.3.

INFECTION PAR LE VIRUS 1 IRIDESCENT DES DÉCAPODES

[...]

Article 9.3.2.

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. : la crevette charnue (*Penaeus chinensis*), le crabe gazami (*Portunus trituberculatus*), le bouquet géant (*Macrobrachium rosenbergii*), la crevette kuruma (*Penaeus japonicus*), le bouquet nippon (*Macrobrachium nipponense*), *Cherax quadricarinatus*, l'écrevisse rouge de marais (*Procambarus clarkii*), le bouquet quille (*Exopalaemon carinicauda*) et la crevette pattes blanches (*Penaeus vannamei*), la crevette géante tigrée (*Penaeus monodon*), *Cherax quadricarinatus*, le bouquet géant (*Macrobrachium rosenbergii*), l'écrevisse rouge des marais (*Procambarus clarkii*), le bouquet nippon (*Macrobrachium nipponense*) et le bouquet quille (*Exopalaemon carinicauda*) (à l'étude).

[...]

CHAPTER 10.6.

INFECTION PAR LE VIRUS DE LA NECROSE HEMATOPOÏETIQUE INFECTIEUSE

[...]

Article 10.6.2.

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. : l'omble chevalier (*Salvelinus alpinus*), le saumon de l'Atlantique (*Salmo salar*), le saumon de fontaine (*Salvelinus fontinalis*), la truite de mer (*Salmo trutta*), le saumon royal (*Oncorhynchus tshawytscha*), le saumon chien (*Oncorhynchus keta*), le saumon coho (*Oncorhynchus kisutch*), la truite cutthroat (*Oncorhynchus clarkii*), l'omble du Canada (*Salvelinus namaycush*), le saumon du Japon (*Oncorhynchus masou*), la truite marbrée (*Salmo marmoratus*), le brochet du Nord (*Esox lucius*), la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) et le saumon rouge (*Oncorhynchus nerka*).

<u>Famille</u>	<u>Nom scientifique</u>	<u>Nom vernaculaire</u>
<u>Esocidae</u>	<u><i>Esox lucius</i></u>	<u>brochet du Nord</u>
<u>Salmonidae</u>	<u><i>Oncorhynchus clarkii</i></u>	<u>truite cutthroat</u>
	<u><i>Oncorhynchus keta</i></u>	<u>saumon chien</u>
	<u><i>Oncorhynchus kisutch</i></u>	<u>saumon coho</u>
	<u><i>Oncorhynchus masou</i></u>	<u>saumon du Japon</u>
	<u><i>Oncorhynchus mykiss</i></u>	<u>truite arc-en-ciel</u>
	<u><i>Oncorhynchus nerka</i></u>	<u>saumon rouge</u>
	<u><i>Oncorhynchus tshawytscha</i></u>	<u>saumon royal</u>
	<u><i>Salmo marmoratus</i></u>	<u>truite marbrée</u>
	<u><i>Salmo salar</i></u>	<u>saumon de l'Atlantique</u>
	<u><i>Salmo trutta</i></u>	<u>truite de mer</u>
	<u><i>Salvelinus alpinus</i></u>	<u>omble chevalier</u>
	<u><i>Salvelinus fontinalis</i></u>	<u>saumon de fontaine</u>
	<u><i>Salvelinus namaycush</i></u>	<u>omble du Canada</u>

[...]

CHAPTER 10.11.

INFECTION PAR LE VIRUS DU TILAPIA LACUSTRE

[...]

Article 10.11.2.

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. : ~~[Oreochromis aureus, Oreochromis aureus X Oreochromis niloticus, Sarotherodon galilaeus, tilapia du Mozambique (Oreochromis mossambicus), tilapia du Nil (Oreochromis niloticus) et Oreochromis niloticus x Oreochromis mossambicus, Sarotherodon galilaeus, Tilapia du Mozambique (Oreochromis mossambicus), Oreochromis niloticus, Tilapia zilli, Barbonymus schwanenfeldii, Tristramella simonis et Oreochromis niloticus X Oreochromis aureus]~~ (à l'étude).

[...]

CHAPITRE 11.5.

INFECTION À *PERKINSUS MARINUS*

Article 11.5.1.

Aux fins du Code aquatique, l'expression « infection à *Perkinsus marinus* » désigne une infection causée exclusivement par l'agent pathogène *P. marinus* appartenant à la famille Perkinsidae.

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

Article 11.5.2.

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. : à l'huître creuse américaine (*Crassostrea virginica*), à l'huître du Pacifique (*Crassostrea gigas*), à l'huître de Suminoe (*Crassostrea ariakensis*), à *Mya arenaria*, à *Macoma balthica*, à *Magallana* [Syn. *Crassostrea*] *ariakensis*, à l'huître creuse de Cortez (*Crassostrea corteziensis*) et à l'huître palmée (*Saccostrea palmula*) la praire (*Mercenaria mercenaria*). Ces recommandations concernent également toutes les autres espèces sensibles visées dans le Manuel aquatique lorsqu'elles font l'objet d'échanges internationaux.

[...]

SECTION 2.2.

DISEASES OF CRUSTACEANS

CHAPTER 2.2.0.

GENERAL INFORMATION

A. SAMPLING

1. Assessing the health status of the epidemiological unit

1.1. Sample material to be used for tests

Sample material and the number of samples to be collected depend on the specific disease or pathogen, the size of animals and the objective of testing (i.e. surveillance of apparently healthy animals, presumptive diagnosis of clinically affected animals or confirmatory diagnosis of a suspect result from surveillance or presumptive diagnosis of overt disease, detection of subclinical infection in apparently healthy animals or sampling for targeted surveillance to demonstrate freedom from infection with a specified pathogen). See the individual disease chapters in this *Aquatic Manual* for specific details of sample requirements.

1.2. Specifications according to crustacean populations

For details of animals to sample for a specific listed disease, see the relevant disease chapter in the *Aquatic Manual*. The design of a surveillance system for demonstrating disease-free status for a country, zone or compartment should be in accordance with the recommendations of the WOAHP *Aquatic Code* Chapter 1.4 . *Aquatic animal disease surveillance*.

Animals to be sampled are selected as follows:

- i) Susceptible species should be sampled proportionately or following risk-based criteria for targeted selection of lots, epidemiological units or populations with a history of abnormal mortality or potential exposure events (e.g. replacement with stocks of unknown disease status).
- ii) If more than one water source is used for production, animals from all water sources should be included in the sample.
- iii) ~~For the study of presumptively diseased crustaceans select those animals that are moribund, discoloured, displaying abnormal behaviour, or otherwise abnormal. If weak, abnormally behaving discoloured or freshly dead (not decomposed) animals are present, such animals should be selected. If such animals are not present, animals should be selected in such a way that all epidemiological units of the farm or waterbody are proportionately represented in the sample.~~
- iv) ~~When sampling is aimed at assessing disease occurrence (e.g. estimation of disease prevalence), the preferred selection method is probability sampling.~~

1.3. Specifications according to clinical status

In clinical disease episodes, carefully selected quality specimens with representative lesions should be obtained from live or moribund crustaceans. Collection of dead specimens during disease outbreaks should be avoided when possible, but recently dead samples may be suitable for some diagnostic assays provided they are not decomposed. When cultured or wild crustacean stocks are presenting clinical signs of an active disease that are consistent with, or suggestive of, any one of the WOA-listed crustacean diseases, care should be taken to ensure that the samples collected are preserved appropriately for the anticipated diagnostic tests (see sample preservation section for recommended methods). In situations other than when clinical disease episodes are investigated, for the WOA-listed diseases it is highly recommended that the scheduling of sampling be planned (i.e. by farm schedule, season, etc.) so that the particular life-stage(s) are sampled at a time when the pathogen of concern is most likely to be detected. Disease-specific recommendations are provided in Section 3 *Sample selection, sample collection, transportation and handling* of the individual chapters.

~~Recently dead crustaceans may be suitable (depending on their condition) for certain diagnostic assays such as nucleic acid detection techniques.~~

1.4. Specifications according to crustacean size

See the individual disease chapters in this *Aquatic Manual* for specific details of sample requirements.

2. General processing of samples

2.1. Macroscopic examination

See disease-specific chapters in this *Aquatic Manual*.

2.2. Virological examination

Virological examination by virus isolation in cell culture of crustaceans is not routinely used for listed diseases of crustaceans. *Macrobrachium rosenbergii* has been isolated in insect cell lines, but it is not a recommended method.

2.2.1. Transportation and antibiotic treatment of samples

~~Culture systems for crustacean viruses are not available; antibiotic treatment of samples is not required. For transportation of samples see Section 3 of disease-specific chapters in this *Aquatic Manual*. Not applicable.~~

2.2.2. Virus isolation

~~For processing of tissues see Section 3 of disease-specific chapters in this *Aquatic Manual*. Not applicable.~~

2.2.3. Treatment to neutralise enzootic viruses

~~Not applicable.~~

2.3. Bacteriological examination

Bacteriological examination of crustaceans is not routinely used for listed diseases, but it may be used for the strains of *Vibrio parahaemolyticus* (Vp_{AHPND}) that cause acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND). and for can be isolated on standard bacteriological media. *Hepatobacter penaei*, the causative agent of necrotising hepatopancreatitis (NHP) has not been cultured and, because of its very small size, bacteriological examination may be limited to Gram staining. See disease-specific chapters in this *Aquatic Manual* for identification methods.

2.4. Parasitic examination

~~Not applicable for currently listed diseases.~~

2.5. Fungal and other protists examination

See Chapter 2.2.2 *Infection with Aphanomyces astaci (Crayfish plague)*.

B. MATERIALS AND BIOLOGICAL PRODUCTS REQUIRED FOR THE ISOLATION AND IDENTIFICATION OF CRUSTACEAN PATHOGENS

1. Crustacean viruses

1.1. Crustacean cell lines

Not applicable. There are currently no confirmed or documented crustacean cell lines.

1.2. Culture media

Not applicable.

1.3. Virus positive controls and antigen preparation

1.3.1. Virus nomenclature

In general, the virus nomenclature used in the disease-specific chapters follows the most recent taxonomy for viruses as given in the Report of the Committee on Taxonomy of Viruses (see: [ICTV \[ictvonline.org\]](http://ictvonline.org) for latest information). Also provided in the disease-specific chapters are the disease and virus names that are in common use by the shrimp/prawn farming industries, as well as the more common synonyms that have been used or are in current use.

1.3.2. Virus production for experimental purposes

As no cell lines (crustacean, arthropod, or vertebrate) are known that can be used to produce crustacean viruses, stocks, infection of known susceptible host species (which are free of from infection by with the pathogenic agent in question) is the preferred method for virus production for experimental purposes or for the development of positive control material.

1.3.3. Virus preservation and storage

Infectivity of all of the WOA-listed crustacean viruses can be preserved by freezing infected whole crustaceans or infected target tissues at –20°C for short-term storage, or at –80°C or lower for long-term storage.

2. Crustacean bacteria

2.1. Culture media

See Chapter 2.2.1. *Acute hepatopancreatic necrosis disease* for details.

2.2. Storage of cultures

Lyophilisation or storage at –70°C is recommended for long-term storage of bacterial cultures.

3. Crustacean parasites

3.1. Culture media

Not applicable for currently listed diseases.

3.2. Storage of cultures

Not applicable for currently listed diseases.

4. Crustacean fungi and protists

4.1. Culture media

See Chapter 2.2.2. *Infection with *Aphanomyces astaci* (crayfish plague)*

4.2. Storage of cultures

See Chapter 2.2.2.

5. Techniques

The available diagnostic methods that may be selected for diagnosis of the WOA-listed crustacean diseases or detection of their aetiological agents are based on:

- i) Gross and clinical signs.
- ii) Direct bright-field, phase-contrast or dark-field microscopy with whole stained or unstained tissue wet-mounts, tissue squashes, and impression smears; and wet-mounts of faecal strands.
- iii) Histology of fixed specimens.
- iv) Bioassays of suspect or subclinical carriers using a highly susceptible host (life stage or species) as the indicator for the presence of the pathogen.
- v) Antibody-based tests for pathogen detection using specific antisera, polyclonal antibodies (PABs) or monoclonal antibodies (MAbs).
- vi) Molecular methods (including sequencing):

DNA probes or RNA probes for *in-situ* hybridisation (ISH) assays with histological sections of fixed tissues;

Conventional and real-time PCR/RT-PCR and LAMP for direct assay with fresh tissue samples or with extracted DNA or RNA.

Pooling of samples from more than one individual animal for a given purpose ~~should only be~~ is only recommended where robust supporting data on diagnostic sensitivity and diagnostic specificity have been evaluated and found to be suitable. If the effect of pooling on diagnostic sensitivity has not been thoroughly evaluated, larger crustaceans should be processed and tested individually. However, for eggs, larvae and postlarvae, pooling of larger numbers individuals (e.g. ~~150 or more eggs or larvae or 50 to 150 postlarvae depending on their size/age~~) may be necessary to obtain sufficient sample material to run a diagnostic assay.

5.1. Antibody-based tests

See disease-specific chapters in this *Aquatic Manual*.

5.2. Direct microscopy

Samples for direct microscopic examination should be examined as soon as possible after collection. Use live specimens whenever possible, or use fresh, chilled, or fixed specimens when live specimens are not practical. If an

adequate field laboratory is available, it should be used to process and examine samples near the site of collection.

5.3. Histological techniques

Only live or moribund specimens with clinical signs should be sampled for histology. Collect crustaceans by whatever means are available with a minimum of handling stress. Hold animals in a container appropriate for maintaining suitable water quality and supply adequate aeration to the container if the crustaceans are to be held for a short period of time before actual fixation.

5.3.1. Fixation

A general rule is that a minimum of ten volumes of fixative should be used for one volume of tissue sample (i.e. a 10 g sample of crustacean would require 100 ml of fixative).

i) Davidson's AFA (alcohol, formalin, acetic acid) fixative

Davidson's AFA fixative is recommended for most histological applications. The fixative is rapid, reduces autolytic changes in decapod crustaceans (i.e. especially in crustaceans in tropical and subtropical regions), and its acidic content decalcifies the cuticle. The formulation for Davidson's AFA is (for 1 litre):

330 ml 95% ethyl alcohol
220 ml 100% freshly made formalin (a saturated 37–39% aqueous solution of formaldehyde gas)
115 ml glacial acetic acid
335 ml tap water (for marine crustaceans, seawater may be substituted)
Store the fixative in glass or plastic bottles with secure caps at room temperature.

ii) Fixation procedures with Davidson's AFA

For larvae and postlarvae that are too small to be easily injected with fixative using a tuberculin syringe: Using a fine mesh screen or a Pasteur pipette, select and collect specimens. Immerse crustaceans selected for sampling directly in the fixative. Fix for 12–24 hours in fixative and then transfer to 70% ethyl alcohol for storage.

For juveniles that are too small to be injected: Select and collect specimens. Use a needle or fine-pointed forceps to incise the cuticle and immediately immerse crustaceans selected for sampling directly into the fixative. Fix for 12–24 hours in fixative and then transfer to 70% ethyl alcohol for storage.

For large juveniles and adults: to ensure proper fixation, kill the crustacean using a humane method, then immediately inject fixative (use 5–10% volume:weight). Fix for 12–24 hours in fixative and then transfer to 70% ethyl alcohol for storage.

The hepatopancreas (HP) should be injected first and at two or more sites, with a volume of fixative sufficient to change the HP to a white-to-orange colour (when Davidson's AFA is used); then inject fixative into adjacent regions of the cephalothorax, into the anterior abdominal region, and into the posterior abdominal region.

The fixative should be divided between the different regions, with the cephalothoracic region, specifically the HP, receiving a larger share than the abdominal region.

Immediately following injection, slit the cuticle with dissecting scissors, from the sixth abdominal segment to the base of the rostrum, being particularly careful not to cut deeply into the underlying tissue. The incision in the cephalothoracic region should be just lateral to the dorsal midline, while that in the abdominal region should be approximately mid-lateral.

For crustaceans larger than ~12 g: After injection of fixative, the body should then be transversely bisected, at least once, just posterior to the abdomen/cephalothorax junction, and (optional) again mid-abdominally.

For very large crustaceans (e.g. lobsters, crabs, adult penaeids, adult Macrobrachium rosenbergii, some species and life stages of crabs, crayfish, etc.): The organs of interest may be excised after injection of fixative. Completion of fixation of these tissue samples is then handled as outlined previously.

Following injection, incisions and bisection/trisection, or excision of key organs, immerse the specimen in the fixative (use 10:1 fixative:tissue ratio).

Allow fixation to proceed at room temperature for 24–72 hours depending on the size of crustacean being preserved. Longer fixation times in Davidson's AFA may be used to thoroughly decalcify the shell of crabs, lobsters, crayfish, etc.

Following fixation, the specimens should be transferred to 70% ethyl alcohol, where they can be stored for an indefinite period.

iii) Transport and shipment of preserved samples

As large volumes of alcohol should not be mailed or shipped, the following methods are recommended: Remove the specimens from the 70% ethyl alcohol. For larvae, postlarvae, or small juveniles, use leak-proof, screw-cap plastic vials if available; if glass vials must be used, pack to prevent breakage. For larger specimens, wrap samples with white paper towels to completely cover (do not use raw or processed cotton). Place towel-wrapped specimens in a sealable plastic bag and saturate with 70% ethyl alcohol. Insert the label and seal the bag. Place the bag within a second sealable bag. Multiple small sealable bags can again be placed within a sturdy, crush-proof appropriately labelled container for shipment (for details see *Aquatic Code Chapter 5.10 Measures concerning international transport of aquatic animal pathogens and pathological material*).

5.4. Transmission or scanning electron microscopy

Electron microscopy (EM – transmission or scanning) is a valuable research tool for the study of disease in crustaceans. However, EM methods are not routinely used for diagnosis of the diseases listed by WOAHP.

5.5. Use of molecular and antibody-based techniques for confirmatory testing and diagnosis

Molecular techniques, including the use of nucleic acid probes for *in-situ* hybridisation, conventional PCR and real-time PCR, have been developed for the identification of many pathogens of aquatic animals. Real-time PCR methods, in general, have high sensitivity and specificity and, following adequate validation, can be used for direct detection of viral nucleic acids in samples prepared extracted from crustacean tissue. The Molecular techniques can be used in direct surveillance of crustacean diseases in apparently healthy populations, if they have a high level of diagnostic sensitivity, as well as in the diagnosis of clinically affected animals.

When using PCR as a diagnostic method, the design of primers and probe, the use of positive and negative controls, as well as validation of the PCR method chosen are important. Real-time PCR is a powerful technique particularly for analysing relatively high numbers of samples (e.g. for surveillance) via high-throughput testing. Several nucleic acid probe and PCR protocols are included in this version of the *Aquatic Manual* as screening, diagnostic or confirmatory methods for crustaceans and can be undertaken as the standard method. Following real-time PCR-positive results, where possible, conventional PCR with sequencing of PCR products should be used for confirmation of pathogen identity.

As with all PCR protocols, optimisation may be necessary depending on the reagents, equipment and the plasticware used. PCR is prone to false-positive and false-negative results. False-positive results (negative samples giving a positive reaction) may arise from either product carryover from positive samples or, more commonly, from cross-contamination by PCR products from previous tests. False-negative results (positive samples giving a negative result) may lead to unwanted transmission of pathogens and biosecurity failure.

Each diagnostic samples should be tested in duplicate, i.e. by testing two aliquots, and Both aliquots must produce positive results for a sample to be deemed positive. In instances where a sample produces one positive and one negative result, these are deemed indeterminate and should be retested. In addition, the following controls should be run with each assay: negative extraction control (e.g. a tissue [or equivalent sample that is under test]) sample from a known uninfected animal; positive control (preferably, one that can be distinguished from the pathogen genomic sequence [e.g. an artificial plasmid], thus allowing detection of any cross-contamination leading to a false positive result); no template control (all reagents with water replacing the template); internal positive control (internal housekeeping gene). All controls should produce their expected results in order for the diagnostic test result to be valid.

To minimise the risk of contamination, aerosol-preventing barrier pipette tips should be used for all sample preparation and PCR preparation steps. Additionally, all PCRs should be prepared in a clean area that is separate from the area where the nucleic acid extraction, amplifications and gel electrophoresis are performed. Do not share equipment (e.g. pipettes, laboratory coats and consumables) between areas and, where possible, restrict access between areas. Contaminating PCR products can be carried on equipment, clothes, shoes, pens/marker pens and paper (e.g. workbooks). Also, ensure all work-tops and air-flow cabinets/hoods used for the extractions and PCR set-up are regularly cleaned and decontaminated. To ensure sample integrity, always store the samples (e.g. in a freezer or refrigerator) in a location away-separate from the molecular biology laboratory and reagents.

Nested PCR involves two rounds of PCR and may be used to achieve increased sensitivity and specificity; however, it increases the risk of contamination. Contaminants from previous reactions can carry over and lead to false-positive results. Strict laboratory practices such as separate workspaces, dedicated equipment, and meticulous pipetting techniques are essential to mitigate this risk. In conclusion, nested PCR is not recommended for surveillance but may sometimes be used for confirmative studies.

5.5.1. Sample preparation and types

Samples should be prepared to preserve the nucleic acid of the pathogen and should be handled and packaged with the greatest care to minimise the potential for cross-contamination among the samples or target degradation before the assay can be performed. Samples selected for nucleic acid-based or antibody-based diagnostic tests should be handled and packaged (in new plastic sample bags or bottles) with care to minimise the potential for cross-contamination among the sample set taken from different (wild or farmed) stocks, tanks, ponds, farms, etc. A water-resistant label, with the appropriate data filled out, should be placed within each package or container for each sample set.

Some suitable methods for preservation and transport of samples taken for molecular ~~or antibody-based~~ tests are:

- i) *Live specimens*: these may be processed in the field or shipped to the diagnostic laboratory for testing.
- ii) *Haemolymph*: this tissue is the preferred sample for certain molecular and antibody-based diagnostic tests (see disease-specific chapters). Samples may be collected by needle and syringe through cardiac puncture, from the haemocoel (i.e. the ventral sinus in penaeids), or from a severed appendage, and immediately transferred to a tube that is half full with 90–95%–80% analytical grade ethanol or suitable nucleic acid preservative.
- iii) *Iced or chilled specimens*: these are specimens that can be transported to the laboratory for testing within 24 hours. Pack samples in sample bags surrounded by an adequate quantity of wet ice or freezer bricks around the bagged samples in an insulated box and ship to the laboratory.
- iv) *Frozen whole specimens*: select live specimens according to the criteria listed in disease-specific chapters in this *Aquatic Manual*. In situations where it is not possible to get the specimens to the laboratory alive, they may be quick freeze-frozen in the field using crushed dry-ice or freeze-frozen in the field laboratories using a mechanical freezer at –20°C or lower temperature. Prepare and insert the label into the container with the samples, pack samples with an adequate quantity of dry-ice in an insulated box, and ship to the laboratory.
- v) *Alcohol-preserved samples*: in regions where the storage and shipment of frozen samples is problematic, 90–95%–80% analytical grade ethanol may be used to preserve, store, and transport certain types of samples for molecular tests. Alcohol-preserved samples are generally not suitable for antibody-based tests. Whole crustaceans (any life stage provided the specimen is no larger than 2–3 g), excised tissues (i.e. pleopods) from large crustaceans, or haemolymph may be preserved in 90–95%–80% analytical grade ethanol, and then packed for shipment according to the methods described in Section 5.3.1, paragraph iii (see chapter 5.10 of the *Aquatic Code* for additional details on the international transport of such samples).
- vi) *Fixed tissues for in-situ hybridisation*: For this purpose, classic methods for preservation of the tissues are adequate. Neutral-buffered formalin–Davidson’s fixative is usually a good choice. Samples should be

fixed for 24–48 hours; fixation for over 24–more than 48 hours in Davidson's fixative should be avoided. Samples should be transferred to 80% analytical grade ethanol following Davidson's fixation treatment.

5.5.2. Preservation of RNA and DNA in tissues

For routine diagnostic testing by PCR or RT-PCR, samples must be prepared to preserve the pathogen's nucleic acid. For most purposes, preservation of samples in analytical grade ethanol ~~alcohol~~ (80–90%) is the preferred method for subsequent molecular tests. Samples preserved in this way can be stored for up to 1 week at 4°C for 1 month, at or 25°C for 1 week or indefinitely for extended periods at –20°C or below. In addition, other products (e.g. nucleic acid preservatives, various lysis buffers, etc.) are acceptable and are commercially available for the same purpose.

5.5.3. Nucleic acid extraction

To isolate nucleic acids from tissues preserved in ethanol or nucleic acid preservative, simply remove the tissue from the fixative or preservative and treat it as though it was just harvested. Most fresh and preserved or fixed tissues can be homogenised (e.g. with a mortar and pestle or in bead-beating tubes) directly in the lysis or extraction buffer provided with commercially available DNA and RNA extraction kits. Commercial kits should be validated or undergo equivalence testing with current validated extraction procedures prior to routine use.

5.5.4. Preparation of slides for *in-situ* hybridisation

For *in-situ* hybridisation, fixed tissues that have been transferred to ~~70%~~ 80% analytical grade ethanol are embedded in paraffin according to standard histological methods. Sections are cut at a thickness of 5 µm and placed on aminoalkylsilane-coated slides, which are then baked overnight in an oven at 40°C. The sections are de-waxed by immersing in xylene for 10 minutes. This step is repeated once and then the solvent is eliminated by immersion in two successive absolute ethanol baths for 10 minutes each. The sections are then rehydrated by immersion in an ethanol series. The protocol may require a step of membrane permeabilisation enabling access to the target DNA. For this purpose, sections are treated with proteinase K (100 µg ml⁻¹) in TE buffer (Tris [50 mM], EDTA [10 mM]), at 37°C for 30 minutes. For *in-situ* hybridisation tests (see individual chapters for details), it is essential that both a known positive and a known negative slide be stained to eliminate false positive results due to non-specific staining/stain dropout, and false negative results due to errors in the staining protocol (Qadiri et al., 2019; Valverde et al., 2017). For further details see disease-specific chapters in this *Aquatic Manual*.

6. Additional information to be collected

Sample information should include the collector's name, organisation, date, time, and description of the geographical location of the place of origin. The geographical location of the place of origin of samples may be described as the name or location of the sampling site from which the sample has originated, or its geographical co-ordinates. There should also be records that provide information to allow trace-backs on the sample movement from the sample site of origin to the storage facility or laboratory and within those facilities.

A history of the specimens should also be collected and should include species, age, weight, details of clinical signs including behavioural changes, as well as observations concerning any gross pathology which has been observed.

Information on the preservation method, storage location, and date and time of storage at each storage locker or freezer along with information on the storage temperature (continuously monitored is preferable) should be collected. This information should be tracked with a unique sample code for all samples. For laboratories, the date of receipt, storage location information, date of analysis, analysis notes, and report date should be maintained for all uniquely coded samples. These data will greatly facilitate the tracking of sample problems and provide assurance that the samples were properly handled.

See disease-specific chapters in this *Aquatic Manual* for recommendations on any additional information that may be required or that may assist the diagnostic laboratory in determining the most appropriate test(s) to be run for submitted samples.

4. KEY REFERENCES FOR FURTHER READING

BELL T.A. & LIGHTNER D.V. (1988). A Handbook of Normal Shrimp Histology. Special Publication No. 1, World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA.

BONDAD-REANTASO M.G., MCGLADDERY S.E., EAST I. & SUBASINGHE R.P. (2001). Asian Diagnostic Guide to Aquatic Animal Diseases. *FAO Fisheries Technical Paper*, No. 402, supplement 2. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Rome, Italy, 240 pp.

JOHNSON P.T. (1980). Histology of the Blue Crab, *Callinectes sapidus*. A Model for the Decapoda. Prager, New York, USA, 440 pp.

LIGHTNER D.V. (1996). A Handbook of Shrimp Pathology and Diagnostic Procedures for Diseases of Cultured Penaeid Shrimp. World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA. 304 pp.

LIGHTNER D.V., REDMAN R.M., PANTOJA C.R., TANG K.F.J, NOBLE B.L., SCHOFIELD P., MOHNEY L.L., NUNAN L.M. & NAVARRO S.A. (2012). Historic emergence, impact and current status of shrimp pathogens in the Americas. *J. Invert. Pathol.*, **110**, 174–183.

LOTZ J.M. (1997). Special topic review: Viruses, biosecurity and specific pathogen-free stocks in shrimp aquaculture. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, **13**, 405–413.

MOODY N.J.G. & CRANE M.ST.J. (2016). Validation of diagnostic tests in the OIE manual for aquatic animals. In: Proc. 3rd OIE Global Conference on Aquatic Animal Health – “Riding the Wave of the Future”, Ho Chi Minh City, Vietnam, 20–22 January 2015, pp.119–126.

QADIRI S.S.N., SOO-JIN KIM S.-J., KRISHNAN R., KIM J.-O., KOLE S., KIM W.-S. & OH M.-J. (2019). Localization and tissue tropism of viral haemorrhagic septicemia virus (VHSV) in experimentally infected juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus*: An *in situ* hybridization and immunohistochemical study. *Aquaculture*, **505**, 242–252.

THITAMADEE S, PRACHUMWAT A., SRISALA J., JAROENLAK P., SALACHAN P.V., SRITUNYALUCKSANA K, FLEGEL T.W. & ITSATHITPHAISARN O. (2016). Review of current disease threats for cultivated penaeid shrimp in Asia. *Aquaculture*, **452**, 69–87.

VALVERDE E.J., BORREGO J.J., SARASQUETE M.C., ORTIZ-DELGADO J.B. & CASTRO D. (2017). Target organs for lymphocystis disease virus replication in gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Vet. Res.*, **48**, 21. doi 10.1186/s13567-017-0428-3.

WALKER P.J. & MOHAN C.V. (2009). Viral disease emergence in shrimp aquaculture: origins, impact and the effectiveness of health management strategies. *Rev. Aquaculture*, **1**, 125–154.

*
* *

NB: FIRST ADOPTED IN 2000; MOST RECENT UPDATES ADOPTED IN 2012.

CHAPTER 2.2.2.

INFECTION WITH *APHANOMYCES ASTACI* (CRAYFISH PLAGUE)

1. Scope

Infection with *Aphanomyces astaci* means infection with the pathogenic agent *A. astaci*, Phylum Oomycota. The disease is commonly known as crayfish plague.

2. Disease information

2.1. Agent factors

2.1.1. Aetiological agent

Aphanomyces astaci is a water mould. The Oomycetida or Oomycota, are considered protists and are classified with diatoms and brown algae in a group called the Stramenopiles or Chromista.

Five groups (A–E) of *A. astaci* have been described based on random amplification of polymorphic DNA polymerase chain reaction (RAPD PCR) (Dieguez-Urbeondo *et al.*, 1995; Huang *et al.*, 1994; Kozubikova *et al.*, 2011). Additional geno- or haplotypes are still being detected using molecular methods (Di Domenico *et al.*, 2021). Group A (the so called *Astacus* strains) comprises strains isolated from several European crayfish species. These strains are thought to have been in Europe for a long period of time. Group B (*Pacifastacus* strains I) includes isolates from several European crayfish species and from the invasive *Pacifastacus leniusculus* in Europe as well as Lake Tahoe, USA. Imported to Europe, *P. leniusculus* probably introduced this genotype of *A. astaci* and infected the native European crayfish. Group C (*Pacifastacus* strains II) consists of a strain isolated from *P. leniusculus* from Pitt Lake, Canada. Another strain (Pc), isolated from *Procambarus clarkii* in Spain, sits in group D (*Procambarus* strains). This strain shows temperature/growth curves with higher optimum temperatures compared with groups A and B (Dieguez-Urbeondo *et al.*, 1995). *Aphanomyces astaci* strains that have been present in Europe for many years (group A strains) appear to be less pathogenic than strains introduced with crayfish imports from North America since the 1960s. North American host species spiny-cheek crayfish (*Orconectes limosus*) has been shown to be a carrier of Group E (Kozubíková *et al.*, 2011).

2.1.2. Survival and stability in processed or stored samples

Aphanomyces astaci is poorly resistant against desiccation and does not survive long in decomposing hosts. Any treatment of the crayfish (freezing, cooking, drying) will affect the survival of the pathogen (Oidtman *et al.*, 2002). Isolation from processed samples is not possible, however they may be suitable for molecular methods used for pathogen detection.

2.1.3. Survival and stability outside the host

Outside the host *Aphanomyces astaci* is found as zoospores that remain motile for up to 3 days and form cysts that can survive for 2 weeks in distilled water. As *A. astaci* can go through three cycles of encystment and zoospore emergence, the maximum life span outside of a host could be several weeks. Spores remained viable in a spore suspension in clean water kept at 2°C for 2 months (Unestam, 1966). Survival time is probably shorter in natural waters.

For inactivation methods, see Section 2.4.5.

2.2. Host factors

2.2.1. Susceptible host species

The recommendations in this chapter apply to all species of crayfish in all three crayfish families (Cambaridae, Astacidae and Parastacidae).

[Note: an assessment of species that meet the criteria for listing as susceptible to infection with *A. astaci* in accordance with Chapter 1.5. has not yet been completed]

~~All stages of crayfish species native to Europe, including the noble crayfish (*Astacus astacus*) of north-west Europe, the white-clawed crayfish (*Austropotamobius pallipes*) of south-west and west Europe, the related *Austropotamobius torrentium* (mountain streams of south-west Europe) and the slender-clawed or Turkish crayfish (*Pontastacus leptodactylus*) of eastern Europe and Asia Minor are highly susceptible (e.g. Holdich et al., 2009). Australian species of crayfish are also highly susceptible. North American crayfish such as the signal crayfish (*Pacifastacus leniusculus*), Louisiana swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) and *Faxonius* spp. are infected by *A. astaci*, but under normal conditions the infection does not cause clinical disease or death. All North American crayfish species investigated to date have been shown to be susceptible to infection, demonstrated by the presence of the pathogen in host cuticle (reviewed by Svoboda et al. 2017) and it is therefore currently assumed that this is the case for any other North American species.~~

~~The only other crustacean known to be susceptible to infection by *A. astaci* is the Chinese mitten-crab (*Eriocheir sinensis*).~~

2.2.2. Species with incomplete evidence for susceptibility

[Under study]

2.2.3. Likelihood of infection by species, host life stage, population or sub-populations

~~The host species susceptible to infection with *A. astaci* fall largely into two categories: those highly susceptible to infection with that development of clinical disease and mortalities, and those that are infected without associated but do not display any significant clinical disease or mortalities. All life stages are considered susceptible to infection with *A. astaci*.~~

Species that develop clinical disease and **experience mortality mortalities** include the noble crayfish (*Astacus astacus*) of north-west Europe, the white-clawed crayfish (*Austropotamobius pallipes*) of south-west and west Europe, the related *Austropotamobius torrentium* (mountain streams of south-west Europe) and the slender-clawed or Turkish crayfish (*Pontastacus leptodactylus*) of eastern Europe and Asia Minor (e.g. Holdich et al., 2009). Australian species of freshwater crayfish are also considered vulnerable to clinical disease and **mortality mortalities**.

Species that can be infected but do not normally develop clinical disease include North American crayfish species such as the signal crayfish (*Pacifastacus leniusculus*), Louisiana swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) and *Faxonius* spp. All North American crayfish species that have been investigated have been shown to be susceptible to infection, demonstrated by the presence of the pathogen in host cuticle (reviewed by Svoboda et al. 2017).

~~**Highly susceptible species:** Clinical disease outbreaks caused by infection with *A. astaci* are generally known as 'crayfish plague' outbreaks. In such outbreaks, moribund and dead crayfish of a range of sizes (and therefore ages) can be found.~~

The only non-crayfish crustacean species known to be susceptible to infection by *A. astaci* is the Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) (Schrimpf et al. 2014).

2.2.4. Distribution of the pathogen in the host

The tissue that becomes initially infected is the exoskeleton cuticle. Soft cuticle, as is found on the ventral abdomen and around joints, is preferentially affected. In ~~the highly susceptible European crayfish species, which are prone to development of clinical disease,~~ the pathogen often manages to penetrate the basal lamina located underneath the epidermis cell layer. From there, *A. astaci* spreads throughout the body primarily by invading connective tissue and haemal sinuses; however, all tissues may be affected.

In North American crayfish species, infection is usually restricted to the cuticle. Based on PCR results, the tailfan (consisting of uropods and telson) and soft abdominal cuticle appear to be frequently infected (Oidtman et al., 2006; Vralstad et al., 2011).

2.2.5. Aquatic animal reservoirs of infection

North American crayfish species act mostly as reservoirs ~~carriers~~ of the infection without showing clinical signs. However, some strains of *A. astaci*, especially from group A, show lowered virulence, ~~thus enabling normally highly susceptible European crayfish to act as reservoirs carriers as well~~ (see review by Svoboda et al., 2017).

Colonisation of habitats, ~~initially by North American crayfish species carrying *A. astaci* occupied by highly susceptible is likely to result in an epizootic if crayfish species that are prone to expression of clinical disease are present by North American crayfish species carrying *A. astaci* is likely to result in an epizootic among the highly susceptible animals.~~

2.2.6. Vectors

~~Transportation of finfish may facilitate the spread of *A. astaci* through the presence of spores in the transport water or co-transport of infected crayfish specimens (Alderman et al., 1987; Oidtman et al., 2002). There is also circumstantial evidence of spread by contaminated equipment (e.g. nets, boots, clothing, traps) (Alderman et al., 1987). None known.~~

2.3. Disease pattern

2.3.1. Mortality, morbidity, and prevalence

When the infection first reaches a naïve population of ~~highly susceptible crayfish species that are prone to clinical disease,~~ high levels of mortality are usually observed within a short space of time, ~~so that in and, in~~ areas with high crayfish densities the bottoms of lakes, rivers and streams ~~are become~~ covered with dead and dying crayfish. A band of mortality will spread quickly from the initial outbreak site downstream, whereas upstream spread is slower. Lower water temperatures are associated with ~~slower a lower rate of~~ mortalities and a greater range of clinical signs in affected animals (Alderman et al., 1987). Observations from Finland suggest that at low water temperatures, noble crayfish (*Astacus astacus*) can be infected for several months without ~~the development of any~~ noticeable mortalities (Viljamaa-Dirks et al., 2013).

On rare occasions, single specimens of ~~the highly susceptible species that are prone to clinical disease~~ have been found after a wave of infection with *A. astaci* has gone through a river or lake. This is most likely to be due to lack of exposure of these animals during an outbreak (animals may have been present in a tributary of a river or lake or in a part of the affected river/lake that was not reached by spores, or crayfish may have stayed in burrows during the epizootic). However, low virulent strains of *A. astaci* have been described to persist in a waterway, kept alive by a weak infection in the remnant population (Viljamaa-Dirks et al., 2011). Although remnant populations of susceptible crayfish species remain in many European watersheds, the dense populations that existed 150 years ago are now heavily diminished (Souty-Grosset et al., 2006; Holdich et al., 2009). Populations of susceptible crayfish may re-establish, but once population density and geographical distribution is sufficient for susceptible animals to come into contact with spores, new outbreaks of infection with *A. astaci* and large-scale mortalities will occur.

In ~~the highly susceptible European crayfish species,~~ which are prone to clinical disease, exposure to *A. astaci* spores usually leads to infection and eventually to death. Prevalence of infection within a population in the early stage of an outbreak may be low (few animals in a river population may be affected). However, the pathogen ~~is amplified amplifies~~ in affected animals and ~~is~~ subsequently released into the water; usually leading to 100% mortality in a contiguous population. The rate of spread from initially affected animals

depends on several factors, one being water temperature. Therefore, the time from first introduction of the pathogen into a population to noticeable crayfish mortalities can vary greatly and may range from a few weeks to months. Prevalence of infection will gradually increase over this time and usually reach 100%. Data from a noble crayfish population in Finland that experienced an acute mortality event due to infection with *A. astaci* in 2001 suggest that in sparse noble crayfish populations, spread of disease throughout the host population may take several years (Viljamaa-Dirks et al., 2011).

2.3.2. Clinical signs, including behavioural changes

Susceptible Species prone to clinical disease

Gross clinical signs are variable and depend on challenge severity and water temperatures. The first sign of an epizootic may be the appearance of crayfish during daylight (crayfish are normally nocturnal), some of which may show loss of co-ordination, falling onto their backs and remaining unable to right themselves. Occasionally, the infected animals can be seen trying to scratch or pinch themselves.

Often, however, the first sign of an outbreak may be the presence of large numbers of dead crayfish in a river or lake (Alderman et al., 1987).

Infection with *A. astaci* may cause mass mortality of crayfish. However, investigation of mortality event should consider other causes such as environmental pollution (e.g., insecticides such as cypermethrin have been associated with initial misdiagnoses).

North American crayfish Species that do not normally develop clinical disease

Infected North American crayfish may be subclinical carriers. Controlled exposure to a highly virulent strain has resulted in mortality in juvenile stages of *Pacifastacus leniusculus* as well as behavioural alterations in adults (Thomas et al., 2020).

2.3.3 Gross pathology

Susceptible Species prone to clinical disease

Depending on a range of factors, the foci of infection in crayfish may be seen by the naked eye or may not be discernible despite careful examination. Infection foci are best viewed under a low power stereo microscope and are recognisable by localised whitening of the muscle beneath the cuticle. In some cases, a brown colouration of cuticle and muscle may occur, or hyphae may be visible in infected cuticles in the form of fine brown (melanised) tracks in the cuticle. Sites for examination include the intersternal soft ventral cuticle of the abdomen and tail, the cuticle of the perianal region, the cuticle between the carapace and abdomen, the joints of the pereopods (walking legs), particularly the proximal joint, eyestalks and finally the gills.

North American crayfish Species that do not normally develop clinical disease

Infected North American crayfish do not usually show signs of disease can sometimes show melanised spots in their soft cuticle, for example, the soft abdominal cuticle and joints. These melanisations can be caused by mechanical injuries or infections with other water moulds and are non-specific. However, populations with high levels of infection can show abnormally high levels of cuticular damage in individual animals, such as missing legs and claws due to deteriorated joints.

2.3.4. Modes of transmission and life cycle

~~The main routes of spread of the pathogen are through 1) movement of infected crayfish, 2) movement of spores with contaminated water or equipment, as may occur during movements of finfish, or 3) through colonisation of habitats by invasive North American crayfish species.~~

~~The main route of spread of *A. astaci* in Europe between the 1960s and 2000 was through the active stocking of North American crayfish into the wild or escapes from crayfish farms. Subsequent spread occurs through expanding populations of invasive North American crayfish, accidental co-transport of specimens, and release of North American crayfish into the wild by private individuals (Holdich et al., 2009).~~

Transmission from crayfish to crayfish occurs through the release of zoospores from an infected animal and attachment of the zoospores to naïve crayfish. The life cycle of *A. astaci* is simple with vegetative hyphae invading and ramifying through host tissues, eventually producing extramatrical sporangia that release amoeboid primary spores. These initially encyst, but then release a biflagellate zoospore (secondary zoospore). Biflagellate zoospores swim in the water column and, upon encountering a susceptible host, attach and germinate to produce invasive vegetative hyphae. The zoospores of *A. astaci* swim actively in the water column and have been demonstrated to show positive chemotaxis towards crayfish (Cerenius & Söderhäll, 1984). Zoospores are capable of repeated encystment and re-emergence, extending the period of their infectivity (Soderhall & Cerenius 1999). Growth and sporulation capacity is strain- and temperature-dependent (Dieguez-Uribeondo et al., 1995).

The main routes of spread of the pathogen are through 1) movement of infected crayfish, 2) movement of spores with contaminated water or equipment, or 3) through colonisation of non-native habitats by invasive North American crayfish species.

The main route of spread of *A. astaci* in Europe between the 1960s and 2000 was through the active stocking of North American crayfish into the wild or escapes from crayfish farms. Subsequent spread occurred through expanding populations of invasive North American crayfish, accidental co-transport of specimens, and release of North American crayfish into the wild by private individuals (Holdich et al., 2009).

Transportation of finfish may facilitate the spread of *A. astaci* through the presence of spores in the transport water or co-transport of infected crayfish specimens (Alderman et al., 1987; Oidtmann et al., 2002). There is also circumstantial evidence of spread by contaminated equipment (e.g., nets, boots, clothing, traps) (Alderman et al., 1987).

2.3.5. Environmental factors

Under laboratory conditions, the preferred temperature range at which the *A. astaci* mycelium grows varies slightly depending on the strain. In a study, which compared several *A. astaci* strains that had been isolated from a variety of crayfish species, mycelial growth was observed between 4 and 29.5°C, with the strain isolated from *Procambarus clarkii* growing better at higher temperatures compared to the other strains. Sporulation efficiency was similarly high for all strains tested between 4 and 20°C, but it was clearly reduced for the non-*P. clarkii* strains at 25°C and absent at 27°C. In contrast, sporulation still occurred in the *P. clarkii* strain at 27°C. The proportion of motile zoospores (out of all zoospores observed in a zoospore suspension) was almost 100% at temperatures ranging from 4–18°C, reduced to about 60% at 20°C and about 20% at 25°C in all but the *P. clarkii* strain. In the *P. clarkii* strain, 80% of the zoospores were still motile at 25°C, but no motile spores were found at 27°C (Dieguez-Uribeondo et al., 1995).

Field observations show that outbreaks of infection with *A. astaci* occur over a wide temperature range, and at least in the temperature range 4–20°C. The rate of spread within a population depends on several factors, including water temperature. In a temperature range between 4 and 16°C, the speed of an epizootic is enhanced by higher water temperatures.

In buffered, redistilled water, sporulation occurs between pH 5 and 8, with the optimal range being pH 5–7. The optimal pH range for swimming of zoospores appears to be pH 6.0–7.5, with a maximum range between pH 4.5 and 9.0 (Unestam, 1966).

Zoospore emergence is influenced by the presence of certain salts in the water. CaCl₂ stimulates zoospore emergence from primary cysts, whereas MgCl₂ has an inhibitory effect. In general, zoospore emergence is triggered by transferring the vegetative mycelium into a medium where nutrients are absent or low in concentration (Cerenius et al., 1988).

2.3.6. Geographical distribution

In Europe the reports of large mortalities of crayfish go back to 1860. The reservoir of the original infections in the 19th century was never established. *Faxonius* (*Orconectes*) spp. were not known to have been introduced into Europe until the 1890s, but the post-1960s extensions are largely linked to more recent introductions of

North American crayfish for farming (Alderman, 1996; Holdich et al. 2009). *Pacifastacus leniusculus* and *Procambarus clarkii* are now widely naturalised in many parts of Europe.

In recent years, crayfish plague has been reported in Asia and also in North- and South America (see e.g. references in Di Domenico et al. 2021). The distribution of *A. astaci* in North America is likely to be much wider than reported (Martín-Torrijos et al., 2021).

~~Any geographical area where North American crayfish species were introduced must be considered as potentially infected if not proven otherwise. Lack of clinical disease in these carrier species may hamper the reliability in reporting the infection. For the highly susceptible species, See WOAHA WAHIS (<https://wahis.woah.org/#/home>) for recent information on distribution at the country level. However, even high mortalities can go unnoticed in wild populations.~~

2.4. Biosecurity and disease control strategies

2.4.1. Vaccination

No vaccines are available.

2.4.2. Chemotherapy including blocking agents

No treatments are currently known that can successfully treat the highly susceptible crayfish species, once infected.

2.4.3. Immunostimulation

No immunostimulants are currently known that can successfully protect the highly susceptible crayfish species against infection and consequent disease due to *A. astaci* infection.

2.4.4. Breeding resistant strains

A few studies suggest that there might be differences in resistance between populations of highly susceptible species crayfish species that are prone to clinical disease (reviewed by Martín-Torrijos et al., 2017; Svoboda et al., 2017). The fact that North American crayfish generally do not develop clinical disease suggests that selection for resistance may be possible and laboratory studies using attenuated strains of *A. astaci* might be successful. However, there are currently no published data from such studies.

2.4.5. Inactivation methods

Aphanomyces astaci, both in culture and in infected crayfish, is inactivated by a short exposure to temperatures of 60°C or to temperatures of -20°C (or below) for 48 hours (or more) (Oidtmann et al., 2002). Sodium hypochlorite at 100 ppm, free chlorine and iodophors at 100 ppm available iodine, are effective for disinfection of contaminated equipment. Equipment must be cleaned prior to disinfection since organic matter decreases the effectiveness of disinfectants (Alderman & Polglase, 1985). Thorough drying of equipment (>24 hours) is also effective as *A. astaci* is not resistant to desiccation (Rennerfelt, 1936).

2.4.6. Disinfection of eggs and larvae

No information available.

2.4.7. General husbandry

If a ~~crayfish farm for highly susceptible~~ crayfish species that are prone to clinical disease is being planned, it should be carefully investigated whether North American crayfish species are in the vicinity of the planned site or present upstream. If North American crayfish are present, there is a high likelihood that susceptible farmed crayfish will eventually become infected.

In an endemic area where the ~~highly susceptible species~~ prone to expression of clinical disease are being farmed, the following biosecurity recommendations should be followed to avoid an introduction of *A. astaci* onto the site:

-
1. General biosecurity should be in place (e.g., controlled access to premises; disinfection of boots when entering the site; investigation of mortalities if they occur; introduction of live animals (crayfish, finfish) only from sources known to be free from infection with *A. astaci*).
 2. Movements of potentially infected live or dead crayfish, potentially contaminated water, equipment or any other item that might carry the pathogen from an infected to an uninfected site holding susceptible species should be prevented.
 3. If transfers of finfish or crayfish are being planned, these should not come from streams or other waters that harbour potentially infected crayfish (either susceptible crayfish populations that are going through a current outbreak of infection with *A. astaci* or North American ~~carrier~~ crayfish species).
 4. North American crayfish should not be brought onto the site.
 5. Finfish obtained from unknown freshwater sources or from sources, where North American crayfish may be present or a current outbreak of infection with *A. astaci* may be taking place, must not be used as bait or feed for crayfish, unless they have been subject to a temperature treatment to kill *A. astaci* (see Section 2.4.5. *Inactivation methods*).
 6. Any equipment that is brought onto site should be disinfected.

3. Specimen selection, sample collection, transportation and handling

3.1. Selection of populations and individual specimens

For a suspected outbreak of infection with *A. astaci* in a population of ~~highly-susceptible~~ crayfish species that are prone to clinical disease, sampled crayfish should ideally consist of: a) live crayfish showing signs of disease, and b) live, apparently healthy crayfish. Freshly dead crayfish may also be suitable, although this will depend on their condition.

Live crayfish should be transported using insulated containers equipped with small holes to allow aeration. The temperature in the container should not exceed 16°C.

Crayfish should be transported in a moist atmosphere, for example using moistened wood shavings/wood wool, newspaper, or grass/hay. Unless transport water is sufficiently oxygenated, live crayfish should not be transported in water, as they may suffocate.

The time between sampling of live animals and delivery to the investigating laboratory should not exceed 24 hours.

Should only dead animals be found at the site of a suspected outbreak, freshly dead animals should be selected for diagnosis. Dead animals can either be: a) transported chilled (if they appear to have died only very recently), or, b) placed in non-methylated ethanol (minimum concentration 70%; see 3.5. *Preservation of samples for submission*), or c) placed in freezer at -20°C to avoid further decay and transported frozen.

When testing any population outside an acute mortality event for the presence of crayfish plague, as many individuals as possible should be inspected visually for signs of cuticular damage. Crayfish that have melanized spots or missing limbs should be selected in the first place for further analysis.

3.2. Selection of organs or tissues

In ~~highly-susceptible~~ species that are prone to clinical disease, the tissue recommended for sampling is the soft abdominal cuticle, which can be found on the ventral side of the abdomen. Any other soft part of the exoskeleton can be included as well. If any melanised spots or whitened areas are detected, these should be included in the sampling. From diseased animals, samples should be aseptically collected from the soft abdominal cuticle. For identification of carriers, samples should be aseptically collected from soft abdominal cuticle, and telson and uropods, separately.

In the North American crayfish species, sampling of soft abdominal cuticle, uropods and telson are recommended. Any other soft part of the exoskeleton can be included as well. If any melanized spots are detected, these should be included in the sampling.

3.3. Samples or tissues not suitable for pathogen detection

Autolysed material is not suitable for analysis.

3.4. Non-lethal sampling

A non-destructive sampling method that detects *A. astaci* DNA in the microbial biofilm associated with the cuticle of individual crayfish through vigorous scrubbing has been described (Pavic *et al.*, 2020), and could be considered in case of testing vulnerable populations.

If non-lethal tissue sample types differ from recommended tissues (see Section 3.2.), or from the tissue samples used in validation studies, the effect on diagnostic performance should be considered.

3.5. Preservation of samples for submission

The use of non-preserved crayfish is preferred, as described above. If transport of recently dead or moribund crayfish cannot be arranged, crayfish may be frozen or fixed in ethanol (minimum 70%). However, fixation may reduce test sensitivity. The crayfish:ethanol ratio should ideally be 1:10 (1 part crayfish, 10 parts ethanol).

For guidance on sample preservation methods for the intended test methods, see Chapter 2.2.0

3.5.1. Samples for pathogen isolation

The success of pathogen isolation depends strongly on the quality of samples (time since collection and time in storage). Isolation is best attempted from crayfish with clinical signs delivered alive (see Section 3.1.). Fresh specimens should be kept chilled and preferably sent to the laboratory within 24 hours of collection.

3.5.2. Preservation of samples for molecular detection

Tissue samples for PCR testing should be preserved in 70–90% (v/v) analytical/reagent-grade (undenatured) ethanol. The recommended ratio of ethanol to tissue is 10:1 based on studies in terrestrial animal and human health. The use of lower grade (laboratory or industrial grade) ethanol is not recommended. If material cannot be fixed it may be frozen.

Standard sample collection, preservation and processing methods for molecular techniques can be found in Section B.5.5. of Chapter 2.2.0 General information (diseases of crustaceans).

3.5.3. Samples for histopathology

Standard sample collection, preservation and processing methods for histological techniques can be found in Section 2.2 of Chapter 2.2.0 *General information (diseases of crustaceans)*.

3.5.4. Samples for other tests

Sensitive molecular methods can be used to detect *A. astaci* DNA directly from water samples (Strand *et al.* 2011, 2012). These methods require validation for diagnostic use.

3.6. Pooling of samples

Pooling of samples from more than one individual animal for a given purpose ~~should only be~~ is only recommended where robust supporting data on diagnostic sensitivity and diagnostic specificity have been evaluated and found to be suitable. If the effect of pooling on diagnostic sensitivity has not been thoroughly evaluated, larger animals should be processed and tested individually. Small life stages such as PL, can be pooled to obtain the minimum amount of material for molecular detection.

4. Diagnostic methods

The methods currently available for pathogen detection that can be used in i) surveillance of apparently healthy animals, ii) presumptive diagnosis in clinically affected animals and iii) confirmatory diagnostic purposes are listed in Table 4.1. by animal life stage.

Ratings for purposes of use. For each recommended assay a qualitative rating for the purpose of use is provided. The ratings are determined based on multiple performance and operational factors relevant to application of an assay for a defined purpose. These factors include appropriate diagnostic performance characteristics, level of assay validation, availability cost, timeliness, and sample throughput and operability. For a specific purpose of use, assays are rated as:

+++ =	Methods are most suitable with desirable performance and operational characteristics.
++ =	Methods are suitable with acceptable performance and operational characteristics under most circumstances.
+ =	Methods are suitable, but performance or operational characteristics may limit application under some circumstances.
Shaded boxes =	Not appropriate for this purpose.

Validation stage. The validation stage corresponds to the assay development and validation pathway in chapter 1.1.2. The validation stage is specific to each purpose of use. Where available, information on the diagnostic performance of recommended assays is provided in Section 6.3.

WOAH Reference Laboratories welcome feedback on diagnostic performance of recommended assays, in particular PCR methods. Of particular interest are any factors affecting expected assay sensitivity (e.g. tissue components inhibiting amplification) or expected specificity (e.g. failure to detect particular genotypes, detection of homologous sequences within the host genome). These issues should be communicated to the WOAH Reference Laboratories so that advice can be provided to diagnostic laboratories and the standards amended if necessary.

Table 4.1. WOA recommended diagnostic methods and their level of validation for surveillance of apparently healthy animals and investigation of clinically affected animals

Method	A. Surveillance of apparently healthy animals				B. Presumptive diagnosis of clinically affected animals				C. Confirmatory diagnosis ¹ of a suspect result from surveillance or presumptive diagnosis			
	Early life stages ²	Juveniles ²	Adults	LV	Early life stages ²	Juveniles ²	Adults	LV	Early life stages ²	Juveniles ²	Adults	LV
Wet mounts						+	+	NA				
Histopathology						+	+	NA				
Cell Culture						+	+	NA				
Real-time PCR	++	++	++	1	++	++	++	1	++	++	++	1
Conventional PCR	+	+	+	1	++	++	++	1				
Conventional PCR followed by amplicon sequencing									+++	+++	+++	1
In-situ hybridisation												
Bioassay												
LAMP												
Ab-ELISA												
Ag-ELISA												
Other antigen detection methods ³												
Other methods ³												

LV = level of validation, refers to the stage of validation in the WOA Pathway (chapter 1.1.2); NA = not available. PCR = polymerase chain reaction; LAMP = loop-mediated isothermal amplification;

Ab- or Ag-ELISA = antibody or antigen enzyme-linked immunosorbent assay, respectively; IFAT = indirect fluorescent antibody test.

¹For confirmatory diagnoses, methods need to be carried out in combination (see Section 6). ²Susceptibility of early and juvenile life stages is described in Section 2.2.3.

³Specify the test used. Shading indicates the test is inappropriate or should not be used for this purpose.

4.1. Wet mounts

Small pieces of soft cuticle excised from the regions mentioned above (Section 2.3.3 *Gross pathology*) and examined under a compound microscope using low-to-medium power will confirm the presence of aseptate fungal-like hyphae 7–9 µm wide. The hyphae can usually be found pervading the whole thickness of the cuticle, forming a three-dimensional network of hyphae in heavily affected areas of the cuticle. The presence of host haemocytes and possibly some melanisation closely associated with and encapsulating the hyphae give good presumptive evidence that the hyphae represent a pathogen rather than a secondary opportunist invader. In some cases, examination of the surface of such mounted cuticles will demonstrate the presence of characteristic *A. astaci* sporangia with clusters of encysted primary spores (see Section 4.3 *Culture for isolation*).

4.2. Histopathology

Unless the selection of tissue for fixation has been well chosen, *A. astaci* hyphae can be difficult to find in stained preparations. A histological staining technique, such as the Grocott silver stain counterstained with conventional haematoxylin and eosin, can be used. However, such material does not prove that any hyphae observed are those of *A. astaci*, especially when the material comes from animals already dead by sampling.

See also Section 4.1 *Wet mounts*.

4.3. Culture for isolation

Isolation is not recommended as a routine diagnostic method (Alderman & Polglase, 1986; Cerenius *et al.*, 1987; Viljamaa-Dirks, 2006). Test sensitivity and specificity of the cultivation method can be very variable depending on the experience of the examiner, but in general will be lower than the PCR. Isolation of *A. astaci* by culture from apparently healthy crayfish is challenging and molecular methods are recommended. A detailed description of this test is available from the Reference Laboratory⁴.

4.4. Nucleic acid amplification

PCR assays should always be run with the controls specified in Section 5.5 *Use of molecular and antibody-based techniques for confirmatory testing and diagnosis* of Chapter 2.2.0 *General information* (diseases of crustaceans). Each sample should be tested in duplicate. Shrimp tissues may be used as negative controls.

Live crayfish can be killed using chloroform, electric current or by mechanical destroying the nerve cords. If live or moribund animals are not available, only recently dead animals should be used for DNA extraction. The soft abdominal cuticle is the preferred sample tissue for DNA extraction. Any superficial contamination should first be removed by thoroughly wiping the soft abdominal cuticle with wet (using autoclaved H₂O) clean disposable swabs. The soft abdominal cuticle is then excised and 30–50 mg ground using a pestle and mortar.

Several PCR assays have been developed with varying levels of sensitivity and specificity. Two assays are described here. Both assays target the ITS (internal transcribed spacer) region of the nuclear ribosomal gene cluster within the *A. astaci* genome.

Extraction of nucleic acids

Numerous Different kits and procedures can be used for nucleic acid extraction. The quality and concentration of the extracted nucleic acid is important and should can be checked using a suitable method as appropriate to the circumstances using optical density or running a gel.

⁴ <https://www.woah.org/en/what-we-offer/expertise-network/reference-laboratories/#ui-id-3>

4.4.1. Real-time PCR

The following controls should be run with each assay: negative extraction control; positive control; no template control; internal PCR control.

Pathogen/ target gene	Primer/probe (5'–3')	Concentration	Cycling conditions ^(a)
Method 1*: Vralstad et al., 2009, Strand, 2013; GenBank Accession No.: AM947024			
<i>Aphanomyces astaci</i> & <i>A. fennicus</i> / ITS	Fwd: AAG-GCT-TGT-GCT-GGG-ATG-TT Rev: CTT-CTT-GCG-AAA-CCT-TCT-GCT-A Probe: 6-FAM-TTC-GGG-ACG-ACC-C-MGBNFQ	500 nM 500 nM 200 nM	50-40 cycles of: 95°C/15 sec and 60-58°C/30 60 sec
Alternative method 2: Strand et al. to be published; GenBank Accession No.: AM947024			
<i>Aphanomyces astaci</i> / ITS	Fwd: TAT CCA CGT GAA TGT ATT CTT TAT Rev: GCT AAG TTT ATC AGT ATG TTA TTT A Probe: FAM AAG AAC ATC CCA GCA C MGBNFQ	500 nM 500 nM 200 nM	50 cycles of: 95°C/15 sec and 60°C/30 sec

*These ITS-based methods have been found to give positive results for the species *Aphanomyces fennicus* (Viljamaa-Dirks & Heinikainen 2019).

^(a)A denaturation step prior to cycling has not been included.

The absolute limit of detection of method 1 was reported as approximately 5 PCR forming units (= target template copies), which is equivalent to less than one *A. astaci* genome (Vralstad et al., 2009). Another study reported consistent detection down to 50 fg DNA using this assay (Tufts & Oidtmann, 2011).

Analytical test specificity has been investigated (Tufts & Oidtmann, 2011; Vralstad et al., 2009) and no cross-reaction was observed in these studies. However, a novel species, *Aphanomyces fennicus*, isolated from noble crayfish was reported in 2019 (Viljamaa-Dirks & Heinikainen, 2019) that gave a positive reaction in this test at the same level as *A. astaci*. Due to this problem in specificity, A modified alternative method for the assay will be included once it has been published has been modified according to the alternative method 2 (Strand et al., manuscript in preparation).

Owing to the repeated discovery of new *Aphanomyces* strains, sequencing is required to determine the species of *Aphanomyces* in the case of the non-negative real-time PCR assay result. This requires separate amplification of a PCR product using primers ITS 1 and ITS 4 (see Section 4.5 Amplicon sequencing).

4.4.2. Conventional PCR

Pathogen/ target gene	Primer/probe (5'–3')	Concentration	Cycling conditions ^(a)
Method 1*: Oidtmann et al., 2006; GenBank Accession No.: AY310499; Product amplicon size: 569 bp			
<i>Aphanomyces astaci</i> & <i>A. fennicus</i> / ITS	Fwd: GCT-TGT-GCT-GAG-GAT-GTT-CT Rev: CTA-TCC-GAC-TCC-GCA-TTC-TG-	500 nM 500 nM	40 cycles of: 1 min/96°C, 1 min/59°C and 1 min/72°C

*This ITS-based method has been found to give positive results for the species *Aphanomyces fennicus* (Viljamaa-Dirks & Heinikainen 2019).

^(a)A denaturation step prior to cycling has not been included.

Confirmation of the identity of the PCR product by sequencing is required as a novel species, *A. fennicus*, isolated from noble crayfish was reported in 2019 (Viljamaa-Dirks & Heinikainen, 2019) that gave a positive reaction in this assay.

The assay consistently detects down to 500 fg of genomic target DNA or the equivalent amount of ten zoospores submitted to the PCR reaction (Tuffs & Oidtmann, 2011).

4.4.3. Other nucleic acid amplification methods

Several genotype-specific molecular methods have been developed that, instead of requiring a pure growth as sample material like the RAPD-PCR assay, can be used to analyse crayfish tissue directly (Di Domenico *et al.*, 2021; Grandjean *et al.*, 2014; Makkonen *et al.*, 2018; Minardi *et al.*, 2018; 2019). Detection of a known genotype group combined with a positive result by a recommended conventional or real-time PCR can be used as a confirmative test in geographical areas where crayfish plague is known to be present. However, the current knowledge of the genotype variation is mostly limited to a few original host species and new genotypes or subtypes are expected to be found. Thus, the suitability of these methods is limited for initial excluding diagnosis or as confirmative tests in geographical areas not known to be infected.

PCR targeting mitochondrial DNA with *A. astaci* genotype specific primers have been shown to detect the known genotypes of *A. astaci*, but these assays may also provide positive results for some other oomycete genera (Casabella-Herrero *et al.*, 2021).

4.5. Amplicon sequencing

~~The size of the PCR amplicon is verified by agarose gel electrophoresis, and purified by excision from this gel. Both DNA strands of the PCR product must be sequenced and analysed and compared in comparison with published reference sequences.~~

4.6. In-situ hybridisation

Not available.

4.7. Immunohistochemistry

Not available

4.8. Bioassay

No longer used for diagnostic purposes (see Cerenius *et al.*, 1988).

4.9. Antibody- or antigen-based detection methods

Not available.

5. Test(s) recommended for surveillance to demonstrate freedom in apparently healthy populations

The recommended method for surveillance is real-time PCR, the modified assay by Strand *et al.* (manuscript in preparation).

6. Corroborative diagnostic criteria

This section only addresses the diagnostic test results for detection of infection in the absence (Section 6.1.) or in the presence of clinical signs (Section 6.2.) but does not evaluate whether the infectious agent is the cause of the clinical event.

The case definitions for suspect and confirmed cases have been developed to support decision-making related to trade and confirmation of disease status at the country, zone or compartment level. Case definitions for disease confirmation in endemically affected areas may be less stringent. ~~It is recommended that all samples that yield suspect positive test results in an otherwise pathogen-free country or zone or compartment should be referred immediately to the WOA Reference Laboratory for confirmation, whether or not clinical signs are associated with the case.~~ If a laboratory Competent Authority does not have the capacity capability to undertake the necessary diagnostic tests it should seek advice from the appropriate WOA Reference Laboratory, and if necessary, refer samples to that laboratory for confirmatory testing of samples from the index case in a country, zone or compartment considered free.

6.1. Apparently healthy animals or animals of unknown health status⁵

Apparently healthy populations may fall under suspicion, and therefore be sampled, if there is an epidemiological link(s) to an infected population. Geographic proximity to, or movement of animals or animal products or equipment, etc., from a known infected population equate to an epidemiological link. Alternatively, healthy populations are sampled in surveys to demonstrate disease freedom.

6.1.1. Definition of suspect case in apparently healthy animals

The presence of infection with *Aphanomyces astaci* shall be suspected if at least **one of** the following **criterion criteria** is met:

- i) Positive result by real-time PCR
- ii) Positive result by conventional PCR

6.1.2. Definition of confirmed case in apparently healthy animals

The presence of infection with *Aphanomyces astaci* is considered to be confirmed if the following criterion is met:

- i) Positive result by real-time PCR and positive result by conventional PCR followed by amplicon sequencing

6.2 Clinically affected animals

Clinical signs are not pathognomonic for a single disease; however, they may narrow the range of possible diagnoses.

6.2.1. Definition of suspect case in clinically affected animals

The presence of infection with *Aphanomyces astaci* shall be suspected if at least one of the following criteria is met:

- i) Gross pathology or clinical signs associated with the disease as described in this chapter, with or without elevated mortality
- ii) Visual observation of hyphae indicative of *A. astaci* in wet mounts
- iii) Observation of hyphae indicative of *A. astaci* in stained histological sections
- iv) Culture and isolation of the pathogen
- v) Positive result by real-time PCR
- vi) Positive result by conventional PCR

6.2.2. Definition of confirmed case in clinically affected animals

⁵ For example transboundary commodities.

The presence of infection with *Aphanomyces astaci* is confirmed if the following criterion is met:

- i) Positive result by real-time PCR and positive result by conventional PCR and amplicon sequencing

6.3. Diagnostic sensitivity and specificity for diagnostic tests

The diagnostic performance of tests recommended for surveillance or diagnosis of infection with *Aphanomyces astaci* are provided in Tables 6.3.1. and 6.3.2 (none no data are currently available for either). This information can be used for the design of surveys for infection with *Aphanomyces astaci*, however, it should be noted that diagnostic performance is specific to the circumstances of each diagnostic accuracy study (including the test purpose, source population, tissue sample types and host species) and diagnostic performance may vary under different conditions. Data are only presented where tests are validated to at least level 2 of the validation pathway described in Chapter 1.1.2. and the information is available within published diagnostic accuracy studies.

6.3.1. For presumptive diagnosis of clinically affected animals

Test type	Test purpose	Source populations	Tissue or sample types	Species	DSe (n)	DSp (n)	Reference test	Citation

DSe = diagnostic sensitivity, DSp = diagnostic specificity, n = number of samples used in the study.

6.3.2. For surveillance of apparently healthy animals

Test type	Test purpose	Source populations	Tissue or sample types	Species	DSe (n)	DSp (n)	Reference test	Citation

DSe = diagnostic sensitivity, DSp = diagnostic specificity, n = number of samples used in the study.

7. References

- ALDERMAN D.J. (1996). Geographical spread of bacterial and fungal diseases of crustaceans. *Rev sci. tech. Off. int. Epiz.*, **15**, 603–632.
- ALDERMAN D.J. & POLGLASE J.L. (1985). Disinfection for crayfish plague. *Aquacult. Fish. Manage.*, **16**, 203–205.
- ALDERMAN D.J. & POLGLASE J.L. (1986). *Aphanomyces astaci*: isolation and culture. *J. Fish Dis.*, **9**, 367–379.
- ALDERMAN D.J., POLGLASE J.L. & FRAYLING M. (1987). *Aphanomyces astaci* pathogenicity under laboratory and field conditions. *J. Fish Dis.*, **10**, 385–393.
- CASABELLA-HERRERO G., MARTÍNEZ-RÍOS M., VILJAMAA-DIRKS S., MARTÍN-TORRIJOS L. & DIÉGUEZ-URIBEONDO J. (2021). *Aphanomyces astaci* mtDNA: insights into the pathogen's differentiation and its genetic diversity from other closely related oomycetes. *Fungal Biol.*, **125**, 316–325. doi: 10.1016/j.funbio.2020.11.010. Epub 2020 Dec 2.
- CERENIUS L. & SÖDERHÄLL K. (1984). Chemotaxis in *Aphanomyces astaci*, an arthropodparasitic fungus. *J. Invertabr. Pathol.*, **43**, 278–281.
- CERENIUS L., SÖDERHÄLL K. & FULLER M.S. (1987). *Aphanomyces astaci* and *Aphanomyces* spp. In: Zoosporic fungi in teaching and research, Fuller M.S. & Jaworski A., eds. South-Eastern Publishing Corp., Athens, Georgia, USA. pp 64–65.
- CERENIUS L., SÖDERHÄLL K., PERSSON M. & AJAXON R. (1988). The crayfish plague fungus, *Aphanomyces astaci* – diagnosis, isolation and pathobiology. *Freshwater Crayfish*, **7**, 131–144.

DI DOMENICO M., CURINI V., CAPRIOLI R., GIANISANTE C., MRUGAŁA A., MOJŽISOVÁ M., CAMMA C. & PETRUSEK A. (2021). Real-Time PCR assays for rapid Identification of common *Aphanomyces astaci* genotypes. *Front. Ecol. Evol.*, **9**, art 597585 doi:10.3389/fevo.2021.597585.

DIEGUEZ-URIBEONDO J., HUANG T.-S., CERENIUS L. & SÖDERHÄLL K. (1995). Physiological adaptation of an *Aphanomyces astaci* strain isolated from the freshwater crayfish *Procambarus clarkii*. *Mycol. Res.*, **99**, 574–578.

GRANDJEAN F., VRÅLSTAD T., DIÉGUEZ-URIBEONDO J., JELIĆ M., MANGOMBI J., DELAUNAY C., FILIPOVÁ L., REZINCIUC S., KOZUBÍKOVÁ-BALCAROVA E., GYONNET D., VILJAMAA-DIRKS S. & PETRUSEK A. (2014). Microsatellite markers for direct genotyping of the crayfish plague pathogen *Aphanomyces astaci* (Oomycetes) from infected host tissues. *Vet. Microbiol.*, **170**, 317–324.

HOLDICH D.M., REYNOLDS J.D., SOUTY-GROSSET C. & SIBLEY P.J. (2009). A review of the ever increasing threat to European crayfish from non-indigenous crayfish species. *Knowl. Manag. Aquat. Ec.*, **394–395**, 1–46.

HUANG T.S., CERENIUS L. & SÖDERHÄLL K. (1994). Analysis of genetic diversity in the crayfish plague fungus, *Aphanomyces astaci*, by random amplification of polymorphic DNA. *Aquaculture*, **126**, 1–10.

KOZUBÍKOVÁ E., VILJAMAA-DIRKS S., HEINIKAINEN S. & PETRUSEK A. (2011). Spiny-cheek crayfish *Orconectes limosus* carry a novel genotype of the crayfish plague agent *Aphanomyces astaci*. *J. Invertebr. Pathol.*, **108**, 214–216.

MAKKONEN J., JUSSILA J., PANTELEIT J., KELLER N.S., SCHRIMPF A., THEISSINGER K., KORTET R., MARTÍN-TORRIJOS L., SANDOVAL-SIERRA J.V., DIÉGUEZ-URIBEONDO J. & KOKKO H. (2018). MtDNA allows the sensitive detection and haplotyping of the crayfish plague disease agent *Aphanomyces astaci* showing clues about its origin and migration. *Parasitology*, **145**, 1210–1218. <https://doi.org/10.1017/S0031182018000227>.

MARTÍN-TORRIJOS L., CAMPOS LACH M., POU ROVIRA Q. & DIÉGUEZ-URIBEONDO J. (2017). Resistance to the crayfish plague, *Aphanomyces astaci* (Oomycota) in the endangered freshwater crayfish species, *Austropotamobius pallipes*. *PLoS ONE*, **12** (7), e0181226. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0181226>

MARTÍN-TORRIJOS L., MARTÍNEZ-RÍOS M., CASABELLA-HERRERO G., ADAMS S.B., JACKSON C.R. & DIÉGUEZ-URIBEONDO J. (2021). Tracing the origin of the crayfish plague pathogen, *Aphanomyces astaci*, to the Southeastern United States. *Sci. Rep.*, **11**, 9332. doi: 10.1038/s41598-021-88704-8.

MINARDI D., STUDHOLME D.J., OIDTMANN B., PRETTO T. & VAN DER GIEZEN M. (2019). Improved method for genotyping the causative agent of crayfish plague (*Aphanomyces astaci*) based on mitochondrial DNA. *Parasitology*, **146**, 1022–1029, doi:10.1017/S0031182019000283

MINARDI D., STUDHOLME D.J., VAN DER GIEZEN M., PRETTO T. & OIDTMANN B. (2018). New genotyping method for the causative agent of crayfish plague (*Aphanomyces astaci*) based on whole genome data. *J. Invertebr. Pathol.*, **156**, 6–13.

OIDTMANN B., GEIGER S., STEINBAUER P., CULAS A. & HOFFMANN R.W. (2006). Detection of *Aphanomyces astaci* in North American crayfish by polymerase chain reaction. *Dis. Aquat. Org.*, **72**, 53–64.

OIDTMANN B., HEITZ E., ROGERS D. & HOFFMANN R.W. (2002). Transmission of crayfish plague. *Dis. Aquat. Org.*, **52**, 159–167.

PAVIC D., ČANKOVIĆ M., PETRIĆ I., MAKKONEN J., HUDINA S., MAGUIRE I., VLADUŠIĆA T., ŠVER L., HRAŠĆANA R., ORLIĆ K., DRAGIČEVIĆ P. & BIELEN A. (2020) Non-destructive method for detecting *Aphanomyces astaci*, the causative agent of crayfish plague, on the individual level. *J. Invertebr. Pathol.*, **169**, 107274. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2019.107274>

RENNERFELT E. (1936). Untersuchungen über die Entwicklung und Biologie des Krebspestpilzes *Aphanomyces astaci* Schikora. Report of the Institute of Freshwater Research (Drottningholm, Sweden), **10**, 1–21.

SCHRIMPF A., SCHMIDT T. & SCHULZ R. (2014). Invasive Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) transmits crayfish plague pathogen (*Aphanomyces astaci*). *Aquatic Invasions*, **9**, 203–209. 10.3391/ai.2014.9.2.09.

SOUTY-GROSSET C., HOLDICH D.M., NOEL P.Y., REYNOLDS J.D. & HAFFNER P. (eds) (2006). Atlas of Crayfish in Europe. Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris (Patrimoines naturels, 64), 188 p.

-
- STRAND D.A., HOLST-JENSEN A., VILJUGREIN H., EDVARDSEN B., KLAVENESS D., JUSSILA J. & VRÅLSTAD T. (2011). Detection and quantification of the crayfish plague agent in natural waters: direct monitoring approach for aquatic environments. *Dis. Aquat. Org.*, **95**, 9–17.
- STRAND D.A., JUSSILA J., VILJAMAA-DIRKS S., KOKKO H., MAKKONEN J., HOLST-JENSEN A., VILJUGREIN H. & VRÅLSTAD T. (2012). Monitoring the spore dynamics of *Aphanomyces astaci* in the ambient water of latent carrier crayfish. *Vet. Microbiol.*, **160**, 99–107.
- STRAND D.A. (2013) Environmental DNA monitoring of the alien crayfish plague pathogen *Aphanomyces astaci* in freshwater systems – Sporulation dynamics, alternative hosts and improved management tools. *Dissertation book, University of Oslo Faculty of Mathematics and Natural Sciences Department of Biosciences, Oslo*, ISSN 1501-7710, 73 p.
- SVOBODA J., MRUGALA A., KOZUBÍKOVÁ-BALCAROVÁ E. & PETRUSEK A. (2017). Hosts and transmission of the crayfish plague pathogen *Aphanomyces astaci*: a review. *J. Fish Dis.*, **40**, 127–140. <https://doi.org/10.1111/jfd.12472>
- SODERHALL K. & CERENIUS L. (1999) The crayfish plague fungus: history and recent advances. *Freshwater Crayfish*, **12**, 11–34.
- THOMAS J.R., ROBINSON C.V., MRUGALA A., ELLISON A.R., MATTHEWS E., GRIFFITHS S.W., CONSUEGRA S. & CABLE J. (2020). Crayfish plague affects juvenile survival and adult behaviour of invasive signal crayfish. *Parasitology*, **1–9**, <https://doi.org/10.1017/S0031182020000165>
- TUFFS S & OIDTMANN B (2011). A comparative study of molecular diagnostic methods designed to detect the crayfish plague pathogen, *Aphanomyces astaci*. *Vet. Microbiol.*, **153**, 345–353.
- UNESTAM T. (1966). Studies on the crayfish plague fungus *Aphanomyces astaci*. II. Factors affecting zoospores and zoospore production. *Physiol. Plant.*, **19**, 1110–1119.
- ~~UNESTAM T. & SODERHALL K. (1977). Specialisation in crayfish defence and fungal aggressiveness upon crayfish plague infection. *Freshwater Crayfish*, **3**, 321–331.~~
- VILJAMAA-DIRKS S. (2006). Improved detection of crayfish plague with a modified isolation method. *Freshwater Crayfish*, **15**, 376–382.
- VILJAMAA-DIRKS S. & HEINIKAINEN S. (2019) A tentative new species *Aphanomyces fennicus* sp. nov. interferes with molecular diagnostic methods for crayfish plague. *J. Fish Dis.*, **42**, 413–422. <https://doi.org/10.1111/jfd.12955>
- VILJAMAA-DIRKS S., HEINIKAINEN S., NIEMINEN M., VENNERSTRÖM P. & PELKONEN S. (2011). Persistent infection by crayfish plague *Aphanomyces astaci* in a noble crayfish population – a case report. *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.*, **31**, 182–188.
- VILJAMAA-DIRKS S., HEINIKAINEN S., TORSSONEN H., PURSIANEN M., MATTILA J. & PELKONEN S. (2013). Distribution and epidemiology of genotypes of the crayfish plague *Aphanomyces astaci* from noble crayfish *Astacus astacus* in Finland. *Dis. Aquat. Org.*, **103**, 199–208.
- VRÅLSTAD T., JOHNSEN S.I., FRISTAD R., EDSMAN L. & STRAND D.A. (2011). Potent infection reservoir of crayfish plague now permanently established in Norway. *Dis. Aquat. Org.*, **97**, 75–83.
- VRÅLSTAD T., KNUTSEN A.K., TENGS T. & HOLST-JENSEN A. (2009). A quantitative TaqMan® MGB real-time polymerase chain reaction based assay for detection of the causative agent of crayfish plague *Aphanomyces astaci*. *Vet. Microbiol.*, **137**, 146–155.
- ~~WHITE T.J., BRUNS T., LEE S. & TAYLOR J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications, Innis M.A., Gelfand D.H., Sninsky J.J., White T.J., eds. Academic Press, San Diego, California, USA, pp. 315–322.~~

*
* *

NB: There is a WOA Reference Laboratory for infection with *Aphanomyces astaci* (crayfish plague)
(please consult the WOA web site for the most up-to-date list:
<https://www.woah.org/en/what-we-offer/expertise-network/reference-laboratories/#ui-id-3>).
Please contact the WOA Reference Laboratories for any further information on
infection with *Aphanomyces astaci* (crayfish plague)

NB: FIRST ADOPTED IN 1995; MOST RECENT UPDATES ADOPTED IN 2017.

CHAPTER 2.2.6.

INFECTION WITH *MACROBRACHIUM ROSENBERGII* NODAVIRUS (WHITE TAIL DISEASE)

1. Scope

Infection with *Macrobrachium rosenbergii* nodavirus means infection with the pathogenic agent *Macrobrachium rosenbergii* nodavirus (MrNV) in the Family *Nodaviridae*. The disease is commonly known as white tail disease (WTD).

Extra small virus (XSV) is associated with disease but its role has not been determined.

2. Disease information

2.1. Agent factors

2.1.1. Aetiological agent

Two viruses are associated with WTD, namely MrNV (primary) and extra small virus (XSV) (associate) (Qian et al., 2003; Romestand & Bonami, 2003). MrNV is a necessary cause of WTD in prawns, however, the role of XSV in pathogenicity remains unclear.

MrNV belongs in the family *Nodaviridae* (Bonami et al., 2005). While the physico-chemical properties of MrNV are consistent with those of other members of the *Nodaviridae*, it differs structurally and genetically from other nodaviruses within the two recognised genera, *Alphanodavirus* and *Betanodavirus* (Ho et al., 2017, 2018; Naveenkumar et al., 2013). Consequently, a third genus, *Gammanodavirus*, has been proposed for nodaviruses that infect crustaceans, including MrNV and *Penaeus vannamei* nodavirus (PvNV) (Naveenkumar et al., 2013).

XSV is the first sequenced satellite virus in aquatic animals and it is also the first record of a satellite-nodavirus association (Bonami et al., 2005). XSV has been classified by the ICTV as *Macrobrachium* satellite virus 1 of the family *Sarothroviridae*.

2.1.2. Survival and stability in processed or stored samples

Both viral pathogens (MrNV and XSV) are stable in processed or stored samples stored at –20 or –80°C. Storing the samples at –80°C is recommended for long-time storage and maintenance of pathogen virulence (Sahul Hameed & Bonami, 2012). The infected samples should be processed at low temperature to maintain the stability of the viruses. Viral inoculum prepared from infected prawn stored at –20°C caused 100% mortality in postlarvae (PL) of *M. rosenbergii* by immersion challenge (Qian et al., 2003; Sahul Hameed et al., 2004a). Ravi & Sahul Hameed (2016) found that MrNV in tissue suspensions was inactivated after exposure to 50°C for at least 5 min.

2.1.3. Survival and stability outside the host

Survival outside the host is not known.

2.2. Host factors

2.2.1. Susceptible host species

Species that fulfil the criteria for listing as susceptible to infection with MrNV according to Chapter 1.5. of the *Aquatic Animal Health Code (Aquatic Code)* are: giant river prawn (*Macrobrachium rosenbergii*).

2.2.2. Species with incomplete evidence for susceptibility

Species for which there is incomplete evidence to fulfil the criteria for listing as susceptible to infection with MrNV according to Chapter 1.5. of the *Aquatic Code* are: white leg shrimp (*Penaeus vannamei*).

In addition, pathogen-specific positive polymerase chain reaction (PCR) results (but not active infection) have been reported in the following species:

Family	Scientific name	Common name
Aeshnidae	<i>Aeshna</i> sp.	dragonfly
Artemiidae	<i>Artemia</i> sp.	brine shrimps
Belostomatidae	<i>Belostoma</i> sp.	giant water bug
Dytiscidae	<i>Cybister</i> sp.	beetle
Notonectidae	<i>Notonecta</i> sp.	backswimmer
Palaemonidae	<i>Macrobrachium rude</i>	hairy river prawn
	<i>Macrobrachium malcolmsonii</i>	monsoon river prawn
Parastacidae	<i>Cherax quadricarinatus</i>	red claw crayfish
Penaeidae	<i>Penaeus japonicus</i>	kuruma prawn
	<i>Penaeus indicus</i>	Indian white prawn
	<i>Penaeus monodon</i>	giant tiger prawn

2.2.3. Likelihood of infection by species, host life stage, population or sub-populations

Experimental pathogenicity studies revealed that larvae, PL and early juveniles of *M. rosenbergii* are susceptible to MrNV/XSV, whereas adults are resistant ([Gangnonngiwa et al., 2020](#); Qian et al., 2003; Sahul Hameed et al., 2004a).

No mortality was observed either in naturally or experimentally (MrNV/XSV) infected subadult and adult prawns. Experimental studies confirmed vertical transmission from infected broodstock to PL (Sudhakaran et al., 2007a).

2.2.4. Distribution of the pathogen in the host

MrNV and XSV have been demonstrated in gill tissue, head muscle, heart, abdominal muscle, ovaries, pleopods and tail muscle, but not the hepatopancreas or eyestalk (Sahul Hameed et al., 2004a; Sri Widada et al., 2003).

2.2.5. Aquatic animal reservoirs of infection

~~One study has~~ Studies have indicated the possibility that marine shrimp may ~~act as a reservoirs~~ for MrNV and XSV and that these viruses maintain virulence in the shrimp tissue system ([Senapin et al., 2012](#); Sudhakaran et al., 2006).

2.2.6. Vectors

Aquatic insects such as dragonfly (*Aeshna* sp.), giant water bug (*Belostoma* sp.), beetle (*Cybister* sp.) and backswimmer (*Notonecta* sp.) may act as mechanical carriers for MrNV/XSV and are a potential transmission risk to cultivated *Macrobrachium rosenbergii* (Sudhakaran et al., 2008). It is recommended to remove these insects from freshwater prawn culture systems, especially at larval-rearing centres. Sudhakaran et al. (2008) demonstrated RT-PCR positives from insects, and infected C6/36 insect cell line with tissue homogenates

from the insects. Viral replication was confirmed through EM and RT-PCR, but transmission from insects to naïve shrimp was not demonstrated.

2.3. Disease pattern

2.3.1. Mortality, morbidity and prevalence

Larvae, PL and juveniles of *M. rosenbergii* are susceptible to infection with *MrNV*, which often causes high mortalities in these life stages. Mortality may reach a maximum in about 5 or 6 days after the appearance of the first clinical signs. Very few PL with infection with *MrNV* survive beyond 15 days in an outbreak, but PL that survive may grow to market size. Adults are resistant to infection with *MrNV*, but act as carriers (Qian *et al.*, 2003; Sahul Hameed *et al.*, 2004a). Prevalence is variable from 10% to 100% in hatchery, nursery and grow-out systems (Arcier *et al.*, 1999; Qian *et al.*, 2003; Sahul Hameed *et al.*, 2004a; 2004b).

2.3.2. Clinical signs, including behavioural changes

Infected PL become opaque and develop a whitish appearance, particularly in the abdominal region. The whitish discoloration appears first in the second or third abdominal segment and gradually diffuses both anteriorly and posteriorly. In severe cases, degeneration of telson and uropods may occur. Floating exuviae (moult) in the tanks appear abnormal and resemble 'mica flakes' (Arcier *et al.*, 1999). The infected PL show progressive weakening of their feeding and swimming ability (Sahul Hameed *et al.*, 2004a).

2.3.3. Gross pathology

Infection with *MrNV* is indicated by the whitish coloration of abdominal muscle.

2.3.4. Modes of transmission and life cycle

Transmission is vertical by trans-ovum and horizontal by the waterborne route (Qian *et al.*, 2003; Sahul Hameed *et al.*, 2004a; Sudhakaran *et al.*, 2007a).

2.3.5. Environmental factors

Not available.

2.3.6. Geographical distribution

The disease was first reported in the ~~French West Indies~~ Caribbean (Arcier *et al.*, 1999), and later in Asia-Pacific (Murwantoko *et al.*, 2016; Owens *et al.*, 2009; Qian *et al.*, 2003; Saedi *et al.*, 2012; Sahul Hameed *et al.*, 2004b; Wang *et al.*, 2008; Yoganandhan *et al.*, 2006).

See WOA-WAHIS (<https://wahis.woah.org/#/home>) for recent information on distribution at the country level.

2.4. Biosecurity and disease control strategies

Preventive measures, such as screening of broodstock and PL, and good management practices may help to prevent infection with *MrNV* in culture systems. As the life cycle of *M. rosenbergii* is completed under controlled conditions, specific pathogen-free (SPF) broodstock and PL can be produced (Romestand & Bonami, 2003; Sri Widada *et al.*, 2003; Yoganandhan *et al.*, 2005).

2.4.1. Vaccination

Not available

2.4.2. Chemotherapy including blocking agents

No known chemotherapeutic agents are reported to treat *MrNV*-infected prawn.

2.4.3. Immunostimulation

The immunomodulatory effect of recombinant capsid protein and recombinant RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) protein of *MrNV* has been studied and the protection of viral challenged post-larvae from *MrNV* infection has been demonstrated (Farook et al., 2014; NaveenKumar et al., 2021).

2.4.4. Breeding resistant strains

None reported

2.4.5. Inactivation methods

A viral suspension treated with heat at 65°C for 2 hours destroyed infectivity of *MrNV* and XSV in challenge experiments (Qian et al., 2003). The viral inoculum exposed to UV irradiation for a period of 5 minutes and more was totally inactivated and failed to cause mortality in prawn PL of ~~prawn~~ (Ravi & Sahul Hameed, 2016).

2.4.6. Disinfection of eggs and larvae

Routine disinfection procedures followed for crustacean viral disease control are suggested.

2.4.7. General husbandry

MrNV is transmitted both horizontally and vertically in culture systems (Qian et al., 2003; Sahul Hameed et al., 2004a; Sudhakaran et al., 2007a). Good husbandry practices, such as proper disinfection of tanks and water may help to prevent infection. It is recommended to remove insects from freshwater prawn culture systems, especially at larval-rearing centres. Specific pathogen-free (SPF) broodstock and PL can be obtained from disease free populations or by RT-PCR screening and selection of negative broodstock (Romestand & Bonami, 2003; Sri Widada et al., 2003; Yoganandhan et al., 2005).

3. Specimen selection, sample collection, transportation and handling

3.1. Selection of populations and individual specimens

PLs are most suitable for detection of *MrNV*. PL showing clinical signs of disease can be sampled preferentially. Adults and juveniles can be sampled for *MrNV* however prevalence in these lifestages may be lower (see Section 2.3.1).

3.2. Selection of organs or tissues

The tissues most affected in moribund PLs/early juveniles are striated muscles of the abdomen, cephalothorax and tail. The whole PL body is preferred for detection of *MrNV* (Sahul Hameed et al., 2004b; Sri Widada et al., 2003; Yoganandhan et al., 2005). All organs of adult *M. rosenbergii* except eyestalks and the hepatopancreas, are best for screening the viruses by RT-PCR.

3.3. Samples or tissues not suitable for pathogen detection

Eyestalks and the hepatopancreas of adult prawns are not suitable (Sri Widada et al., 2003; Sahul Hameed et al., 2004a).

3.4. Non-lethal sampling

Pleopods (swimming legs) are a convenient source of RNA for non-destructive screening of *MrNV* in adult prawn (Sahul Hameed et al., 2004a).

If non-lethal tissue sample types differ from recommended tissues (see Section 3.2.), or from the tissue samples used in validation studies, the effect on diagnostic performance should be considered.

3.5. Preservation of samples for submission

Infected larvae or PL with prominent signs of whitish muscle in the abdominal region are collected from disease outbreak areas. Samples are washed in sterile saline, transferred to sterile tubes, and transported to the laboratory. For general guidance on sample preservation methods for the intended test methods, see Chapter 2.2.0.

3.5.1. Samples for pathogen isolation

Moribund or frozen PL samples can be used for isolation of viral pathogens using cell lines (C6/36 mosquito cell line (Sudhakaran et al., 2007b).

3.5.2. Preservation of samples for molecular detection

Infected samples stored at -80°C or samples preserved in 80% (v/v) analytical/reagent-grade (undenatured) ethanol should be used for RT-PCR for detection of *MrNV* (Sri Widada et al., 2003; Sahul Hameed et al., 2004b; Yoganandhan et al., 2005).

Standard sample collection, preservation and processing methods for molecular techniques can be found in Section B.5.5. of Chapter 2.2.0 *General information* (diseases of crustaceans).

3.5.3. Samples for histopathology, immunohistochemistry or *in-situ* hybridisation

Tissue samples for histopathology, immunohistochemistry or *in-situ* hybridisation should be fixed immediately after collection in neutral-buffered formalin or modified Davidson's fixative (Sri Widada et al., 2003). The recommended ratio of fixative to tissue is 10:1. Standard sample collection, preservation and processing methods for histological techniques can be found in Section 5.3. of Chapter 2.2.0 *General information* (diseases of crustaceans).

3.5.4. Samples for other tests

Not applicable

3.6. Pooling of samples

Pooling of samples from more than one individual animal for a given purpose ~~should only be~~ is only recommended where robust supporting data on diagnostic sensitivity and diagnostic specificity have been evaluated and found to be suitable. If the effect of pooling on diagnostic sensitivity has not been thoroughly evaluated, larger animals should be processed and tested individually. Small life stages such as PL, can be pooled to obtain the minimum amount of material for virus isolation or molecular detection.

4. Diagnostic methods

The methods currently available for identifying infection that can be used in i) surveillance of apparently healthy animals, ii) presumptive diagnosis in clinically affected animals and iii) confirmatory diagnostic purposes are listed in Table 4.1. by life stage.

Ratings against purposes of use. For each recommended assay a qualitative rating against the purpose of use is provided. The ratings are determined based on multiple performance and operational factors relevant to application of an assay for a defined purpose. These factors include appropriate diagnostic performance characteristics, level of assay validation, successful application by diagnostic laboratories, cost, timeliness, and sample throughput. For a specific purpose of use, assays are rated as:

+++ =	Most suitable methods – desirable performance and operational characteristics;
++ =	Suitable method(s) acceptable performance and operational characteristics under most circumstances;
+ =	Less suitable methods – performance or operational characteristics may significantly limit application;
Shaded boxes =	Not appropriate for this purpose.

Level of validation. The validation stage corresponds to the assay development and validation pathway in chapter 1.1.2. The validation stage is specific to each purpose of use. Where available, information on the diagnostic performance of recommended assays is provided in Section 6.3.

WOAH Reference Laboratories welcome feedback on diagnostic performance of recommended assays, in particular PCR methods. Of particular interest are any factors affecting expected assay sensitivity (e.g. tissue components inhibiting amplification) or expected specificity (e.g. failure to detect particular genotypes). These issues should be communicated to the WOAH Reference Laboratories so that advice can be provided to diagnostic laboratories and the standards amended if necessary.

Table 4.1. WOAHA recommended diagnostic methods for MrNV and their level of validation for surveillance of apparently healthy animals and investigation of clinically affected animals

Method	A. Surveillance of apparently healthy animals				B. Presumptive diagnosis of clinically affected animals				C. Confirmatory diagnosis ¹ of a suspect result from surveillance or presumptive diagnosis			
	Early life stages ²	Juveniles ²	Adults	LV	Early life stages ²	Juveniles ²	Adults	LV	Early life stages ²	Juveniles ²	Adults	LV
Wet mounts												
Histopathology						++	++	NA				
Cell culture												
Real-time RT-PCR	+++	+++	+++	1	+++	+++	+++	1	+++	+++	+++	1
Conventional RT-PCR	++	++	++	1	+++	+++	+++	2				
Conventional RT-PCR followed by amplicon sequencing									+++	+++	+++	2
<i>In-situ</i> hybridisation						++	++	1		++	++	1
Bioassay												
LAMP	++	++	++	1	++	++	++	1				
Ab-ELISA												
Ag-ELISA					++	++	++	1				
Lateral flow assay					++	++	++	2				
Other methods ³												

LV = level of validation, refers to the stage of validation in the WOAHA Pathway (chapter 1.1.2); NA = not available; PCR = polymerase chain reaction; LAMP = loop-mediated isothermal amplification; Ab- or Ag-ELISA = antibody or antigen enzyme-linked immunosorbent assay, respectively; IFAT = indirect fluorescent antibody test.

¹For confirmatory diagnoses, methods need to be carried out in combination (see Section 6). ²Susceptibility of early and juvenile life stages is described in Section 2.2.3.

³Specify the test used. Shading indicates the test is inappropriate or should not be used for this purpose.

4.1. Wet mounts

None to date

4.2. Histopathology and cytopathology

The most affected tissue in infected PL is striated muscle of the cephalothorax, abdomen and tail. Histological features include the presence of acute Zenker's necrosis of striated muscles, characterised by severe hyaline degeneration, necrosis and muscular lysis. Moderate oedema and abnormal open spaces among the affected muscle cells are also observed, as is the presence of large oval or irregular basophilic cytoplasmic inclusion bodies in infected muscles (Arcier *et al.*, 1999; Hsieh *et al.*, 2006).

4.3. Cell culture for isolation

MrNV has been isolated in insect cell lines, but this is not a recommended method (Hernandez-Herrera *et al.*, 2007; Sudhakaran *et al.*, 2007b).

4.4. Nucleic acid amplification

PCR methods for MrNV and XSV are included in this section for completeness. However, the case definitions in Section 6 are based on detection methods for MrNV only.

PCR assays should always be run with the controls specified in Section 5.5. *Use of molecular techniques for confirmatory testing and diagnosis* of Chapter 2.2.0 *General information* (diseases of crustaceans). Each sample should be tested in duplicate.

Extraction of nucleic acids

Different kits and procedures can be used for nucleic acid extraction. The quality and concentration of the extracted nucleic acid is important and can be checked using a suitable method as appropriate to the circumstances.

4.4.1. Real-time RT-PCR

Real-time RT-PCR assay can be performed using the SYBR Green dye based on the method described by Hernandez-Herrera *et al.* (2007) or the TaqMan assay described by Zhang *et al.* (2006).

Pathogen / target gene	Primer/probe (5'-3')	Concentration	Cycling parameters ^(a)
Method 1: Hernandez-Herrera <i>et al.</i> (2007); GenBank Accession No.: AY222839			
MrNV/RNA1	Fwd: AGG-ATC-CAC-TAA-GAA-CGT-GG Rev: CAC-GGT-CAC-AAT-CCT-TGC-G	500 nM 500 nM	40 cycles of: 95°C/15 sec, 60°C/5 sec and 72°C/10 sec
Method 2: Zhang <i>et al.</i> (2006); GenBank Accession No.: AY231436			
MrNV/RNA1	Fwd: CAA-CTC-GGT-ATG-GAA-CTC-AAG-GT Rev: AGG-AAA-TAC-ACG-AGC-AAG-AAA-AGT-C Probe: FAM-ACC-CTT-CGA-CCC-CAG-CAA-TGG-TG-TAMARA	1000 nM 1000 nM 400 nM	50 cycles of: 94°C/30 sec and 58°C/30 sec
Method 3: Zhang <i>et al.</i> (2006); GenBank Accession No.: DQ174318			
XSV	Fwd: AGC-CAC-ACT-CTC-GCA-TCT-GA Rev: CTC-CAG-CAA-AGT-GCG-ATA-CG Probe: FAM-CAT-GCC-CCA-TGA-TCC-TCG-CA-	1000 nM 1000 nM 400 nM	50 cycles of: 94°C/30 sec and 58°C/30 sec

	TAMARA		
--	--------	--	--

^(a)A denaturation step prior to cycling has not been included.

4.4.2. Conventional RT-PCR

The protocol for the conventional RT-PCR for detection of MrNV/XSV developed by Sri Widada *et al.* (2003), Sahul Hameed *et al.* (2004a; 2004b) and Sudhakaran *et al.* (2007a) is recommended. MrNV and XSV can be detected by conventional RT-PCR separately using a specific set of primers or these two viruses can be detected simultaneously using a single-tube one-step multiplex RT-PCR (Yoganandhan *et al.*, 2005). Conventional real-time RT-PCR is recommended in situations where high sensitivity is required.

Pathogen / target gene	Primer (5'–3')	Concentration	Cycling parameters ^(a)
Method 1: One step RT-PCR (Sri Widada <i>et al.</i> , 2003; Sahul Hameed <i>et al.</i> , 2004a, b; Sudhakaran <i>et al.</i> , 2007a) GenBank Accession No.: AY222840 (MrNV) and AY247793 (XSV); <u>amplicon size: 425 bp (MrNV) and 546 bp (XSV)</u>			
MrNV	Fwd: GCG-TTA-TAG-ATG-GCA-CAA-GG Rev: AGC-TGT-GAA-ACT-TCC-ACT-GG	0.02 nM <u>400 nM</u> 0.02 nM <u>400 nM</u>	30 cycles of: 94°C/40 sec, 55°C/40sec and 68°C/60 sec
XSV	Fwd: CGC-GGA-TCC-GAT-GAA-TAA-GCG-CAT-TAA-TAA Rev: CCG-GAA-TTC-CGT-TAC-TGT-TCG-GAG-TCC-CAA	0.02 nM <u>400 nM</u> 0.02 nM <u>400 nM</u>	30 cycles of: 94°C/40 sec, 55°C/40 sec and 68°C/60 sec
Method 2: nested RT-PCR using above-mentioned primers as external primers (Sudhakaran <i>et al.</i> , 2007a); <u>amplicon size: 205 bp (MrNV) and 236 bp (XSV)</u>			
MrNV	Internal primers: Fwd: GAT-GAC-CCC-AAC-GTT-ATC-CT Rev: GTG-TAG-TCA-CTT-GCA-AGA-GG	0.02 nM <u>1000 nM</u> 0.02 nM <u>1000 nM</u>	30 cycles of: 94°C/60 sec, 55°C/60 sec and 72°C/60 sec
XSV	Internal primers: Fwd: ACA-TTG-GCG-GTT-GGG-TCA-TA Rev: GTG-CCT-GTT-GCT-GAA-ATA-CC-3	0.02 nM <u>1000 nM</u> 0.02 nM <u>1000 nM</u>	30 cycles of: 94°C/60 sec, 55°C/60 sec and 72°C/60 sec
Method 3: Multiplex RT-PCR (Yoganandhan <i>et al.</i> , 2005); GenBank Accession No.: AY222840 (MrNV) and AY247793 (XSV); <u>amplicon size: 681 bp (MrNV) and 500 bp (XSV)</u>			
MrNV	Fwd: GAT-ACA-GAT-CCA-CTA-GAT-GAC-C Rev: GAC-GAT-AGC-TCT-GAT-AAT-CC	0.02 nM <u>400 nM</u> 0.02 nM <u>400 nM</u>	30 cycles of: 94°C/40 sec, 55°C/40 sec and 68°C/60 sec
XSV	Fwd: GGA-GAA-CCA-TGA-GAT-CAC-G Rev: CTG-CTC-ATT-ACT-GTT-CGG-AGT-C	0.02 nM <u>400 nM</u> 0.02 nM <u>400 nM</u>	30 cycles of: 94°C/40 sec, 55°C/40 sec and 68°C/60 sec

^(a)A denaturation step prior to cycling has not been included.

4.4.3. Other nucleic acid amplification methods: Loop-mediated isothermal amplification (LAMP)

Haridas *et al.* (2010) have applied loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for rapid detection of *MrNV* and XSV in the freshwater prawn. A set of four primers, two outer primers and two inner primers, have been designed separately for detection of *MrNV* and XSV.

4.5. Amplicon sequencing

The size of the PCR amplicon should be verified, for example by agarose gel electrophoresis. Both DNA strands of the PCR product must be sequenced and analysed in comparison with reference sequences.

4.6. *In-situ* hybridisation

The presence of *MrNV* in infected cells can be demonstrated in histological sections using a DIG-labelled DNA *in-situ* hybridisation probe specific for *MrNV* (Sri Widada *et al.*, 2003).

4.7. Immunohistochemistry

None developed.

4.8. Bioassay

Not used for diagnostic purposes.

4.9. Antibody- or antigen-based detection methods

4.9.1. ELISA

Antibody-based diagnostic methods for *MrNV* include the ELISA described by Romestand & Bonami (2003) or the triple-antibody sandwich (TAS) ELISA based on a monoclonal antibody (Qian *et al.*, 2006).

4.9.2. Lateral flow assay (LFA)

An antibody-based lateral flow assay (LFA) has been developed for the early detection of *MrNV* in the PL stage (Jamalpure *et al.*, 2021).

4.10. Other methods

None

5. Test(s) recommended for surveillance to demonstrate freedom in apparently healthy populations

Real-time RT-PCR is recommended for targeted surveillance to declare freedom from infection with *MrNV*.

6. Corroborative diagnostic criteria

This section only addresses the diagnostic test results for detection of infection in the absence (Section 6.1.) or in the presence of clinical signs (Section 6.2.) but does not evaluate whether the infectious agent is the cause of the clinical event.

The case definitions for suspect and confirmed cases have been developed to support decision-making related to trade and confirmation of disease status at the country, zone or compartment level. Case definitions for disease confirmation in endemically affected areas may be less stringent. If a Competent Authority does not have the capability to undertake the necessary diagnostic tests it should seek advice from the appropriate WOA Reference Laboratory, and if necessary, refer samples to that laboratory for confirmatory testing of samples from the index case in a country, zone or compartment considered free.

6.1. Apparently healthy animals or animals of unknown health status⁶

Apparently healthy populations may fall under suspicion, and therefore be sampled, if there is an epidemiological link(s) to an infected population. Hydrographical proximity to, or movement of animals or animal products or equipment, etc., from a known infected population equate to an epidemiological link. Alternatively, healthy populations are sampled in surveys to demonstrate disease freedom.

6.1.1. Definition of suspect case in apparently healthy animals

The presence of infection with *MrNV* shall be suspected if at least one of the following criteria is met:

- i) Positive result by real-time RT-PCR
- ii) Positive result by conventional RT-PCR
- iii) Positive result by LAMP

6.1.2. Definition of confirmed case in apparently healthy animals

The presence of infection with *MrNV* is considered to be confirmed if the following criterion is met:

- i) Positive result by real-time RT-PCR result and positive result by conventional RT-PCR and sequence analysis

6.2 Clinically affected animals

6.2.1. Definition of suspect case in clinically affected animals

The presence of infection with *MrNV* shall be suspected if at least one of the following criteria is met:

- i) Clinical signs consistent with infection by *MrNV*
- ii) Histopathology consistent with infection by *MrNV*
- iii) Positive result by real-time RT-PCR
- iv) Positive result by conventional RT-PCR
- v) Positive result by *in situ* hybridisation
- vi) Positive result by LAMP
- vii) Positive result by Ag ELISA
- viii) Positive result by lateral flow assay

6.2.2. Definition of confirmed case in clinically affected animals

The presence of infection with *MrNV* is considered to be confirmed if at least one of the following ~~criterion~~ criteria is met:

- i) Positive result by real time RT-PCR and positive result by conventional RT-PCR with sequence analysis
- ii) Positive result by ISH followed by positive result by conventional RT-PCR with sequence analysis
- iii) Positive result by ISH followed by positive result by real-time RT-PCR

6.3. Diagnostic sensitivity and specificity for diagnostic tests

⁶ For example transboundary commodities.

The diagnostic performance of tests recommended for surveillance or diagnosis of infection with MrNV are provided in Tables 6.3.1. and 6.3.2 (no data are currently available). This information can be used for the design of surveys for infection with MrNV, however, it should be noted that diagnostic performance is specific to the circumstances of each diagnostic accuracy study (including the test purpose, source population, tissue sample types and host species) and diagnostic performance may vary under different conditions. Data are only presented where tests are validated to at least level 2 of the validation pathway described in Chapter 1.1.2. and the information is available within published diagnostic accuracy studies.

6.3.1. For presumptive diagnosis of clinically affected animals

Test type	Test purpose	Source populations	Tissue or sample types	Species	DSe (n)	DSp (n)	Reference test	Citation
RT-PCR	Diagnosis	Clinically affected PL from hatchery and nursery	Whole post-larvae	<i>Macrobrachium rosenbergii</i>	100 (n=20)	100 (n=20)	Western blot or ELISA	Sri Widada et al. (2003); Sahul Hameed et al. (2011)
Lateral flow immune-assay	Surveillance	PL from prawn hatcheries	Whole post-larvae	<i>Macrobrachium rosenbergii</i>	100 (n=80)	90 (n=80)	RT-PCR	Jamalpura et al. (2021)

DSe = diagnostic sensitivity, DSp = diagnostic specificity, n = number of samples used in the study, RT-PCR: = reverse transcription polymerase chain reaction.

6.3.2. For surveillance of apparently healthy animals

Test type	Test purpose	Source populations	Tissue or sample types	Species	DSe (n)	DSp (n)	Reference test	Citation

DSe = diagnostic sensitivity, DSp = diagnostic specificity, n = number of samples used in the study, RT-PCR: = reverse transcription polymerase chain reaction.

7. References

ARCIER J.-M., HERMAN F., LIGHTNER D.V., REDMAN R.M., MARI J. & BONAMI J.-R. (1999). A viral disease associated with mortalities in hatchery-reared postlarvae of the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Dis. Aquat. Org.*, **38**, 177–181.

BONAMI J.R., SHI Z., QIAN D. & SRI WIDADA J. (2005). White tail disease of the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*: separation of the associated virions and characterization of MrNV as a new type of nodavirus. *J. Fish Dis.*, **28**, 23–31.

FAROOK M.A., SUNDAR RAJ N., MADAN N., VIMAL S., ABDUL MAJEED S., TAJU G., RAJKUMAR T., SANTHOSHKUMAR S., SIVAKUMAR S. & SAHUL HAMEED A.S. (2014). Immunomodulatory effect of recombinant *Macrobrachium rosenbergii* nodavirus capsid protein (r-MCP) against white tail disease of giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man, 1879). *Aquaculture*, **433**, 395–403.

GANGNONNGIWA W., BUNNONTAE M., PHIWSAIYAA K., SENAPINA S. & DHAR A.K. (2020). In experimental challenge with infectious clones of *Macrobrachium rosenbergii* nodavirus (MrNV) and extra small virus (XSV), MrNV alone can cause mortality in freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*). *Virology*, **540**, 30–37. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2019.11.004>

-
- HARIDAS D.V., PILLAI D., MANOJKUMAR B., NAIR C.M. & SHERIEF P.M. (2010). Optimisation of reverse transcriptase loop-mediated isothermal amplification assay for rapid detection of *Macrobrachium rosenbergii* nodavirus and extra small virus in *Macrobrachium rosenbergii*. *J. Virol. Methods*, **167**, 61–67.
- HERNANDEZ-HERRERA R.I., CHAPPE-BONNICHON V., ROCH P., SRI WIDADA J. & BONAMI J.R. (2007). Partial susceptibility of the SSN-1 fish cell line to a crustacean virus: a defective replication study. *J. Fish Dis.*, **30**, 673–679.
- HO K.L., GABRIELSEN M., BEH P.L., KUEH C.L., THONG Q.X. & STREETLEY J. (2018). Structure of the *Macrobrachium rosenbergii* nodavirus: a new genus within the nodaviridae? *PLOS Biology*, **16**, e3000038.
- HO K.L., KUEH C.L., BEH P.L., TAN W.S. & BHELLA D. (2017). Cryo-Electron microscopy structure of the *Macrobrachium rosenbergii* nodavirus capsid at 7 angstroms resolution. *Scientific Reports*, **7**, 2083.
- HSIEH C.-Y., WU Z.-B., TUNG M.-C., TU C., LO S.-P., CHANG T.-C., CHANG C.-D., CHEN S.-C., HSIEH Y.-C. & TSAI S.-S. (2006). *In situ* hybridization and RT-PCR detection of *Macrobrachium rosenbergii* nodavirus in giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man), in Taiwan. *J. Fish Dis.*, **29**, 665–671. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2006.00762.x>
- JAMALPURE S., VIMAL S., NAFEEZ AHMED A., SAHUL HAMEED A.S., PAKNIKAR K.M. & JYTIKA M.R. (2021). On-site detection of nodavirus in post larval (PL) stage of the giant prawn, *Macrobrachium rosenbergii*: A test to nip the problem in the bud. *Aquaculture*, **534**, 736292; <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736292>
- MURWANTOKO M., ARIF B., ROOSMANTO R & MASASHI K. (2016). *Macrobrachium rosenbergii* nodavirus infection in a giant freshwater prawn hatchery in Indonesia. *Springer Plus*, **5**, 1729.
- NAVEENKUMAR S., SHEKAR M., KARUNASAGAR I. & KARUNAS I. (2013). Genetic analysis of RNA1 and RNA2 of *Macrobrachium rosenbergii* nodavirus (MrNV) isolated from India. *Virus Res.*, **173**, 377–385. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2013.01.003><https://doi.org/10.1016/j.virusres.2013.01.003>
- NAVEEN KUMAR S., PRAVEEN R., INDRANI K. & KARUNASAGAR I. (2021). Recombinant viral proteins delivered orally through inactivated bacterial cells induce protection in *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) against White Tail Disease. *J. Fish Dis.*, **44**, 601–612.
- OWENS L., LA FAUCE K., JUNTUNEN K., HAYAKIKOSOL O. & ZENG C. (2009). *Macrobrachium rosenbergii* nodavirus disease (white tail disease) in Australia. *Dis. Aquat. Org.*, **85**, 175–180.
- QIAN D., LIU W., JIANXIANG W. & YU L. (2006). Preparation of monoclonal antibody against *Macrobrachium rosenbergii* Nodavirus and application of TAS-ELISA for virus diagnosis in post-larvae hatcheries in east China during 2000–2004. *Aquaculture*, **261**, 1144–1150.
- QIAN D., SHI Z., ZHANG S., CAO Z., LIU W., LI L., XIE Y., CAMBOURNAC I. & BONAMI J.R. (2003). Extra small virus-like particles (XSV) and nodavirus associated with whitish muscle disease in the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *J. Fish Dis.*, **26**, 521–527.
- RAVI N. & SAHUL HAMEED A.S. (2016). Effect of chemical and physical treatments on the inactivation of *Macrobrachium rosenbergii* nodavirus (MrNV) and extra small virus (XSV). *Aquaculture Res.*, **47**, 1231–1237.
- ROMESTAND B. & BONAMI J.R. (2003). A sandwich enzyme linked immunosorbent assay (S-ELISA) for detection of MrNV in the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). *J. Fish Dis.*, **26**, 71–75.
- SAEDI T. A., HASSAN M., WEN S. T., KHATIJAH Y., HASSAN M.D., KUA B.C., SOON G.T. & SUBHA B. (2012). Detection and phylogenetic profiling of nodavirus associated with white tail disease in Malaysian *Macrobrachium rosenbergii* de Man. *Mol. Biol. Rep.*, **39**, 5785–5790.
- SAHUL HAMEED A.S. & BONAMI J.R. (2012). White Tail Disease of Freshwater Prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *Indian J. Virol.*, **23**, 134–140.
-

SAHUL HAMEED A.S., RAVI M., FAROOK M.A., TAJU G., HERNANDEZ-HERRERA R.I. & BONAMI J.R. (2011). Screening the post-larvae of *Macrobrachium rosenbergii* for early detection of *Macrobrachium rosenbergii* nodavirus (MrNV) and extra small virus (XSV) by RT-PCR and immunological techniques. *Aquaculture*, **317**, 42–47. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.04.022>

SAHUL HAMEED A.S., YOGANANDHAN K., SRI WIDADA J. & BONAMI J.R. (2004a). Experimental transmission and tissue tropism of *Macrobrachium rosenbergii* nodavirus (MrNV) and its associated small virus (XSV). *Dis. Aquat. Org.*, **62**, 191–196.

SAHUL HAMEED A.S., YOGANANDHAN K., SRI WIDADA J. & BONAMI J.R. (2004b). Studies on the occurrence of *Macrobrachium rosenbergii* nodavirus and extra small virus-like particles associated with white tail disease of *M. rosenbergii* in India by RT-PCR detection. *Aquaculture*, **238**, 127–133.

SENAPIN S., JAENGSAKONG C., PHIWISAIYA K., PRASERTSRI S., LAISUTISAN K., CHUCHIRD N. & FLEGEL T.W. (2012). Infections of MrNV (*Macrobrachium rosenbergii* nodavirus) in cultivated whiteleg shrimp *Penaeus vannamei* in Asia. *Aquaculture*, **338–341**, 41–46. [10.1016/j.aquaculture.2012.01.019](http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.01.019)

SRI WIDADA J., DURAND S., CAMBOURNAC I., QIAN D., SHI Z., DEJONGHE E., RICHARD V. & BONAMI J.R. (2003). Genome-based detection methods of *Macrobrachium rosenbergii* nodavirus, a pathogen of the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*: dot-blot, *in situ* hybridization and RT-PCR. *J. Fish Dis.*, **26**, 583–590.

SRI WIDADA J., RICHARD V., SHI Z., QIAN D. & BONAMI J.R. (2004). Dot-Blot hybridization and RT-PCR detection of extra small virus (XSV) associated with white tail disease of prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Dis. Aquat. Org.*, **58**, 83–87.

SUDHAKARAN R., HARIBABU P., KUMAR S.R., SARATHI M., AHMED V.P., BABU V.S., VENKATESAN C. & HAMEED A.S. (2008). Natural aquatic insect carriers of *Macrobrachium rosenbergii* nodavirus (MrNV) and extra small virus (XSV). *Dis. Aquat. Org.*, **79**, 141–145. doi: 10.3354/dao01886.

SUDHAKARAN R., ISHAQ AHMED V.P., HARIBABU P., MUKHERJEE S.C., SRI WIDADA J., BONAMI J.R. & SAHUL HAMEED A.S. (2007a). Experimental vertical transmission of *Macrobrachium rosenbergii* nodavirus (MrNV) and extra small virus (XSV) from brooders to progeny in *Macrobrachium rosenbergii* and *Artemia*. *J. Fish Dis.*, **30**, 27–35.

SUDHAKARAN R., PARAMESWARAN V. & SAHUL HAMEED A.S. (2007b). *In vitro* replication of *Macrobrachium rosenbergii* nodavirus and extra small virus (XSV) in C6/36 mosquito cell line. *J. Virol. Methods*, **146**, 112–118.

SUDHAKARAN R., SYED MUSTHAQ S., HARIBABU P., MUKHERJEE S.C., GOPAL C. & SAHUL HAMEED A.S. (2006). Experimental transmission of *Macrobrachium rosenbergii* nodavirus (MrNV) and extra small virus (XSV) in three species of marine shrimp (*Penaeus indicus*, *Penaeus japonicus* and *Penaeus monodon*). *Aquaculture*, **257**, 136–141.

WANG C.S., CHANG J.S., WEN C.M., SHIH H.H., & CHEN S.N. (2008). *Macrobrachium rosenbergii* nodavirus infection in *M. rosenbergii* (de Man) with white tail disease cultured in Taiwan. *J. Fish Dis.*, **31**, 415–422.

YOGANANDHAN K., LEARTVIBHAS M., SRIWONGPUK S. & LIMSUVAN C. (2006). White tail disease of the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* in Thailand. *Dis. Aquatic. Org.*, **69**, 255–258.

YOGANANDHAN K., SRI WIDADA J., BONAMI J.R. & SAHUL HAMEED A.S. (2005). Simultaneous detection of *Macrobrachium rosenbergii* nodavirus and extra small virus by a single tube, one-step multiplex RT-PCR assay. *J. Fish Dis.*, **28**, 65–69.

ZHANG H., WANG J., YUAN J., LI L., ZHANG J., BONAMI J.-R. & SHI Z. (2006). Quantitative relationship of two viruses (MrNV and XSV) in white tail disease of *Macrobrachium rosenbergii*. *Dis. Aquat. Org.*, **71**, 11–17.

*
* *

NB: There is a WOA Reference Laboratory for infection with *Macrobrachium rosenbergii* nodavirus (white tail disease) (please consult the WOA web site: <https://www.woah.org/en/what-we-offer/expertise-network/reference-laboratories/#ui-id-3>) any further information on infection with *Macrobrachium rosenbergii* nodavirus (white tail disease)

NB: FIRST ADOPTED IN 2009. MOST RECENT UPDATES ADOPTED IN 2017.

CHAPTER 2.2.9

INFECTION WITH YELLOW HEAD VIRUS GENOTYPE 1

1. Scope

Infection with yellow head virus genotype 1 means infection with the pathogenic agent yellow head virus genotype 1 (YHV1) of the Genus *Okavirus* and Family *Roniviridae*.

2. Disease information

2.1. Agent factors

2.1.1. Aetiological agent

Yellow head virus genotype 1 (YHV1; species *Yellow head virus*) is one of eight known genotypes in the yellow head complex of viruses and is the only known genotype that causes yellow head disease. YHV1 forms enveloped, rod-shaped particles 40–50 nm × 150–180 nm (Chantanachookin *et al.*, 1993; Wongteerasupaya *et al.*, 1995). Envelopes are studded with prominent peplomers projecting approximately 11 nm from the surface. Nucleocapsids appear as rods (diameter 20–30 nm) and possess a helical symmetry with a periodicity of 5–7 nm. Virions comprise three structural proteins (nucleoprotein p20 and envelope glycoproteins gp64 and gp116) and a ~26 kb positive-sense single-stranded RNA genome. The nucleotide sequence of the ORF1b region of the viral genome has been used to determine the phylogenetic relationships of YHV1 and other yellow head virus genotypes (Dong *et al.*, 2017; Mohr *et al.*, 2015; Wijegoonawardane *et al.*, 2008a).

YHV1, yellow head virus genotype 2 (YHV2; species *Gill-associated virus*) and yellow head virus genotype 8 (YHV8; species *Okavirus 1*) have been formally classified by the International Committee on Taxonomy of Viruses (Walker *et al.*, 2021). Four other genotypes in the complex (YHV3–YHV6) occur commonly in healthy *Penaeus monodon* in East Africa, Asia and Australia and are rarely or never associated with disease (Walker *et al.*, 2001; Wijegoonawardane *et al.*, 2008a). Of the remaining two yellow head virus genotypes, YHV7 was detected in diseased *P. monodon* in Australia (Mohr *et al.*, 2015) and YHV8 was detected in *P. chinensis* suspected of suffering from acute hepatopancreatic necrosis disease (Liu *et al.*, 2014). There is evidence of genetic recombination between genotypes (Wijegoonawardane *et al.*, 2009).

2.1.2. Survival and stability in processed or stored samples

YHV1, identified by either transmission electron microscopy (TEM) (Nunan *et al.*, 1998), or molecular methods (Durand *et al.*, 2000; McColl *et al.*, 2004), has been detected in frozen commodity prawns with infectivity demonstrated by bioassay.

2.1.3. Survival and stability outside the host

YHV1 remains viable in aerated seawater for up to 72 hours (Flegel *et al.*, 1995b).

For inactivation methods, see Section 2.4.5.

2.2. Host factors

2.2.1. Susceptible host species

Species that fulfil the criteria for listing as susceptible to infection with YHV1 according to Chapter 1.5 of the *Aquatic Animal Health Code (Aquatic Code)* are: blue shrimp (*Penaeus stylirostris*), dagger blade grass shrimp (*Palaemonetes pugio*), giant tiger prawn (*Penaeus monodon*), jinga shrimp (*Metapenaeus affinis*) 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 as susceptible to infection with YHV1 according to Chapter 1.5 of the *Aquatic Code* are:

Family	Scientific name	Common name
Palaemonidae	<i>Palaemon serrifer</i>	carpenter prawn
	<i>Palaemon styliferus</i>	Pacific blue prawn
	<i>Macrobrachium sintangense</i>	Sunda river prawn
Parastacidae	<i>Cherax quadricarinatus</i>	red claw crayfish
Penaeidae	<i>Metapenaeus brevicornis</i>	yellow shrimp
	<i>Penaeus aztecus</i>	northern brown shrimp
	<i>Penaeus duorarum</i>	northern pink shrimp
	<i>Penaeus japonicus</i>	kuruma prawn
	<i>Penaeus merguensis</i>	banana prawn
	<i>Penaeus setiferus</i>	northern white shrimp

In addition, pathogen-specific positive polymerase chain reaction (PCR) results have been reported in the

following species, but an active infection has not been demonstrated: acorn barnacle (*Chelonibia patula*), blue crab (*Callinectes sapidus*), cyclopoid copepod (*Ergasilus manicatus*), gooseneck barnacle (*Octolasmis muelleri*), Gulf killifish (*Fundulus grandis*) and paste shrimp (*Acetes* sp.).

2.2.3. Likelihood of infection by species, host life stage, population or sub-populations

Penaeus monodon are susceptible to YHV1 infection beyond PL15 (Khongpradit et al., 1995). Lightner et al. (1998) YHV1 challenge caused disease in juveniles of *Penaeus aztecus*, *P. duorarum*, *P. setiferus*, and *P. vannamei* but postlarvae appeared resistant (Lightner et al. 1998). YHV1 infections are usually detected only when disease is evident, however infections have been detected in healthy wild populations of *P. stylirostris* (Castro-Longoria et al., 2008). Natural YHV1 infections have been detected in *P. japonicus*, *P. merguensis*, *P. setiferus*, *Metapenaeus ensis*, and *P. styliferus* (Cowley et al., 2002; Flegel et al., 1995a; 1995b).

2.2.4. Distribution of the pathogen in the host

YHV1 targets tissues of ectodermal and mesodermal origin including lymphoid organ, haemocytes, haematopoietic tissue, gill lamellae and spongy connective tissue of the subcutis, gut, antennal gland, gonads, nerve tracts and ganglia (Chantanachookin et al., 1993; Lightner, 1996).

2.2.5. Aquatic animal reservoirs of infection

YHV1 was detected by reverse-transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) in clinically normal wild *P. stylirostris* collected for surveillance purposes in the Gulf of California in 2003 (Castro-Longoria et al., 2008). The infectious nature of the YHV1 detected was confirmed by experimental infections. There is also evidence that YHV1 can persist in survivors of experimental infection (Longyant et al., 2005; 2006).

2.2.6. Vectors

There are no known vectors of YHV1.

2.3. Disease pattern

2.3.1. Mortality, morbidity and prevalence

In farmed *P. monodon*, YHV disease can cause up to 100% mortality within 3–5 days of the first appearance of clinical signs (Chantanachookin et al., 1993). Mortalities can be induced by experimental exposure of *P. monodon* to YHV1 (Oanh et al., 2011).

2.3.2. Clinical signs, including behavioural changes

Shrimp from late postlarvae (PL) stages onwards can be infected experimentally with YHV1. In cultured shrimp, infection can result in mass mortality occurring, usually in early to late juvenile stages. Moribund shrimp may exhibit a bleached overall appearance and a yellowish discoloration of the cephalothorax. However, these disease features are not particularly distinctive, and gross signs are not reliable even for preliminary diagnosis of YHV1.

Exceptionally high feeding activity followed by an abrupt cessation of feeding may occur within 2–4 days of the appearance of gross clinical signs of disease and mortality. Moribund shrimp may congregate at pond edges near the surface (Chantanachookin et al., 1993).

2.3.3 Gross pathology

The yellow hepatopancreas of diseased shrimp may be exceptionally soft when compared with the brown hepatopancreas of a healthy shrimp (Chantanachookin et al., 1993).

2.3.4. Modes of transmission and life cycle

YHV1 can be transmitted horizontally by ingestion of infected tissue, immersion in membrane-filtered tissue extracts, or by cohabitation with infected shrimp (Walker & Sittidilokratna, 2008). YHV1 replicates in the cytoplasm of infected cells in which long filamentous pre-nucleocapsids are abundant and virions bud into cytoplasmic vesicles in densely packed paracrystalline arrays for egress at the cytoplasmic membrane (Chantanachookin et al., 1993).

2.3.5. Environmental factors

Elevated virus infection levels accompanied by disease can be precipitated by physiological stress induced by sudden changes in pH or dissolved oxygen levels, or other environmental factors (Flegel et al., 1997).

2.3.6. Geographical distribution

YHV1 has been reported in South-East Asia (Walker et al., 2001). YHV1 has also been detected in *P. stylirostris* and *P. vannamei* in the Americas (Castro-Longoria et al., 2008; Sanchez-Barajas et al., 2009).

See WAHIS (<https://wahis.woah.org/#/home>) for recent information on distribution at the country level.

2.4. Biosecurity and disease control strategies

2.4.1. Vaccination

None available.

2.4.2. Chemotherapy including blocking agents

No effective commercial anti-viral product is yet available.

2.4.3. Immunostimulation

A multi-target dsRNA for simultaneous inhibition of YHV1 and white spot syndrome virus demonstrated inhibition of the two viruses when administered to shrimp by injection (Chaimongkon et al., 2020)

2.4.4. Breeding resistant strains

Not reported.

2.4.5. Inactivation methods

YHV1 can be inactivated by heating at 60°C for 15 minutes (Flegel *et al.*, 1995b). Little information is available on other inactivation methods but the virus appears to be susceptible to treatment with chlorine at 30 parts per million (0.03 mg ml⁻¹) (Flegel *et al.*, 1997).

2.4.6. Disinfection of eggs and larvae

Not reported.

2.4.7. General husbandry

The focus is to exclude YHV1 from entering production systems; for example, by using specific pathogen-free (SPF) stock, batch testing stock and biosecurity measures to reduce entry into culture systems.

3. Specimen selection, sample collection, transportation and handling

This section draws on information in Sections 2.2, 2.3 and 2.4 to identify populations, individuals and samples that are most likely to be infected.

3.1. Selection of populations and individual specimens

For diagnosis during a disease outbreak, moribund shrimp collected from pond edges are the preferred source of material for examination. Apparently healthy shrimp should also be collected from the same ponds. For surveillance in populations of apparently healthy shrimp, life stages from PL stage 15 onwards can provide tissue sources useful for testing.

3.2. Selection of organs or tissues

In moribund shrimp suspected to be infected with YHV1, pleopods, gill and lymphoid organ are the most suitable sample tissues. For screening or surveillance of juvenile or adult shrimp that appear grossly normal, pleopods or gills are preferred.

3.3. Samples or tissues not suitable for pathogen detection

Not determined.

3.4. Non-lethal sampling

Haemolymph can be used for non-lethal sampling.

If non-lethal tissue sample types differ from recommended tissues (see Section 3.2.), or from the tissue samples used in validation studies, the effect on diagnostic performance should be considered.

3.5. Preservation of samples for submission

For guidance on sample preservation methods for the intended test methods, see Chapter 2.2.0 *General information* (diseases of crustaceans).

3.5.1. Samples for bioassay

The success of bioassay depends strongly on the quality of samples (time since collection and time in storage). Fresh specimens should be kept on ice and preferably sent to the laboratory within 24 hours of collection. To avoid degradation of samples, use alternative storage methods only after consultation with the receiving laboratory.

3.5.2. Preservation of samples for molecular detection

Tissue samples for PCR testing should be preserved in 70–90% (v/v) analytical/reagent-grade (absolute) ethanol. The recommended ratio of ethanol to tissue is 10:1 based on studies in terrestrial animal and human

health. The use of lower grade (laboratory or industrial grade) ethanol is not recommended. If material cannot be fixed it can be frozen at –20°C or below for 1 month or less; for long-term storage, –80°C is recommended.

Standard sample collection, preservation and processing methods for molecular techniques can be found in Section B.5.5. of Chapter 2.2.0 *General information* (diseases of crustaceans).

3.5.3. Samples for histopathology, immunohistochemistry or *in-situ* hybridisation

Standard sample collection, preservation and processing methods for histological techniques can be found in Section B.2.2 of Chapter 2.2.0 *General information* (diseases of crustaceans).

3.5.4. Samples for other tests

Not applicable.

3.6. Pooling of samples

Pooling of samples from more than one individual animal for a given purpose is only recommended where robust supporting data on diagnostic sensitivity and diagnostic specificity have been evaluated and found to be suitable. If the effect of pooling on diagnostic sensitivity has not been thoroughly evaluated, larger specimens should be processed and tested individually. Small life stages can be pooled to obtain the minimum amount of material for molecular detection.

4. Diagnostic methods

The methods currently available for pathogen detection that can be used in i) surveillance of apparently healthy animals, ii) presumptive diagnosis in clinically affected animals and iii) confirmatory diagnostic purposes are listed in Table 4.1. by animal life stage.

Ratings for purposes of use. For each recommended assay a qualitative rating for the purpose of use is provided. The ratings are determined based on multiple performance and operational factors relevant to application of an assay for a defined purpose. These factors include appropriate diagnostic performance characteristics, level of assay validation, availability cost, timeliness, and sample throughput and operability. For a specific purpose of use, assays are rated as:

+++ =	Methods are most suitable with desirable performance and operational characteristics.
++ =	Methods are suitable with acceptable performance and operational characteristics under most circumstances.
+ =	Methods are suitable, but performance or operational characteristics may limit application under some circumstances.
Shaded boxes =	Not appropriate for this purpose.

Validation stage. The validation stage corresponds to the assay development and validation pathway in chapter 1.1.2. The validation stage is specific to each purpose of use. Where available, information on the diagnostic performance of recommended assays is provided in Section 6.3.

WOAH Reference Laboratories welcome feedback on diagnostic performance of recommended assays, in particular PCR methods. Of particular interest are any factors affecting expected assay sensitivity (e.g. tissue components inhibiting amplification) or expected specificity (e.g. failure to detect particular genotypes, detection of homologous sequences within the host genome). These issues should be communicated to the WOAH Reference Laboratories so that advice can be provided to diagnostic laboratories and the standards amended if necessary.

Table 4.1. WOAHA recommended diagnostic methods and their level of validation for surveillance of apparently healthy animals and investigation of clinically affected animals

Method	A. Surveillance of apparently healthy animals				B. Presumptive diagnosis of clinically affected animals				C. Confirmatory diagnosis ¹ of a suspect result from surveillance or presumptive diagnosis			
	Early life stages ²	Juveniles ²	Adults	LV	Early life stages ²	Juveniles ²	Adults	LV	Early life stages ²	Juveniles ²	Adults	LV
Wet mounts												
Histopathology						++	++	1				
Cell culture												
Real-time RT-PCR												
Conventional RT-PCR	++	++	++	1	++	++	++	1				
Conventional PCR followed by amplicon sequencing									++	+++	+++	1
<i>In-situ</i> hybridisation						++	++	1				
Bioassay					+	+	+	1				
LAMP												
Ab-ELISA												
Ag-ELISA												
Other antigen detection methods ³												
Other methods ³												

LV = level of validation, refers to the stage of validation in the WOAHA Pathway (chapter 1.1.2); PCR = polymerase chain reaction; LAMP = loop-mediated isothermal amplification;

Ab- or Ag-ELISA = antibody or antigen enzyme-linked immunosorbent assay, respectively; IFAT = indirect fluorescent antibody test.

¹For confirmatory diagnoses, methods need to be carried out in combination (see Section 6). ²Susceptibility of early and juvenile life stages is described in Section 2.2.3.

³Specify the test used. Shading indicates the test is inappropriate or should not be used for this purpose.

4.1. Wet mounts

Not applicable.

4.2. Histopathology and cytopathology

Fix the cephalothorax tissues of moribund shrimp suspected to be affected by YHV1 in Davidson's fixative, prepare tissue sections and stain with Meyer's haematoxylin and eosin (H&E) using standard histological procedures (Lightner, 1996). Examine tissues of ectodermal and mesodermal origin by light microscopy for the presence of moderate to large numbers of deeply basophilic, evenly stained, spherical, cytoplasmic inclusions approximately 2 µm in diameter or smaller (Chantanachookin *et al.*, 1993). Tissues of the lymphoid organ, stomach subcuticulum and gills are particularly informative.

Lymphoid organ spheroids are commonly observed in healthy *P. monodon* chronically infected with YHV1 or GAV and lymphoid organ necrosis often accompanies disease (Spann *et al.*, 1997). However, spheroid formation and structural degeneration of lymphoid organ tissue also result from infection by other shrimp viruses (Lightner, 1996).

4.3. Cell culture for isolation

Although primary shrimp cell culture methods are available, they are not recommended to isolate and identify YHV1 as a routine diagnostic method. No continuous cell lines suitable for YHV1 culture are available.

4.4. Nucleic acid amplification

PCR assays should always be run with the controls specified in Section 5.5 *Use of molecular and antibody-based techniques for confirmatory testing and diagnosis* of Chapter 2.2.0 *General information* (diseases of crustaceans). Each sample should be tested in duplicate.

Extraction of nucleic acids

Different kits and procedures can be used for nucleic acid extraction. The quality and concentration of the extracted nucleic acid is important and can be checked using a suitable method as appropriate to the circumstances.

4.4.1. Real-time PCR

Not available.

4.4.2. Conventional RT-PCR

Three RT-PCR protocols are described. For all conventional RT-PCR protocols, assignment to YHV genotype 1 can be achieved by nucleotide sequence analysis of the RT-PCR amplicon. Reference sequences for YHV1 include:

Protocol 1 is a 1-step RT-PCR that can be used to detect YHV1 in affected shrimp. The protocol is as described by Mohr *et al.* (2015) and adapted from Wongteerasupaya *et al.* (1997). This protocol will detect YHV1 but not GAV or any of the other genotypes currently recognised.

Protocol 2 is a more sensitive multiplex nested RT-PCR that can be used to differentiate YHV1 from GAV. The protocol is as described by Mohr *et al.* (2015) and adapted from Cowley *et al.* (2004). The first stage of the multiplex nested RT-PCR (primary RT-PCR) was designed to detect YHV1 and GAV but has been reported to also detect YHV7 (Mohr *et al.*, 2015). Both the primary RT-PCR and the nested PCR detected the novel YHV genotype from China (People's Rep. of) (Liu *et al.*, 2014). In the second PCR step, a 277 bp product indicates detection of YHV and a 406 bp product indicates detection of GAV. The presence of both 406 bp and 277 bp products indicates a dual infection with GAV and YHV1. The nested PCR can be run as two separate assays specific for YHV1 or GAV by omitting either the G6 or Y3 primer, respectively. **NOTE:** Due to reported problems with primer specificity for some emerging strains, all PCR products generated using protocol 2 should be sequenced to confirm the virus genotype.

Protocol 3 is a multiplex nested RT-PCR protocol that can be used for screening shrimp for any of the seven genotypes of the yellow head complex of viruses. The protocol is as described by Mohr *et al.* (2015) and adapted from Wijegoonawardane *et al.* (2008b). Two primers were designed to each site, one accommodating sequence variations amongst YHV1 isolates and the other variations amongst isolates of the other genotypes (Wijegoonawardane *et al.*, 2008b). It is not known whether this assay will detect the YHV8 genotype recently detected in China (People's Rep. of) (Liu *et al.*, 2014).

Primer sequences

Pathogen / target gene	Primer (5'–3')	Concentration	Cycling parameters ^(a)
Protocol 1 (Wongteerasupaya et al., 1997; GenBank Accession No.: FJ848675.1 ; amplicon size: 135 bp)			
YHV1 / ORF1b	10F: CCG-CTA-ATT-TCA-AAA-ACT-ACG 144R: AAG-GTG-TTA-TGT-CGA-GGA-AGT	180 nM 180 nM	40 cycles of 94°C/30sec, 58°C/45 sec, 68°C/45 sec,
Protocol 2 (Cowley et al., 2004; GenBank Accession No.: FJ848675.1)			
YHV1 and GAV / ORF1b	Primary (Amplicon size: 794 bp) GY1: 5GAC-ATC-ACT-CCA-GAC-AAC-ATC-TG GY4: GTG-AAG-TCC-ATG-TGT-GTG-AGA-CG	180 nM 180 nM	35 cycles of 95°C/30 sec, 66°C/30 sec, and 68°C/45 sec
	Nested for detection of YHV1 (Amplicon size: 277 bp) GY2: CAT-CTG-TCC-AGA-AGG-CGT-CTA-TGA Y3: ACG-CTC-TGT-GAC-AAG-CAT-GAA-GTT	360 nM 360 nM	
	Nested for detection of GAV (Amplicon size: 406 bp) GY2: CAT-CTG-TCC-AGA-AGG-CGT-CTA-TGA G6: GTA-GTA-GAG-ACG-AGT-GAC-ACC-TAT	360 nM 360 nM	
Protocol 3 (Wijegoonawardane et al., 2008b; GenBank Accession No.: FJ848675.1)			
YHV1 to YHV7 / ORF1b	Primary (amplicon size: 359 bp) YC-F1ab pool: ATC-GTC-GTC-AGC-TAC-CGC-AAT-ACT-GC ATC-GTC-GTC-AGY-TAY-CGT-AAC-ACC-GC	180 nM 180 nM	35 cycles of 94°C/45 sec, 60°C/45 sec, 68°C/45 sec,
	YC-R1ab pool: TCT-TCR-CGT-GTG-AAC-ACY-TTC-TTR-GC TCT-GCG-TGG-GTG-AAC-ACC-TTC-TTG-GC	180 nM 180 nM	
	Nested (amplicon size: 147 bp) YC-F2ab pool: CGC-TTC-CAA-TGT-ATC-TGY-ATG-CAC-CA CGC-TTY-CAR-TGT-ATC-TGC-ATG-CAC-CA	180 nM 180 nM	
	YC-R2ab pool: RTC-DGT-GTA-CAT-GTT-TGA-GAG-TTT-GTT GTC-AGT-GTA-CAT-ATT-GGA-GAG-TTT-RTT Mixed base codes: R(AG), Y(CT), M(AC), K(GT), S(GC), W(AT), H(ACT), B(GCT), V(AGC), D(AGT), N(AGCT).	180 nM 180 nM	

^(a)A denaturation step prior to cycling has not been included.

The [Protocol 2 Y3](#) primer contains a mismatch for GAV but is specific for YHV1. The mismatch can cause false-positives with GAV in the nested PCR of protocol 2 where GAV generates an amplicon of very similar size to the expected size of the YHV1 amplicon. For GAV, the 7th base from left (T) is substituted for C so that the primer sequence for GAV should be 5'-CAT-CTG-CCC-AGA-AGG-CGT-CTA-TGA-3', according to the sequence data of the GAV genome (database accession numbers: NC_010306.1 and AF227196.2).

The following controls should be run with each assay: negative extraction control; positive control; no template control; internal PCR control.

4.4.3. Other nucleic acid amplification methods

Not available.

4.5. Amplicon sequencing

The size of the PCR amplicon should be verified, for example by agarose gel electrophoresis. Both DNA strands of the PCR product must be sequenced and analysed in comparison with reference sequences.

4.6. *In-situ* hybridisation

The protocol of Tang *et al.* (2002) is suitable for detecting YHV1 or GAV (Tang & Lightner, 1999). To preserve viral RNA accessibility, fix tissues sampled from live shrimp in neutral-buffered, modified Davidson's fixative without acetic acid (RF-fixative) (Hasson *et al.*, 1997). To achieve good tissue preservation whilst also preserving RNA accessibility, normal Davidson's fixative can be used as long as the fixation time is limited to 24 hours (maximum of 48 hours). Detailed methods can be found in Tang *et al.* (2002) YHV-infected cells give a blue to purple-black colour against the brown counter stain. Positive controls of YHV-infected tissue and negative controls of uninfected shrimp tissue should be included. The digoxigenin-labelled DNA probe can be prepared by PCR labelling using the following primers:

YHV1051F: 5'-ACA-TCT-GTC-CAG-AAG-GCG-TC-3'

YHV1051R: 5'-GGG-GGT-GTA-GAG-GGA-GAG-AG-3'

4.7. Immunohistochemistry

Not applicable.

4.8. Bioassay

The bioassay procedure is based on that described by Spann *et al.* (1997), but similar procedures have been described by several other authors (e.g. Lu *et al.*, 1994). The bioassay should be conducted in susceptible shrimp that have been determined to be free from YHV complex viruses.

Suspect YHV1-infected samples should be maintained at 4°C or on ice. If necessary, the whole shrimp or the retained cephalothorax may be snap-frozen and stored at -80°C or in liquid nitrogen until required. Viral inoculum should be prepared as described by Spann *et al.* (1997).

Juvenile shrimp of a known susceptible species are injected with viral inoculum. Negative controls (buffer injected) and positive controls (known YHV1 positive material) treatment groups are required. Shrimp should be maintained separately to prevent cross-contamination between treatments. Observe the shrimp and record mortalities for at least 21 days or until the test and positive control groups reach 100% mortality.

Dead shrimp can be processed for PCR and sequence analysis. The surviving shrimp are processed for gross signs, histopathology, PCR and sequence analysis. A positive result is indicated by the detection of gross signs and characteristic histological lesions, and by PCR and amplicon sequence analysis. The negative control shrimp must remain negative for at least 21 days for gross or histological signs of infection with YHV1.

4.9. Antibody- or antigen-based detection methods (ELISA, etc.)

None has been successfully developed.

4.10. Other methods

None at present.

5. Test(s) recommended for surveillance to demonstrate freedom in apparently healthy populations

Nested-RT-PCR (Protocol 3) is recommended for demonstrating freedom from YHV1 in an apparently healthy populations. Sequencing of any amplified PCR products is required to determine the YHV genotype. Two-step PCR negative results are required for YHV1.

6. Corroborative diagnostic criteria

This section only addresses the diagnostic test results for detection of infection in the absence (Section 6.1.) or in the presence of clinical signs (Section 6.2.) but does not evaluate whether the infectious agent is the cause of the clinical event.

The case definitions for a suspect and confirmed case have been developed to support decision making related to trade and confirmation of disease status at the country, zone or compartment level. Case definitions for disease confirmation in endemically affected areas may be less stringent. If a Competent Authority does not have the capability to undertake the necessary diagnostic tests it should seek advice from the appropriate WOA Reference Laboratory, and if necessary, refer samples to that laboratory for confirmatory testing of samples from the index case in a country, zone or compartment considered free.

6.1. Apparently healthy animals or animals of unknown health status⁷

Apparently healthy populations may fall under suspicion, and therefore be sampled, if there is an epidemiological link(s) to an infected population. Hydrographical proximity to, or movement of animals or animal products or equipment, etc., from a known infected population equate to an epidemiological link. Alternatively, healthy populations are sampled in surveys to demonstrate disease freedom.

6.1.1. Definition of suspect case in apparently healthy animals

The presence of infection with YHV1 shall be suspected if the following criterion is met:

- i) Positive result by a ~~recommended~~ conventional RT-PCR detection test

6.1.2. Definition of confirmed case in apparently healthy animals

The presence of infection with YHV1 is considered to be confirmed if the following criterion is met:

- i) ~~A positive result by conventional RT-PCR and identification of YHV1 by sequence analysis of the amplicon from each of two different RT-PCR methods followed by sequence analysis of the amplicons to identify YHV1~~

6.2. Clinically affected animals

Clinical signs are not pathognomonic for a single disease; however they may narrow the range of possible diagnoses.

6.2.1. Definition of suspect case in clinically affected animals

The presence of infection with YHV1 shall be suspected if at least one of the following criteria is met:

- i) Gross pathology or clinical signs consistent with YHV1 infection
- ii) Histopathology consistent with YHV1 infection

⁷ For example transboundary commodities.

- iii) Positive result by conventional RT-PCR
- iv) Positive result by ISH
- v) Positive result by bioassay

6.2.2. Definition of confirmed case in clinically affected animals

The presence of infection with YHV1 is considered to be confirmed if the following criterion is met:

- i) A positive result from each of two different RT-PCR methods ~~targeting non-overlapping parts of the genome~~ followed by sequence analysis of the amplicons to identify YHV1

6.3. Diagnostic sensitivity and specificity for diagnostic tests

The diagnostic performance of tests recommended for surveillance or diagnosis of infection with YHV1 are provided in Tables 6.3.1. and 6.3.2 (no data are currently available for either). ~~This information can be used for the design of surveys for infection with YHV1, however, it should be noted that diagnostic performance is specific to the circumstances of each diagnostic accuracy study (including the test purpose, source population, tissue sample types and host species) and diagnostic performance may vary under different conditions.~~ Data are only presented where tests are validated to at least level 2 of the validation pathway described in Chapter 1.1.2. and the information is available within published diagnostic accuracy studies.

6.3.1. For presumptive diagnosis of clinically affected animals

Test type	Test purpose	Source populations	Tissue or sample types	Species	DSe (n)	DSp (n)	Reference test	Citation

DSe = diagnostic sensitivity, DSp = diagnostic specificity, *n* = number of samples used in the study,
PCR = polymerase chain reaction.

6.3.2. For surveillance of apparently healthy animals

Test type	Test purpose	Source populations	Tissue or sample types	Species	DSe (n)	DSp (n)	Reference test	Citation

DSe = diagnostic sensitivity, DSp = diagnostic specificity, *n* = number of samples used in the study,
PCR = polymerase chain reaction.

7. References

- CASTRO-LONGORIA R., QUINTERO-ARREDONDO N., GRIJALVA-CHON J.M. & RAMOS-PAREDES J. (2008). Detection of the yellow-head virus (YHV) in wild blue shrimp, *Penaeus stylirostris*, from the Gulf of California and its experimental transmission to the Pacific white shrimp, *Penaeus vannamei*. *J. Fish Dis.*, **31**, 953–956.
- CHAIMONGKON D., ASSAVALAPSAKUL W., PANYIM S. & ATTASART P. (2020). A multi-target dsRNA for simultaneous inhibition of yellow head virus and white spot syndrome virus in shrimp. *J. Biotechnol.*, **321**, 48–56. doi: 10.1016/j.jbiotec.2020.06.022. Epub 2020 Jun 29. PMID: 32615142.
- CHANTANACHOOKIN C., BOONYARATPALIN S., KASORNCHANDRA J., DIREKBUSARAKOM S., AEKPANITHANPONG U., SUPAMATTAYA K., SRIURAITANA S. & FLEGEL T.W. (1993). Histology and ultrastructure reveal a new granulosis-like virus in *Penaeus monodon* affected by yellow-head disease. *Dis. Aquat. Org.*, **17**, 145–157.

-
- COWLEY J.A., CADOGAN L.C., WONGTEERASUPAYA C., HODGSON R.A.J., BOONSAENG V. & WALKER P.J. (2004). Multiplex RT-nested PCR differentiation of gill-associated virus (Australia) from yellow head virus (Thailand) of *Penaeus monodon*. *J. Virol. Methods*, **117**, 49–59. doi: 10.1016/j.jviromet.2003.11.018.
- COWLEY J.A., HALL M.R., CADOGAN L.C., SPANN K.M. & WALKER P.J. (2002). Vertical transmission of gill-associated virus (GAV) in the black tiger prawn *Penaeus monodon*. *Dis. Aquat. Org.*, **50**, 95–104.
- DONG X., LIU S., ZHU L., WAN X., LIU Q., QIU L., ZOU P., ZHANG Q. & HUANG J. (2017) Complete genome sequence of an isolate of a novel genotype of yellow head virus from *Fenneropenaeus chinensis* indigenous in China. *Arch Virol* **162**, 1149–1152.
- 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. Aquatic Anim. Health*, **12**, 128–135.
- FLEGEL T.W., BOONYARATPALIN S. & WITHYACHUMNARNKUL B. (1997). Current status of research on yellow-head virus and white-spot virus in Thailand. *In: Diseases in Asian Aquaculture III*, Flegel T.W. & MacRae I.H., eds. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, the Philippines, 285–296.
- FLEGEL T.W., FEGAN D.F. & SRIURAIRATANA S. (1995a). Environmental control of infectious shrimp diseases in Thailand. *In: Diseases in Asian Aquaculture II*, Shariff M., Subasinghe R.P. & Arthur J.R., eds. Asian Fisheries Society, Manila, the Philippines, 65–79.
- FLEGEL T.W., SRIURAIRATANA S., WONGTERRASUPAYA C., BOONSAENG V., PANYIM S. & WITHYACHUMNARNKUL B. (1995b). Progress in characterization and control of yellow-head virus of *Penaeus monodon*. *In: Swimming Through Troubled Water*, Proceedings of the Special Session on Shrimp Farming, Aquaculture '95, Browdy C.L. & Hopkins J.S., eds. World Aquaculture Society, Baton Rouge, USA, 76–83.
- HASSON K.W., HASSON J., AUBERT H., REDMAN R.M. & LIGHTNER D.V. (1997). A new RNA-friendly fixative for the preservation of penaeid shrimp samples for virological assay using cDNA probes. *J. Virol. Methods*, **66**, 227–236.
- KHONGPRADIT R., KASORNCHANDRA J. & BOONYARATPALIN S. (1995). Susceptibility of the postlarval stages of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) to yellow-head baculovirus (YBV). *In: Diseases in Asian Aquaculture II*, Shariff M., Subasinghe R.P. & Arthur J.R., eds. Asian Fisheries Society, Manila, the Philippines, p. 6.
- LIGHTNER D.V. (ED.) (1996). Handbook of Pathology and Diagnostic Procedures for Diseases of Penaeid Shrimp. World Aquaculture Society, Baton Rouge, USA.
- LIGHTNER D.V., HASSON K. W., WHITE B. L. & REMAN R. M. (1998) Experimental infection of western hemisphere penaeid shrimp with Asian white spot syndrome virus and Asian yellow head virus *J. Aquatic Anim. Health*, **10**, 271–281
- LIU Q., HUANG J., YANG H.-L., YANG B., WANG H.-L., WANG Q.-T., LIU F. & ZHANG Q.-L. (2014) Detection of a new genotype of yellow-head virus in farmed shrimp suspicious of EMS/AHPNS infection. *Oceanol. Limnol. Sin.*, **45**, 703–709.
- ~~LONGYANT S., SATTAMAN S., CHAIVISUTHANGKURA P., RUKPRATANPORN S., SITHIGORNGUL W. & SITHIGORNGUL P. (2006). Experimental infection of some penaeid shrimps and crabs by yellow head virus (YHV). *Aquaculture*, **257**, 83–91.~~
- ~~LONGYANT S., SITHIGORNGUL P., CHAIVISUTHANGKURA P., RUKPRATANPORN S., SITHIGORNGUL W. & MENASVETA P. (2005). Differences in the susceptibility of palaemonid shrimp species to yellow head virus (YHV) infection. *Dis. Aquat. Org.*, **64**, 5–12.~~
- LU Y., TAPAY L.M., BROCK J.A. & LOH P.C. (1994). Infection of the yellow head baculo-like virus (YBV) in two species of penaeid shrimp *Penaeus stylirostris* (Stimpson) and *Penaeus vannamei* (Boone). *J. Fish Dis.*, **17**, 649–656.
- MCCOLL K.A., SLATER J., JEYASEKARAN G., HYATT A.D. & CRANE M.St.J. (2004). Detection of white spot syndrome virus and yellowhead virus in prawns imported into Australia. *Aust. Vet. J.*, **82**, 69–74.
-

MOHR P.G., MOODY N.J.G., HOAD J., WILLIAMS L.M., BOWATER R.O., CUMMINS D.M., COWLEY J.A. & CRANE M.St.J. (2015). New yellow head virus genotype (YHV7) in giant tiger shrimp *Penaeus monodon* indigenous to northern Australia. *Dis. Aquat. Org.*, **115**, 263–268.

MOODY N. ET AL (IN PREPARATION). Development of a real-time and conventional PCR assays for the detection of yellow head virus genotype 1.

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.

OANH D.T., VAN HULTEN M.C., COWLEY J.A. & WALKER P.J. (2011). Pathogenicity of gill-associated virus and Mourilyan virus during mixed infections of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *J. Gen. Virol.*, **92**, 893–901.

SANCHEZ-BARAJAS M., LINAN-CABELLO M.A. & MENA-HERRERA A. (2009). Detection of yellow-head disease in intensive freshwater production systems of *Litopenaeus vannamei*. *Aquacult. Int.*, **17**, 101–112.

SPANN K.M., COWLEY J.A., WALKER P.J. & LESTER R.J.G. (1997). A yellow-head-like virus from *Penaeus monodon* cultured in Australia. *Dis. Aquat. Org.*, **31**, 169–179.

TANG K.F.J. & LIGHTNER D.V. (1999). A yellow head virus gene probe: nucleotide sequence and application for *in situ* hybridization. *Dis. Aquat. Org.*, **35**, 165–173.

TANG K.F.J., SPANN K.M., OWENS L. & LIGHTNER D.V. (2002). *In situ* detection of Australian gill-associated virus with a yellow head virus gene probe. *Aquaculture*, **205**, 1–5.

WALKER P.J., COWLEY J.A., SPANN K.M., HODGSON R.A.J., HALL M.R. & WITHYACHUMNARNKUL B. (2001). Yellow head complex viruses: Transmission cycles and topographical distribution in the Asia-Pacific Region. *In: The New Wave, Proceedings of the Special Session on Sustainable Shrimp Culture, Aquaculture 2001*, Browdy C.L. & Jory D.E., eds. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, USA, 292–302.

Walker P.J. & Sittidilokratna N. (2008). Yellow Head Virus. *In: Encyclopedia of Virology*, third edition. Academic Press, 476–483. <https://doi.org/10.1016/B978-012374410-4.00779-2>

WIJEGONAWARDANE P.K.M., COWLEY J.A., SITTIDILOKRATNA, N., PHETCHAMPAI, N., COWLEY, J.A., GUDKOV, N. & WALKER P.J. (2009). Homologous genetic recombination in the yellow head complex of nidoviruses infecting *Penaeus monodon* shrimp. *Virology* doi: 10.1016/j.virol.2009.04.015.

WIJEGONAWARDANE P.K.M., COWLEY J.A., PHAN T., HODGSON R.A.J., NIELSEN L., KIATPATHOMCHAI W. & WALKER P.J. (2008a). Genetic diversity in the yellow head nidovirus complex. *Virology* **380**, 213–225.

WIJEGONAWARDANE P.K.M., COWLEY J.A. & WALKER P.J. (2008b). Consensus RT-nested PCR to detect yellow head virus genotypes in penaeid shrimp. *J. Virol. Methods*, **153**, 168–175.

WONGTEERASUPAYA C., BOONSAENG V., PANYIM S., TASSANAKAJON A., WITHYACHUMNARNKUL B. & FLEGEL T.W. (1997). Detection of yellow-head virus (YHV) of *Penaeus monodon* by RT-PCR amplification. *Dis. Aquat. Org.*, **31**, 181–186.

WONGTEERASUPAYA C., SRIURAIRATANA S., VICKERS J.E., AKRAJAMORN A., BOONSAENG V., PANYIM S., TASSANAKAJON A., WITHYACHUMNARNKUL B. & FLEGEL T.W. (1995). Yellow-head virus of *Penaeus monodon* is an RNA virus. *Dis. Aquat. Org.*, **22**, 45–50.

*
* *

NB: There is a WOA Reference Laboratory for infection with yellow head virus genotype 1
(please consult the WOA web site:
<https://www.woah.org/en/what-we-offer/expertise-network/reference-laboratories/#ui-id-3>).

Please contact the WOAHP Reference Laboratories for any further information on infection with yellow head virus genotype 1

NB: FIRST ADOPTED IN 1995 AS YELLOWHEAD DISEASE. MOST RECENT UPDATES ADOPTED IN 2019.

CHAPTER 2.2.X.

INFECTION WITH DECAPOD IRIDESCENT VIRUS 1

1. Scope

Infection with decapod iridescent virus 1 means infection with the pathogenic agent decapod iridescent virus 1 (DIV1), Genus *Decapodiridovirus*, Subfamily *Betairidovirinae*, Family *Iridoviridae*.

2. Disease information

2.1. Agent factors

2.1.1. Aetiological agent

DIV1 is the only species of the genus *Decapodiridovirus* assigned to the subfamily *Betairidovirinae*, family *Iridovirus* (ICTV, 2023). DIV1 is a 150–158 nm, enveloped icosahedral double-stranded DNA virus, with a linear genome of 165 kb composed of 34.6% G + C content and 170–178 putative open reading frames (ORFs) (Li *et al.*, 2017; Qiu *et al.*, 2017; 2018a; Xu *et al.*, 2016). Although *Cherax quadricarinatus* iridovirus (CQIV) (Xu *et al.*, 2016) and shrimp haemocyte iridescent virus (SHIV) (Qiu *et al.*, 2017) have been reported from the redclaw crayfish (*C. quadricarinatus*), and the whiteleg shrimp (*L. vannamei*), respectively, they are classified as different isolates (strains) within the DIV1 species.

2.1.2. Survival and stability in processed or stored samples

DIV1-infected cephalothoraxes are infectious after homogenisation, centrifugation, filtration and storage at –80°C (Qiu *et al.*, 2022a; Xu *et al.*, 2016).

2.1.3. Survival and stability outside the host

Not available.

For inactivation methods, see Section 2.4.5.

2.2. Host factors

2.2.1. Susceptible host species

Species that fulfil the criteria for listing as susceptible to infection with DIV1 according to chapter 1.5. *Aquatic Animal Health Code* (Aquatic Code) include: fleshy prawn (*Penaeus chinensis*), gazami crab (*Portunus trituberculatus*), giant river prawn (*Macrobrachium rosenbergii*), kuruma prawn (*Penaeus japonicus*), Oriental river prawn (*Macrobrachium nipponense*), red claw crayfish (*Cherax quadricarinatus*), red swamp crawfish (*Procambarus clarkii*), ridgetail prawn (*Palaemon carinicauda*), 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 as susceptible to infection with DIV1 according to Chapter 1.5 of the *Aquatic Code* include: giant tiger prawn (*Penaeus monodon*).

In addition, pathogen-specific positive polymerase chain reaction (PCR) results have been reported in the following species, but an active infection has not been demonstrated: channeled applesnail (*Pomacea*

canaliculata), *Helice tientsinensis*, Japanese shore crab (*Hemigrapsus penicillatus*), *Macrobrachium superbum* and *Plexippus paykulli*.

2.2.3. Likelihood of infection by species, host life stage, population or sub-populations

All live stages are potentially susceptible to infection; DIV1 has been detected in post-larvae (PL), juvenile and sub-adult stages of shrimp (*Penaeus vannamei*, *P. chinensis*, *Exopalaemon carinicauda*, *Macrobrachium nipponense*, *M. rosenbergii*, crayfish [*Cherax quadricarinatus*, *Procambarus clarkii*] and crab [*Portunus trituberculatus*] as natural infection or by experimental (*per os*) exposure (Chen et al., 2019; Qiu et al., 2018; 2019b; 2020b; 2021b; 2022b). Species with a positive DIV1 polymerase chain reaction (PCR) result, without an active infection include: *Penaeus monodon*, *Pomacea canaliculata*, *Macrobrachium superbum*, *Plexippus paykulli* and *Hemigrapsus penicillatus* (Qiu et al., 2021; 2019a; 2022b; Srisala et al., 2021).

2.2.4. Distribution of the pathogen in the host

The principal target tissues for DIV1 include lymphoid organ, haematopoietic tissues, as well as epithelia and haemocytes in gills, muscle, hepatopancreas, pereopods, pleopods, uropods, and antenna (Qiu et al., 2017; 2019a; 2021a; Sanguanrut et al., 2021).

2.2.5. Aquatic animal reservoirs of infection

There is evidence that crustacean species may become reservoirs of DIV1 infection. DIV1 was detected in non-clinical adult wild giant tiger prawn (*P. monodon*) (Srisala et al., 2021), wild crabs (*Helis tientsinensis*, *Hemigrapsus penicillatus*) in drainage ditches (Qiu et al., 2022a), and *Macrobrachium superbum* in affected shrimp ponds (Qiu et al., 2019a).

Subclinical infection has been reported in gazami crab, *Portunus trituberculatus*, which is widely distributed in environmental waters in Asia and could be a potential source of DIV1 infection on shrimp farms (Qiu et al., 2022a).

2.2.6. Vectors

There are no confirmed vectors of DIV1.

2.3. Disease pattern

2.3.1. Mortality, morbidity and prevalence

Mortality can be high (80–100%) after a natural infection with DIV1 in shrimp and crayfish species, which has been confirmed by experimental infection through intramuscular injection or oral administration in *P. vannamei*, *Cherax quadricarinatus*, *Procambarus clarkii* and *Macrobrachium rosenbergii* (Qiu et al., 2017; 2019a; Xu et al., 2016). Experimental infection with DIV1 administered orally or by intramuscular injection resulted in 50% and 100% mortality, respectively, in the gazami crab (*Portunus trituberculatus*) (Qiu et al., 2022a).

In pathogenicity studies of crustacean species, mortalities rose more rapidly in *Litopenaeus vannamei* compared with *Cherax quadricarinatus* or *Procambarus clarkii* in experimental infections (Xu et al., 2016).

The prevalence of DIV1 infection was 15.5, 15.2, and 50% in *P. vannamei*, *P. chinensis*, and *M. rosenbergii*, respectively, in a survey of shrimp farms tested in the period 2014 to 2016 (Qiu et al., 2017).

2.3.2. Clinical signs, including behavioural changes

Clinical signs in affected whiteleg shrimp (*P. vannamei*) are reddish bodies, white atrophied hepatopancreas, soft shells and empty stomachs and intestines, while giant freshwater shrimp (*M. rosenbergii*) showed a white discoloration at the base of the rostrum (white head) and hepatopancreatic atrophy (Qiu et al., 2017; 2019a). However, these disease signs are not always distinctive because the course of the disease varies in affected animals.

2.3.3 Gross pathology

See Section 2.3.2.

2.3.4. Modes of transmission and life cycle

Based on experimental and natural infections, DIV1 is thought to be transmitted horizontally by oral routes and contaminated water (Qiu *et al.*, 2017; 2019a; 2022a; Xu *et al.*, 2016).

2.3.5. Environmental factors

Temperature and co-culture play an important role in DIV1 infection. DIV1 has been detected in shrimp and crayfish reared at 16–32°C, but not at temperatures above 32°C in a 2017–2018 survey (Qiu *et al.*, 2018b; 2019b; 2020b; 2021b 2022b). In shrimp farm management, polyculture with different species of crustaceans increases the risk of DIV1 infection in farmed shrimp due to cross-species transmission (Qiu *et al.*, 2019a; 2022a).

2.3.6. Geographical distribution

DIV1 has been reported in farmed shrimp and crayfish in the Asia-Pacific region (Qiu *et al.*, 2017; Xu *et al.*, 2016).

See WAHIS (<https://wahis.woah.org/#/home>) for recent information on distribution at the country level.

2.4. Biosecurity and disease control strategies

2.4.1. Vaccination

Not available.

2.4.2. Chemotherapy including blocking agents

Not available.

2.4.3. Immunostimulation

Not available.

2.4.4. Breeding resistant strains

Not available.

2.4.5. Inactivation methods

Not known.

2.4.6. Disinfection of eggs and larvae

Not available

2.4.7. General husbandry

Biosecurity practices can be used to reduce the risk of DIV1 infection. These includes PCR pre-screening of broodstock and larvae, PCR pre-screening of polychaetes and food organisms for broodstock and larvae, disinfection of rearing water and farming equipment, controlled stocking density, and avoidance of polyculture with different crustacean species.

Using a protocol of 15-day thermal treatment at 36°C combined with 15-day restoration treatment at 28°C, *P. vannamei* infected by intramuscular injection of DIV1 showed no clinical signs, no DNA replication, no histopathology and ISDL results, indicating DIV1 can be eliminated from challenged shrimp after 36°C treatment (Guo *et al.*, 2022).

3. Specimen selection, sample collection, transportation and handling

This section draws on information in Sections 2.2, 2.3 and 2.4 to identify populations, individuals and samples that are most likely to be infected.

3.1. Selection of populations and individual specimens

For diagnosis during a disease outbreak, moribund and apparently healthy crustacean specimens of susceptible species (see Section 2.2.3) from the same ponds, especially in polyculture mode, are selected as samples for identification testing. Apparently healthy or even dead and dried samples from crustacean farms next to the affected farms can be used as sources of materials for examination (Qiu et al., 2019a). For surveillance in apparently healthy populations, all life stages of samples reared at 16–32°C should be suitable for testing (see Section 2.3.5)

Shrimp and crayfish that are 4–7 cm in body length provide the highest detection rate of DIV1 when used for examination (Qiu et al., 2018b ;2019b ;2020b; 2021b ;2022b).

3.2. Selection of organs or tissues

Suitable tissues for testing are lymphoid organ, haematopoietic tissues, muscle, gills, hepatopancreas, pereiopods, pleopods, uropods, and antennae (Qiu et al., 2017; 2019a; 2021a; Srisala et al., 2021). Quantitative virus analysis from different tissues of naturally infected *Macrobrachium rosenbergii* showed that muscle and hepatopancreas had lower virus load compared with that of the lymphoid organ, haematopoietic tissues, gills, pereiopods, pleopods, uropods and antennae (Qiu et al., 2019a).

3.3. Samples or tissues not suitable for pathogen detection

Autolytic and compound eyes samples are not suitable for PCR-based pathogen detection.

3.4. Non-lethal sampling

If non-lethal tissue sample types differ from recommended tissues (see Section 3.2.), or from the tissue samples used in validation studies, the effect on diagnostic performance should be considered.

3.5. Preservation of samples for submission

For guidance on sample preservation methods for the intended test methods, see Chapter 2.2.0 *General information* (diseases of crustaceans).

3.5.1. Samples for pathogen isolation

The success of pathogen isolation and results of bioassay depend strongly on the quality of samples (time since collection and time in storage). Fresh specimens should be kept on ice and preferably sent to the laboratory within 24 hours of collection. To avoid degradation of samples, use alternative storage methods only after consultation with the receiving laboratory.

3.5.2. Preservation of samples for molecular detection

Tissue samples for PCR testing should be preserved in 70–90% (v/v) analytical/reagent-grade (undenatured) ethanol. The recommended ratio of ethanol to tissue is 10:1 based on studies in terrestrial animal and human health. The use of lower grade (laboratory or industrial grade) ethanol is not recommended. If material cannot be fixed, it may be frozen.

Standard sample collection, preservation and processing methods for molecular techniques can be found in Section B.5.5 of Chapter 2.2.0 *General information* (diseases of crustaceans).

3.5.3. Samples for histopathology, immunohistochemistry or *in-situ* hybridisation

Standard sample collection, preservation and processing methods for histological techniques can be found in Section B.5.3 of Chapter 2.2.0 *General information* (diseases of crustaceans).

3.5.4. Samples for other tests

Not available

3.6. Pooling of samples

Pooling of samples from more than one individual animal for a given purpose is only recommended where robust supporting data on diagnostic sensitivity and diagnostic specificity have been evaluated and found to be suitable. If the effect of pooling on diagnostic sensitivity has not been thoroughly evaluated, larger shrimp (or other decapod crustaceans) should be processed and tested individually. Small life stages such as larvae or PLs can be pooled to obtain the minimum amount of material for virus isolation or molecular detection.

4. Diagnostic methods

The methods currently available for pathogen detection that can be used in i) surveillance of apparently healthy animals, ii) presumptive diagnosis in clinically affected animals and iii) confirmatory diagnostic purposes are listed in Table 4.1. by animal life stage.

Ratings for purposes of use. For each recommended assay a qualitative rating for the purpose of use is provided. The ratings are determined based on multiple performance and operational factors relevant to application of an assay for a defined purpose. These factors include appropriate diagnostic performance characteristics, level of assay validation, availability cost, timeliness, and sample throughput and operability. For a specific purpose of use, assays are rated as:

- | | |
|-------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| +++ = | Methods are most suitable with desirable performance and operational characteristics. |
| ++ = | Methods are suitable with acceptable performance and operational characteristics under most circumstances. |
| + = | Methods are suitable, but performance or operational characteristics may limit application under some circumstances. |

Shaded boxes = Not appropriate for this purpose.

Validation stage. The validation stage corresponds to the assay development and validation pathway in chapter 1.1.2. The validation stage is specific to each purpose of use. Where available, information on the diagnostic performance of recommended assays is provided in Section 6.3.

WOAH Reference Laboratories welcome feedback on diagnostic performance of recommended assays, in particular PCR methods. Of particular interest are any factors affecting expected assay sensitivity (e.g. tissue components inhibiting amplification) or expected specificity (e.g. failure to detect particular genotypes, detection of homologous sequences within the host genome). These issues should be communicated to the WOAH Reference Laboratories so that advice can be provided to diagnostic laboratories and the standards amended if necessary.

Table 4.1. WOAHA recommended diagnostic methods and their level of validation for surveillance of apparently healthy animals and investigation of clinically affected animals

Method	Surveillance of apparently healthy animals				Presumptive diagnosis of clinically affected animals				Confirmatory diagnosis ¹ of a suspect result from surveillance or presumptive diagnosis			
	Early life stages ²	Juveniles ²	Adults	LV	Early life stages ²	Juveniles ²	Adults	LV	Early life stages ²	Juveniles ²	Adults	LV
Wet mounts												
Histopathology						++	++	1				
Cell culture												
Real-time PCR	++	+++	+++	NA	+++	+++	+++	1	+++	+++	+++	1
Conventional PCR	++	++	++	NA	++	++	++	NA				
Conventional nested PCR followed by amplicon sequencing									+	+	+	1
Conventional PCR followed by amplicon sequencing									+++	+++	+++	1
<i>In-situ</i> hybridisation						++	++	1		+++	+++	1
Bioassay					+	+	+	NA				
LAMP	+	+	+	NA	+	+	+	NA				
Quantitative LAMP	++	++	++	NA	++	++	++	1				
Ag-ELISA												
RPA	++	++	++	NA	++	++	++	1				
Other methods ³												

LV = level of validation, refers to the stage of validation in the WOAHA Pathway (chapter 1.1.2); NA = not available;

PCR = polymerase chain reaction; LAMP = loop-mediated isothermal amplification

Ag-ELISA = antigen enzyme-linked immunosorbent assay; RPA = recombinase polymerase amplification

¹For confirmatory diagnoses, methods need to be carried out in combination (see Section 6). ²Susceptibility of early and juvenile life stages is described in Section 2.2.3.

³Specify the test used. Shading indicates the test is inappropriate or should not be used for this purpose.

4.1. Wet mounts

Not relevant

4.2. Histopathology and cytopathology

Histopathological examination revealed pathognomonic dark eosinophilic cytoplasmic inclusion bodies in the karyopyknotic cells of haemopoietic tissues and lymphoid organs, and in the haemocytes of gills, pereopods and sinus of the hepatopancreas (Qiu *et al.*, 2017; 2019a), as well as cuticular epithelium under the cuticles (Chen *et al.*, 2019).

4.3. Cell culture for isolation

Not available.

4.4. Nucleic acid amplification

PCR assays should always be run with the controls specified in Section 5.5 *Use of molecular and antibody-based techniques for confirmatory testing and diagnosis* of Chapter 2.2.0 *General information* (diseases of crustaceans). Each sample should be tested in duplicate.

Extraction of nucleic acids

Different kits and procedures can be used for nucleic acid extraction. The quality and concentration of the extracted nucleic acid is important and can be checked using a suitable method as appropriate to the circumstances.

4.4.1. Real-time PCR

Table 4.4.1.1. Primers and probes (sequences) and cycling conditions for DIV1 real-time PCR

Target gene	Primer/probe (5'–3')	Concentration	Cycling parameters ^(a)
Method 1: Qiu <i>et al.</i> , 2018a; GenBank Accession No.: MF599468.1			
ATPase	SHIV-F: AGG-AGA-GGG-AAA-TAA-CGG-GAA-AAC SHIV-R: CGT-CAG-CAT-TTG-GTT-CAT-CCA-TG Probe: FAM-CTG-CCC-ATC-TAA-CAC-CAT-CTC-CCG-CCC-TAMRA	500 nM 200 nM	40 cycles of 95°C/100 sec and 60°C/30 sec
Method 2: Qiu <i>et al.</i> , 2020a; GenBank Accession No.: MF599468.1			
MCP	142F: AAT-CCA-TGC-AAG-GTT-CCT-CAG-G 142R: CAA-TCA-ACA-TGT-CGC-GGT-GAA-C Probe: FAM-CCA-TAC-GTG-CTC-GCT-CGG-CTT-CGG-TAMRA	500 nM 200 nM	40 cycles of 95°C/10 sec and 60°C/30 sec
Method 3: Gong <i>et al.</i> , 2021; GenBank Accession No.: MF599468.1			
ATPase	DIV1-F: AGG-AAA-GGA-AAC-GAA-AGA-AAT-TAT-ACC DIV1-R: GCT-TGA-TCG-GCA-TCC-TTG-A Probe: FAM-CAC-ATG-ATT-TGC-AAC-AAG-CTT-CCA-GCA-TAMRA	400 nM 200 nM	40 cycles of: 95°C/10 sec and 60°C/30 sec

^(a)A denaturation step prior to cycling has not been included.

4.4.2. Conventional PCR/nested PCR

Table 4.4.2.1. Primer sequences and cycling conditions for DIV1 PCR and nested PCR

Target gene	Primer (5'–3')	Concentration	Cycling parameters ^(a)
Method 1: Xu <i>et al.</i> , 2016; GenBank Accession No.: ; amplicon size: 103 bp			
MCP	CQIV-MCP-F: GAA-ACT-TTA-TGC-ACA-ATC-TTA-T CQIV-MCP-R: CCA-ATC-ATG-TTG-TCG-TAT-CC	NA	25 cycles of: 94°C/30 sec, 55°C/30 sec and 72°C/30 sec
Method 2: Qiu <i>et al.</i> , 2017; GenBank Accession No.: KY618040; amplicon size: 457 and 129 bp			
ATPase	Primary step: SHIV-F1: GGG-CGG-GAG-ATG-GTG-TTA-GAT SHIV-R1: TCG-TTT-CGG-TAC-GAA-GAT-GTA	400 nM	Primary and nested steps: 95°C/3 min; 35 cycles of 95°C/30 sec, 59°C/30 sec and 72°C/30 sec
	Nested PCR: SHIV-F2: CGG-GAA-ACG-ATT-CGT-ATT-GGG SHIV-R2: TTG-CTT-GAT-CGG-CAT-CCT-TGA	400 nM	

^(a)A denaturation step prior to cycling has not been included.

4.4.3. Other nucleic acid amplification methods

Table 4.4.3 Primers and probes (sequences) for DIV1 LAMP, RPA and qLAMP

Method / Target gene	Primer (5'–3')	Concentration	Cycling parameters ^(a) / method
Method 1: Chen <i>et al.</i> , 2019; GenBank Accession No.: ;			
LAMP / DNA-directed RNA polymerase II	SHIV-FIP (F1C + F2): TGG-GGT-TTC-ATA-TGG-GCA-AA T-GAT-TTT-AAG-AAT-GGA-AAG-ATC-CTA-TCA-GC SHIV-BIP (B1C + B2): AGG-AGA-AAA-GGT-TGG-ATT-GGT-TAC-TTT-TAC-TTC-TGT-TAC-TGC-GAT-GG SHIV-LF: GAG-AGG-CGT-GCA-ACT-TTC-TG SHIV-LB: TTT-GGC-ATT-GTC-TGC-TAC-AAT-TTC-C SHIV-F3: GAT-GGC-CAT-TCC-TTC-AAA-C SHIV-B3: AAA-ATA-GTC-ATC-CTG-AAA-TCC-T	1600 nM 1600 nM 800 nM 800 nM 200 nM 200 nM	60 cycles of: 60°C 85°C/5 min:
Method 2: Chen <i>et al.</i> , 2020; GenBank Accession No.:			
RPA / MCP	RPA-F : CAG-ATC-AGA-GCG-CAT-TCG-ATC-CCA-TAG-GCA-CCG-C RPA-R: CGT-AAG-AGA-ACA-TGT-GGT-ATC-CGG-TGA-GTT-CGG-G RPA- Probe: ATA-CGA-ATC-TTC-AGA-TCG-TAT-TCC-CGT-GA(FAM-dT)G(THF)C(BHQ1-dT)GCC-GAT-TAC-TTC-TC (phosphorylation)	400 nM 400 nM 120 nM	40 cycles of: 39°C/45 sec, and 39°C/15 sec:
Method 3: Gong <i>et al.</i> , 2021; GenBank Accession No.:			
qLAMP/ ATPase	F3: GGC-TTG-GTA-TCT-TAT-TCA-GAG-AT B3: ATT-CAC-AAC-ATC-GTC-ACC-AT FIP: CTC-TTG-ATG-GAT-ACA-CTG-ATC-TTC-GGA-GCC-AGA-GAT-TGT-AAC-GG BIP: ATT-CAG-TAT-TCA-AGG-ATT-GGT-TCA-AAA-GTT-CTT-CCA-TCT-ACC-TCT-C LF: TTC-GGT-ACG-AAG-ATG-TAG-C LB: GAA-GAG-TAT-CCT-AAT-ATG-ACC-ATC-C	200 nM 200 nM 1600 nM 1600 nM 800 nM 800 nM	63°C/30 sec 40 cycles of: 63°C/60 sec:

^(a)A denaturation step prior to cycling has not been included.

4.5. Amplicon sequencing

The size of the PCR amplicon should be verified, for example, by agarose gel electrophoresis. Both DNA strands of the PCR product must be sequenced and analysed in comparison with reference sequences.

4.6. *In-situ* hybridisation

In-situ hybridisation has been applied to paraffin sections to determine the specific location of DIV1 in target tissues by either DIG-labelled oligonucleotide probe or DIG-labelling-loop-mediated DNA amplification (ISDL) (Chen *et al.*, 2019; Xu *et al.*, 2016). ISDL is the preferred method to use because it is highly sensitive through simultaneous pathogen DNA amplification and labelling techniques, compared with routine probe-based *in-situ* hybridisation.

4.7. Immunohistochemistry

Not available.

4.8. Bioassay

Bioassay has application in presumptive diagnosis, but cost, accuracy, labour, timing, or other factors limit its application (Qiu *et al.*, 2017; Xu *et al.*, 2016).

4.9. Antibody- or antigen-based detection methods (ELISA, etc.)

Not available.

4.10. Other methods

Not available.

5. Test(s) recommended for surveillance to demonstrate freedom in apparently healthy populations

Any of the real-time PCR assays is recommended for surveillance to demonstrate freedom in apparently health populations.

6. Corroborative diagnostic criteria

This section only addresses the diagnostic test results for detection of infection in the absence (Section 6.1.) or in the presence of clinical signs (Section 6.2.) but does not evaluate whether the infectious agent is the cause of the clinical event.

The case definitions for a suspect and confirmed case have been developed to support decision making related to trade and confirmation of disease status at the country, zone or compartment level. Case definitions for disease confirmation in endemically affected areas may be less stringent. If a Competent Authority does not have the capability to undertake the necessary diagnostic tests it should seek advice from the appropriate WOAHP Reference Laboratory, and if necessary,

refer samples to that laboratory for confirmatory testing of samples from the index case in a country, zone or compartment considered free.

6.1. Apparently healthy animals or animals of unknown health status⁸

Apparently healthy populations may fall under suspicion, and therefore be sampled, if there is an epidemiological link(s) to an infected population. Hydrographical proximity to, or movement of animals or animal products or equipment, etc., from a known infected population equate to an epidemiological link. Alternatively, healthy populations are sampled in surveys to demonstrate disease freedom.

6.1.1. Definition of suspect case in apparently healthy animals

The presence of infection with DIV1 shall be suspected if at least one of the following criteria is met:

- i) Positive result by real-time PCR
- ii) Positive result by conventional PCR,
- iii) Positive result by LAMP
- iv) Positive result by RPA

6.1.2. Definition of confirmed case in apparently healthy animals

The presence of infection with DIV1 is considered to be confirmed if at least one of the following criteria is met:

- i) Positive result by real-time PCR followed by conventional PCR and amplicon sequencing.
- ii) Positive result by real-time PCR followed by conventional nested PCR and amplicon sequencing.
- iii) A positive result from each of two different real-time PCR methods

6.2 Clinically affected animals

Clinical signs are not pathognomonic for a single disease; however, they may narrow the range of possible diagnoses.

6.2.1. Definition of suspect case in clinically affected animals

The presence of infection with DIV1 shall be suspected if at least one of the following criteria is met:

- i) Gross pathology or clinical signs associated with the disease as described in this chapter, with or without elevated mortality
- ii) Positive result by real-time PCR
- iii) Positive result by conventional PCR
- iv) Positive result by LAMP
- v) Positive result by RPA
- vi) Histopathological changes consistent with the presence of the pathogen or the disease
- vii) Positive result by *in-situ* hybridisation

6.2.2. Definition of confirmed case in clinically affected animals

⁸ For example transboundary commodities.

The presence of infection with DIV1 is considered to be confirmed if at least one of the following criteria is met:

- i) Positive result by real-time PCR and positive result by conventional PCR followed by amplicon sequencing
- ii) Positive result by real-time PCR and positive result by conventional nested PCR and amplicon sequencing
- iii) Positive result by real-time PCR and positive result by *in-situ* hybridisation
- iv) A positive result from each of two different real-time PCR methods

6.3. Diagnostic sensitivity and specificity for diagnostic tests

The diagnostic performance of tests recommended for surveillance or diagnosis of infection with DIV1 are provided in Tables 6.3.1. and 6.3.2 (no data are currently available for either). Data are only presented where tests are validated to at least level 2 of the validation pathway described in Chapter 1.1.2. and the information is available within published diagnostic accuracy studies.

6.3.1. For presumptive diagnosis of clinically affected animals

Test type	Test purpose	Source populations	Tissue or sample types	Species	DSe (n)	DSp (n)	Reference test	Citation

DSe = diagnostic sensitivity, DSp = diagnostic specificity, *n* = number of samples used in the study,
PCR: = polymerase chain reaction.

6.3.2. For surveillance of apparently healthy animals

Test type	Test purpose	Source populations	Tissue or sample types	Species	DSe (n)	DSp (n)	Reference test	Citation

DSe = diagnostic sensitivity, DSp = diagnostic specificity, *n* = number of samples used in the study,
PCR: = polymerase chain reaction.

7. References

CHEN Z., HUANG J., ZHANG F., ZHOU Y. & HUANG H. (2020). Detection of shrimp hemocyte iridescent virus by recombinase polymerase amplification assay. *Mol. Cell. Probes*, **49**, 101475.

CHEN X., QIU L., WANG H., ZOU P., DONG X., LI F. & HUANG J. (2019). Susceptibility of *Exopalaemon carinicauda* to the infection with shrimp hemocyte iridescent virus (SHIV 20141215), a strain of decapod iridescent virus 1 (DIV1). *Viruses*, **11**, 387.

GONG H.Y., LI Q.Y., ZHANG H., YE L., SHI L. & FENG Y.H. (2021). Development and comparison of qPCR and qLAMP for rapid detection of the decapod iridescent virus 1 (DIV1). *J. Invert. Pathol.*, **182**, 107567

GUO X.M., QIU L., GAO W., WANG G.H., CHEN X. & HUANG J. (2022). Radical thermal therapy against infection with decapod iridescent virus 1 (DIV1). *Aquaculture*, **561**, 738636.

INTERNATIONAL COMMITTEE OF TAXONOMY ON VIRUSES (ICTV) (2023). Genus: Decapodiridovirus. <https://ictv.global/report/chapter/iridoviridae/iridoviridae/decapodiridovirus>

LI F., XU L. & YANG F. (2017). Genomic characterization of a novel iridovirus from redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus*: evidence for a new genus within the family *Iridoviridae*. *J. Gen. Virol.*, **98**, 2589–2595.

QIU L., CHEN X., GAO W., GUO X.M., XIE G.S., GONG M. & HUANG J. (2022a). Confirmation of susceptibility of swimming crab to infection with decapod iridescent virus 1. *Aquaculture*, **548**, 737607.

QIU L., CHEN X., GAO W., LI C., GUO X.M., ZHANG Q.L. & HUANG J. (2021a). Molecular epidemiology and histopathological study of a natural infection with decapod iridescent virus 1 in farmed white leg shrimp, *Penaeus vannamei*. *Aquaculture*, **533**, 736105.

QIU L., CHEN X., GUO X.M., GAO W., ZHAO R.H., ZHANG Q.L., YANG B. & HUANG J. (2020a). A TaqMan probe based real-time PCR for the detection of Decapod iridescent virus 1. *J. Invertebr. Pathol.*, **173**, 107367. doi: 10.1016/j.jip.2020.107367.

QIU L., CHEN M.M., WAN X.Y., LI C., ZHANG Q.L., WANG R.Y. & HUANG J. (2017). Characterization of a new member of Iridoviridae, shrimp hemocyte iridescent virus (SHIV), found in white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Sci. Rep.*, **7**, 11834.

QIU L., CHEN M.M., WAN X.Y., ZHANG Q.L., LI C., DONG X. & HUANG J. (2018a). Detection and quantification of shrimp hemocyte iridescent virus by TaqMan probe based real-time PCR. *J. Invert. Pathol.*, **154**, 95–101.

QIU L., CHEN X., ZHAO R.H., LI C., GAO W., ZHANG Q.L. & HUANG J. (2019a). Description of a natural infection with decapod iridescent virus 1 in farmed giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *Viruses*, **11**, 354.

QIU L., DONG X., WAN X.Y. & HUANG J. (2018b). Analysis of iridescent viral disease of shrimp (SHID). In: Analysis of Important Diseases of Aquatic Animals in China in 2017 (in Chinese). Fishery and Fishery Administration Bureau under the Ministry of Agriculture and Rural Affairs, National Fishery Technical Extension Center, Eds., China Agriculture Press, Beijing, 187–204, ISBN 978-7-109-24522-8.

QIU L., DONG X., WAN X.Y. & HUANG J. (2019b). Analysis of iridescent viral disease of shrimp (SHID) in 2018. In: Analysis of Important Diseases of Aquatic Animals in China in 2018. Fishery and Fishery Administration Bureau under the Ministry of Agriculture and Rural Affairs, National Fishery Technical Extension Center, Eds., (in press) (in Chinese).

QIU L., DONG X., WAN X.Y., ZHANG Q.-L. & HUANG J. (2020b). Analysis of iridescent viral disease of shrimp (SHID) in 2019. In: Bureau of Fisheries, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, National Fisheries Technology Extension Center (Ed.), 2020 Analysis of Important Diseases of Aquatic Animals in China. China Agriculture Press, Beijing, pp. 185–200 (in Chinese).

QIU L., DONG X., WAN X.Y., ZHANG Q.-L. & HUANG J. (2021b). Analysis of iridescent viral disease of shrimp (SHID) in 2020. In: Bureau of Fisheries, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, National Fisheries Technology Extension Center (Ed.), 2021 Analysis of Important Diseases of Aquatic Animals in China. China Agriculture Press, Beijing, pp. 182–196 (in Chinese).

QIU L., DONG X., WAN X.Y. & ZHANG Q.-L. (2022b). Analysis of infection with Decapod iridescent virus 1 (iDIV1) in 2021. In: Bureau of Fisheries, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, National Fisheries Technology Extension Center (Ed.), 2022 Analysis of Important Diseases of Aquatic Animals in China. China Agriculture Press, Beijing, pp. 161–174 (in Chinese).

SANGUANRUT P., THAIUE D., THAWONSUWAN J., ALDAMA-CANO D.J., FLEGEL T.W. & SRITUNYALUCKSANA K. (2021). The lymphoid organ (LO) is an additional, prime target for decapod iridescent virus 1 (DIV1) in *Penaeus vannamei*. *Aquaculture*, **547**, 737482.

RISALA J., SANGUANRUT P., THAIUE D., LAIPHROM S., SIRIWATTANO J., KHUDET J., THAIUE D., POWTONGSAK S., FLEGEL T.W. & SRITUNYALUCKSANA K. (2021). Infectious myonecrosis virus (IMNV) and decapod iridescent virus 1 (DIV1) detected in captured, wild *Penaeus monodon*. *Aquaculture*, **545**, 737262.

XU L., WANG T., LI F. & YANG F. (2016) Isolation and preliminary characterization of a new pathogenic iridovirus from redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus*. *Dis. Aquat. Org.*, **120**, 17–26.

*
* *

NB: There is a WOA Reference Laboratory for infection with decapod iridescent virus 1
(please consult the WOA web site:

<https://www.woah.org/en/what-we-offer/expertise-network/reference-laboratories/#ui-id-3>).

Please contact the WOAH Reference Laboratories for any further information on infection with decapod iridescent virus 1

NB: FIRST ADOPTED IN 20XX.

SECTION 2.4.

DISEASES OF MOLLUSCS

CHAPTER 2.4.0.

GENERAL INFORMATION

A. SAMPLING

1. Assessing the health status of the epidemiological unit

1.1. Sample material to be used for tests

Sample material and the number of samples to be collected depend on the specific disease or pathogen, the size of animals and the objective of testing (i.e. surveillance of apparently healthy animals, presumptive diagnosis of clinically affected animals or confirmatory diagnosis of a suspect result from surveillance or presumptive diagnosis). See individual disease chapters in this *Aquatic Manual* for specific details of sample requirements.

1.2. Specifications according to mollusc populations

For details of animals to sample for a specific listed disease, see the relevant disease chapter in this *Aquatic Manual*. The design of a surveillance system for demonstrating disease-free status for a country, zone or compartment should be in accordance with the recommendations of the WOAHP *Aquatic Code* Chapter 1.4. *Aquatic animal disease surveillance*.

The following factors should be considered when selecting animals to be sampled:

- i) for apparently healthy populations, susceptible species should be sampled proportionately or following risk-based criteria for targeted selection of lots, epidemiological units or populations with a history of abnormal mortality or potential exposure events (e.g. stocking with animals of unknown disease status)
- ii) If weak, abnormally behaving or freshly dead (not decomposed) animals are present, such animals should be selected. If such animals are not present, animals should be selected in such a way that all epidemiological units of the farm or waterbody are proportionately represented in the sample;
- iii) if more than one water source is used for production, animals from all water sources should be included in the sample.

1.3. Specifications according to clinical status

In addition to sampling of target tissues, other organs showing macroscopic abnormalities or lesions should also be sampled. For disease outbreaks, at least ten diseased or moribund molluscs should be sampled for testing. Parallel samples ($n > 10$) from apparently normal animals in the same production region should also be collected. Collection of dead specimens during disease outbreaks should be avoided when possible, but recently dead samples may be suitable for some diagnostic assays provided the animals are not decomposed. Disease-specific

recommendations are provided in Section 3 *Sample selection, sample collection, transportation and handling* of the individual chapters.

1.4. Specifications according to mollusc size

For the WOA-listed diseases it is recommended that the scheduling of sampling be planned (i.e. by farm schedule, season, etc.) so that the particular life-stage(s) are sampled at a time when the pathogen of concern is most likely to be detected.

1.4.1. For the listed parasites

Juveniles below 1.5 cm: sample the entire animal but remove the shell when possible or proceed with a decalcification protocol. When animals are too small for individual analyses, analyses can be performed on pools of several animals.

Juveniles 1.5–3 cm: sample the entire mollusc and cut in half sagittally. Keep one half of the animal for histological analyses and the other half for molecular analyses.

Molluscs over 3 cm: take a cross-section of the body, passing through the mantle, gills, digestive gland and gonads for histological analyses. Keep the remaining tissues for molecular analyses.

2. General processing of samples

Sampled molluscs should be delivered alive to the diagnostic laboratory. The laboratory should be informed of the estimated time of arrival of the sample so the required materials to process the molluscs can be prepared before receipt of the samples.

Mollusc samples should be packed appropriately in order to keep them alive. Required samples should be shipped as soon as possible after collection from the water. Unless otherwise specified, moribund animals should be sent on ice (but not frozen) to reduce sample decomposition.

For samples that cannot be delivered live to the diagnostic laboratory, specimens should be fixed on site as recommended in the following sections of this chapter or the relevant disease chapters of this *Aquatic Manual*. While this may be suitable for subsequent histology, transmission electron microscopy examination or PCR analyses for example, other techniques, such as fresh smears, tissue imprints, routine bacteriology, mycology or Ray's fluid thioglycollate culture of *Perkinsus* spp., cannot be performed on such samples. Diagnostic needs and sample requirements should be discussed with the diagnostic laboratory prior to collection of the sample.

2.1. Macroscopic examination

The gross observation of molluscs should target, as far as possible, animal behaviour, shell surface, inner shell and soft tissues.

It is often difficult to observe the behaviour of molluscs in open systems. However, observation of molluscs in certain rearing facilities, such as broodstock in tanks and larvae in hatcheries, can provide useful indications of disease-related behavioural changes. If signs are noted (e.g. pre-settlement of larvae on the bottom, food accumulation in tanks, signs of weakening, etc.), samples may be examined for gross signs, including observation under a dissecting microscope for abnormalities and deformities, fouling organisms, and fixed for further processing as recommended below. For adults and juveniles, signs of weakening may include gaping, accumulation of sand, mud and debris in the mantle and on the gills, mantle retraction away from the edge of the shell, decreased activity (scallop swimming, clam burrowing, abalone grazing), etc. The righting reflex of abalone after being inverted does not occur in weakened animals, and it is a good indicator of weakness. Mortality in open systems should be monitored for patterns of losses, and samples should be collected for further analysis. Environmental factors, pre- and post-mortality, should be recorded.

Even under culture conditions, the shells of molluscs may not be clean and fouling organisms are normal colonists of mollusc shell surfaces. Organisms such as barnacles, limpets, sponges, polychaete worms, bivalve larvae,

tunicates, bryozoans, etc., do not normally threaten the health of molluscs. Culture systems, such as suspension and shallow water culture, can even increase exposure to fouling organisms and shells may become covered by other animals and plants. This can affect health directly by impeding shell opening and closing or indirectly through competition for food resources. Signs of weakening associated with heavy fouling should be a cause for concern rather than fouling itself. Shell damage by boring organisms, such as sponges and polychaete worms, are usually benign, but under certain conditions may reach proportions that make the shell brittle or pierce through to the soft tissues. This degree of shell damage can weaken the mollusc and render it susceptible to pathogen infections. Shell deformities (shape, holes in the surface), fragility, breakage or repair should be noted, but may not be indicative of a disease concern. Burrowing epibionts may cause deformities and weaken the shell(s). Abnormal coloration and smell may indicate a possible soft-tissue infection that may need to be examined at a laboratory.

The molluscs should be opened carefully so as not to damage the soft tissues, in particular the mantle, gills, heart and digestive gland. The presence of fouling organisms on the inner shell surface is a clear indication of weakness. The inner surface of the shell is usually smooth and clean because of mantle and gill action. Perforation of the inner surface may occur but can be sealed off by the deposition of additional conchiolin and nacre. This may result in formation of mud- or water-filled blisters. Blisters may also form over superficial irritants such as foreign bodies. The degree of shell perforation can be determined by holding the shell up to a strong light. Where abnormalities occurring within the matrix of the shell warrant further investigation, freshly collected specimens can be brought intact to the laboratory or fixed for subsequent decalcification, as required. The appearance of the soft tissues is frequently indicative of the physiological condition of the animal. Soft tissues should be examined for the presence of abscess lesions, pustules, tissue discoloration, pearls, oedema, overall transparency or wateriness, gill deformities, etc., and, when found in association with weak or dying animals. Abnormalities and lesions of the tissues should be noted and recorded, as well as any shell deformities, shell-boring organisms and conspicuous mantle inhabitants. Levels of tissue damage should be recorded and samples of affected and unaffected animals collected for laboratory examination as soon as possible.

2.2. Virological examination

See Chapter 2.4.1. Infection with abalone herpesvirus for specific details.

2.3. Bacteriological examination

See Chapter 2.4.7. Infection with *Xenohaliotis californiensis* for specific details.

2.4. Parasitic (protists) examination

See Chapters 2.4.2 to 2.4.6. Infections with listed protists for specific details.

2.5. Fungal examination

Not applicable for currently listed diseases.

B. MATERIALS AND BIOLOGICAL PRODUCTS REQUIRED FOR THE ISOLATION AND IDENTIFICATION OF MOLLUSC PATHOGENS

1. Mollusc viruses

1.1. Mollusc cell lines

Not applicable. There are currently no confirmed or documented mollusc cell lines suitable for virus isolation.

1.2. Culture media

Not applicable.

1.3. Virus positive controls and antigen preparation

1.3.1. Virus nomenclature

In general, the virus nomenclature used in the disease-specific chapters follows the most recent taxonomy for viruses as given in the Report of the Committee on Taxonomy of Viruses (see: [ICTV \[ictvonline.org\]](http://ictvonline.org) for latest information).

1.3.2. Virus production for experimental purposes

As no cell lines are known that can be used to produce mollusc virus stocks, infection of known susceptible host species (which are free of infection with the pathogenic agent in question) is the preferred method for virus production for experimental purposes or for the production of positive control material.

1.3.3. Virus preservation and storage

Infectivity of all of the WOAHL-listed mollusc viruses can be preserved by freezing infected whole molluscs or infected target tissues at –20°C for short-term storage, or at –80°C or lower for long-term storage.

2. Mollusc bacteria

Not applicable. There is currently no developed procedure to cultivate *Xenohaliotis californiensis*.

3. Mollusc parasites (protists)

3.1. Culture media

See Chapters 2.4.5 Infection with *Perkinsus marinus* and 2.4.6 Infection with *Perkinsus olseni* for details.

3.2. Storage of cultures

Perkinsus spp. cultures in the exponential phase of growth can be pelleted by centrifugation and cryopreserved by resuspending the pellet in 40% DMEM Ham's F-12 (1:1) culture medium with 10% glycerol and 50% FBS and freezing them using standard procedures.

4. Mollusc fungi

4.1. Culture media

Not applicable for currently listed diseases.

4.2. Storage of cultures

Not applicable for currently listed diseases.

5. Techniques

The available diagnostic methods that may be selected for diagnosis of the WOAHL-listed mollusc diseases or detection of their aetiological agents are based on:

- i) Gross and clinical signs.
- ii) Direct bright-field, phase-contrast or dark-field microscopy with whole stained or unstained tissue wet-mounts, tissue squashes, and impression smears.

-
- iii) Histology, *in-situ* hybridisation and electron microscopy of fixed specimens.
 - iv) Culture methods where applicable.
 - v) Molecular methods (including sequencing): Conventional and real-time PCR and LAMP for direct assay with fresh, frozen or ethanol fixed-tissue samples or with extracted DNA.

Bioassays of suspect or subclinical carriers using a highly susceptible host (life stage or species) may also be used as an indicator for the presence of the pathogen.

Pooling of samples from more than one individual animal for a given purpose is only recommended where robust supporting data on diagnostic sensitivity and diagnostic specificity have been evaluated and found to be suitable. If the effect of pooling on diagnostic sensitivity has not been thoroughly evaluated, larger molluscs should be processed and tested individually. However, for eggs, larvae and postlarvae, pooling of individuals may be necessary to obtain sufficient sample material to run a diagnostic assay.

5.1. Gross and clinical signs

Macroscopic examination of gross and clinical signs reveals non-specific signs only (e.g. gaping in bivalves or general weakness of the foot muscle in abalone), and mortality may be caused by several disease agents or physiological problems, such as loss of condition following spawning. To obtain a definitive diagnosis further investigation is required and this can only be determined using a range of other techniques including histology/electron microscopy and molecular techniques such as PCR and gene sequence analysis.

5.2. Direct microscopy

Samples for direct microscopic examination should be examined as soon as possible after collection. Use live specimens whenever possible, or use fresh, chilled, or fixed specimens when live specimens are not practical. If an adequate field laboratory is available, it should be used to process and examine samples near the site of collection.

5.3. Histological techniques

Live moribund animals or freshly dead (within minutes) animals provide the optimal tissues for examination. Due to tissue lysis that occurs during the freeze-thaw cycle, frozen samples are not appropriate for histology. Should a delay between animal mortality and sampling occur, it is recommended that animals be stored intact on ice or in a refrigerator.

To obtain a sample that includes all the major tissues, a section should be taken to include digestive gland, gills, gonad, mantle and palps, where possible. For large specimens, it may be necessary to take several sections to include all the important tissues. Tissue preparation for examination by light microscopy involves several steps, including tissue fixation, dehydration, impregnation and embedding of samples, preparation of sections, staining and mounting of slides.

5.3.1. Tissue fixation

Tissue fixation is required to maintain the morphology of the tissues and to prevent post-sampling necrosis. Recommended fixatives used for the study of marine molluscs are Davidson's solution, Carson's solution and 10% formalin in filtered sea water. The ratio of fixative to tissue volume should be at least 10:1 to ensure good fixation.

Davidson's solution:

1 µm filtered sea water	1200 ml
95% Alcohol	1200 ml
35–40% Formaldehyde ⁹	800 ml
Glycerol	400 ml
Glacial acetic acid	10% (add just prior to use)

Carson's solution:

NaH ₂ PO ₄ ·2H ₂ O	23.8 g
Sodium hydroxide (NaOH)	5.2 g
Distilled water	900 ml
40% Formaldehyde ¹	100 ml
Adjust the pH to 7.2–7.4	

10% formalin in filtered sea water solution:

1 µm filtered sea water	900 ml
35–40% Formaldehyde ¹	100 ml

These solutions allow tissue structure to be preserved and different histochemical methods to be used including for *in-situ* hybridisation with DNA probes. Over-fixation (over 24–48 hours) should be avoided. After fixation, the specimens should be transferred to 70% ethyl alcohol, where they can be stored indefinitely. Davidson's solution is normally used because it provides better preservation of the cell nuclei. Carson's solution or 10% formalin in seawater can be used to examine tissues by electron microscopy. As electron microscopy can be a valuable aid in diagnosing or confirming infections in bivalve molluscs, fixing some samples (particularly the smaller ones) with glutaraldehyde, as described in Section B.5.4.1 of this chapter, may be considered, and will provide electron micrographs of the highest quality. It is recommended that a representative portion of the mollusc is fixed in Davidson's solution, while another representative portion is fixed in Carson's solution for further examination to ensure that all tissues/organs are fixed in both fixatives. If neither is available, 10% formalin buffered with filtered seawater will suffice.

For transport and shipping, see *Aquatic Code Chapter 5.10 Measures concerning international transport of aquatic animal pathogens and pathological material*.

5.3.2. Dehydration, impregnation and embedding of the samples

The fixed samples are transferred through a series of graded alcohols (70–95% [v/v]) before final dehydration in absolute ethanol. The alcohol contained in the tissues is next eliminated by immersing them in xylene. The tissues are then impregnated with paraffin, which is soluble in xylene, at 60°C. These steps are often carried out automatically using a tissue processing machine. Should processing be delayed, fixed tissues may be stored in 70% ethanol.

Histological blocks are produced by letting the tissues cool in moulds filled with paraffin on a cooling table.

5.3.3. Preparation of the sections

After the blocks have cooled and the paraffin has solidified, histological sections of about 2–5 µm are cut using a microtome. The sections are recovered on histological slides, drained and dried for up to 1 hour at 40–42°C or overnight at room temperature.

5.3.4. Staining and mounting the slides

⁹ A saturated 37–39% aqueous solution of formaldehyde gas.

Before staining, the paraffin is removed from the sections by immersing them in xylene or equivalent clearing solution for 10–20 minutes. This is repeated once and then the solvent is eliminated by immersion in two successive absolute ethanol baths for 10-minute periods each, and they are then rehydrated through a descending series of ethanol baths (for example 95%, 70%, 50%, 30%, 10 minutes each) with a final immersion in tap water for 10 minutes. Different topographical or histochemical staining techniques can then be performed.

When haematoxylin–eosin (H&E) stain is used (haematoxylin or equivalent), nuclear and basophilic structures stain a blue-to-dark-purple colour, the endoplasmic reticulum stains blue, while the cytoplasm takes on a grey colour. The acid dye eosin stains the other structures pink. This staining technique is simple and reproducible and, although it only allows a limited differentiation of cell structures, it is possible to detect any abnormalities in tissue and cellular structure. Other techniques may be applied to demonstrate particular structures or features as required (e.g. trichrome for connective tissue and cytoplasmic granules).

5.4. Transmission electron microscopy methods

Transmission electron microscopy can be used as part of the diagnostic procedures for diseases of molluscs.

Fixation for electron microscopy should be done immediately after the animal has been killed and before fixation for histology. Only samples taken rapidly from live animals will be of any use. The preparation of samples for electron microscopy involves the following steps: tissue fixation, decalcification of the samples (when necessary), dehydration, impregnation and embedding of the samples, preparation and counterstaining of the sections.

5.4.1. Tissue fixation

For tissues that are to be examined by electron microscopy, it is important that the fixation be performed correctly in order to cause as little damage as possible to the ultrastructure. The specimens are cut such that their dimensions do not exceed 1–2 mm. This small size allows rapid penetration of the various solutions into the tissue sample.

Fixation is carried out directly in 3% glutaraldehyde for 1–4 hours. The samples are washed in buffer three times, then post-fixed in 1% osmic acid (aqueous OsO_4) and washed twice again in buffer. Various formulations of glutaraldehyde fixative and buffers work equally well.

In order to cause as little damage as possible to the ultrastructure, the samples are treated with solutions that have an osmolarity close to that of the tissues. Thus, mollusc tissues are treated with solutions with an osmolarity of approximately 1000 mOsm. The osmolarity of the solutions is adjusted with artificial sea salts or NaCl. Alternatively, the glutaraldehyde can be formulated with 0.22 μm filtered seawater, and filtered seawater used for subsequent washes.

Sodium cacodylate	0.4 M: 8.6 g in 100 ml of distilled water
-------------------	-------------------------------------------

Sodium chloride	10% in distilled water
-----------------	------------------------

Cacodylate buffer, pH 7.4:

1000 mOsm

Sodium cacodylate	50 ml from 0.4 M stock solution
-------------------	---------------------------------

NaCl	20 ml from 10% stock solution
------	-------------------------------

Distilled water	30 ml
-----------------	-------

Adjust the pH to 7.4

3% Glutaraldehyde:

1000 mOsm

25% glutaraldehyde	2.5 ml
--------------------	--------

0.4 M sodium cacodylate	5 ml
-------------------------	------

10% NaCl	3.5 ml
----------	--------

Distilled water	9 ml
-----------------	------

1% Osmic acid:	
1000 mOsm	
4% Osmic acid	1 volume
0.4 M sodium cacodylate	1 volume
NaCl	1 volume from 10% stock solution
Distilled water	1 volume

5% ethylene diamine tetra-acetic acid (EDTA):	
Disodium EDTA	5 g
Cacodylate buffer	100 ml

EDTA dissolves when the pH is above 8. When the solution becomes clear adjust the pH to 7.4 by adding concentrated HCl.

If the samples have been previously fixed and stored in Carson's solution, they should be washed several times in a bath of buffer before fixation with 3% glutaraldehyde.

5.4.2. Dehydration, impregnation and embedding of the samples

The samples are dehydrated in successive baths of ethanol: 70% ethanol once, 95% ethanol twice, absolute ethanol three times. The dehydration is completed by two baths of propylene oxide, which allows subsequent impregnation with Epon.

The samples are impregnated progressively. After a first bath in a mixture of polypropylene oxide–Epon (50/50), the samples are placed in a bath of Epon. The longer the incubation, the better the impregnation of the tissues.

Embedding is carried out by placing the samples in moulds filled with Epon resin. A label identifying the sample is included in each block and the blocks are then placed at 60°C (the temperature at which Epon resin polymerises) for 48 hours.

5.4.3. Preparation of the sections and the counterstaining

The blocks are cut to appropriate sizes with a razor blade and, using an ultra- microtome, semi-thin sections (0.5–1 µm) are cut and placed on glass slides. These will be used to monitor the quality of the samples by light microscopy and to locate the areas of interest on the section.

The semi-thin sections are stained at 90–100°C with 1% toluidine blue solution. After drying, the slides are mounted under cover-slips with a drop of synthetic resin and observed using the light microscope.

Ultra-thin sections 80–100 nm thick are placed on mesh copper grids for electron microscopy. Uranyl acetate and lead citrate are used to counterstain the ultra-thin sections.

5.5. Use of molecular techniques for surveillance, confirmatory testing and diagnosis

Molecular techniques, including the use of nucleic acid probes for *in-situ* hybridisation, conventional PCR and real-time PCR, have been developed for the identification of many pathogens of aquatic animals. Real-time PCR methods, in general, have high sensitivity and specificity and, following adequate validation, can be used for direct detection of pathogen nucleic acids in samples prepared from mollusc tissues. These techniques can be used in direct surveillance of apparently healthy populations, if they have a high level of diagnostic sensitivity, as well as in the diagnosis of clinically affected animals.

When using PCR as a diagnostic method, the design of primers and probe, the use of positive and negative controls, as well as validation of the PCR method chosen are important. Real-time PCR is a powerful technique particularly for analysing relatively high numbers of samples (e.g. for surveillance) via high-throughput testing. Several nucleic acid probe and PCR protocols are included in this version of the *Aquatic Manual* as screening, diagnostic or confirmatory methods for molluscs and can be undertaken as the standard method. Following real-

time PCR-positive results, where possible, conventional PCR with sequence analysis of PCR products should be used for confirmation of pathogen identity.

As with all PCR protocols, optimisation may be necessary depending on the reagents, equipment and the plasticware used. PCR is prone to false-positive and false-negative results. False-positive results (negative samples giving a positive reaction) may arise from either product carryover from positive samples or, more commonly, from cross-contamination by PCR products from previous tests. Therefore, each assay and tissue extraction should include a negative control to rule out contamination. False-negative results (positive samples giving a negative result) may lead to unwanted transmission of pathogens and biosecurity failure. Therefore, each assay (and ideally each tissue extraction) should include positive controls to ensure the assay performed correctly. Additionally, mollusc tissues are known to potentially contain PCR inhibitors. It is therefore recommended to check for the presence of PCR inhibitors in DNA extracts to avoid false negative results.

To minimise the risk of contamination, aerosol barrier pipette tips should be used for all sample preparation and PCR steps. Additionally, all PCRs should be prepared in a clean area that is separate from the area where the nucleic acid extraction, amplification and gel electrophoresis are performed. Do not share equipment (e.g. laboratory coats and consumables) between areas and, where possible, restrict access between areas. Contaminating PCR products can be carried on equipment, clothes, shoes and paper (e.g. workbooks). Also, ensure all work-tops and air-flow hoods/cabinets used for the extractions and PCR set-up are regularly cleaned and decontaminated. To ensure sample integrity, always store the samples (e.g. in a freezer or refrigerator) in a location separate from the molecular biology laboratory and reagents.

Nested PCR involves two rounds of PCR and may be used to achieve increased sensitivity and specificity; however, it increases the risk of contamination. Contaminants from previous reactions can carry over and lead to false-positive results. Strict laboratory practices such as separate workspaces, dedicated equipment, and meticulous pipetting techniques are essential to mitigate this risk. In conclusion, nested PCR is not recommended for surveillance but may sometimes be used for confirmative studies.

5.5.1. Sample preparation

Samples should be prepared to preserve the nucleic acid of the pathogen and should be handled and packaged with the greatest care to minimise the potential for cross-contamination amongst the samples or target degradation before the assay can be performed. A water-resistant label, with the appropriate data filled out, should be placed within each package or container for each sample set. Use of household permanent markers should be avoided as their ink dissolves in ethanol and may result in loss of the sample label. Use pencil or histology pens only to label vials or jars.

Some suitable methods for preservation and transport of samples taken for molecular tests are:

- i) *Live, iced specimens or chilled specimens:* for specimens that can be rapidly transported to the laboratory for testing within 24 hours, pack samples in sample bags in an insulated box containing a cold pack and ship to the laboratory. Note: cold packs should not be in direct contact with the animals to avoid freezing some parts of the tissues if histological analyses are also planned on the samples (histology cannot be performed on frozen tissues).
- ii) *Frozen whole specimens:* select live specimens according to the purpose of sampling, quick freeze in the field using crushed dry-ice, or freeze in a field laboratory using a mechanical freezer at -20°C or lower temperature. Prepare and insert the label into the container with the samples, pack samples with an adequate quantity of dry-ice in an insulated box, and ship to the laboratory.
- iii) *Alcohol-preserved samples:* 80% analytical grade ethanol (i.e. methanol-free ethanol) can be used to preserve, store, and transport mollusc tissues. Tissues should be fully immersed in ethanol. Shipment can be performed at room temperature.
- iv) *Fixed tissues for in-situ hybridisation:* for this purpose, classic methods for preservation of the tissues for histology are adequate. Davidson's solution is usually a good choice for later use of molecular probes (See Section B.5.3). For DNA, specifically, over-fixation (more than 48 hours) should be avoided.

5.5.2. Preservation of DNA in tissues

For routine diagnostic testing by PCR, samples must be prepared to preserve the pathogen's nucleic acid. For most purposes, preservation of samples in analytical grade ethanol (80%) at room temperature is the preferred method for subsequent molecular tests. Samples preserved in this way can be stored for up to 1 week at 4°C or 25°C for 1 week or for extended periods at -20°C or below. In addition, other products (e.g. nucleic acid preservatives, various lysis buffers, etc.) are acceptable and are commercially available for the same purpose.

5.5.3. Nucleic acid extraction

To isolate nucleic acids from tissues preserved in ethanol or other preservative, simply remove the tissue from the fixative or preservative, press the tissues on absorbent paper to remove the excess of ethanol and let the ethanol evaporate, then treat it as fresh or frozen samples. Most fresh and preserved or fixed tissues can be homogenised (e.g. with a mortar and pestle or in bead-beating tubes) directly in the lysis or extraction buffer provided with commercially available DNA and RNA extraction kits. Commercial kits should be validated or undergo equivalence testing with current validated extraction procedures prior to routine use.

5.5.4. Preparation of slides for *in-situ* hybridisation

For *in-situ* hybridisation, molluscs are fixed and embedded in paraffin, according to the methods described above for histology. Sections are cut at 5 µm thick and placed on aminoalkylsilane-coated slides, which are then dried overnight at room temperature or in an oven at 40°C. The sections are dewaxed by immersing in xylene for 10 minutes. This step is repeated once and then the solvent is eliminated by immersion in two successive absolute ethanol baths for 10 minutes each. The sections could be rehydrated by immersion in a descending ethanol series. The protocol may require a step of membrane permeabilisation enabling access to the target DNA. For this purpose, sections are treated with proteinase K (100 µg ml⁻¹) in TE buffer (Tris [50 mM], EDTA [10 mM]), at 37°C for 10–30 minutes in a humid chamber. Slides are dehydrated by immersion in one or several ethanol series and then air-dried. For *in-situ* hybridisation tests (see individual chapters for details), it is essential that both a known positive and a known negative slide be stained to eliminate false positive results due to non-specific staining/stain dropout, and false negative results due to errors in the staining protocol. It is also recommended to test non-specific ISH probes (e.g. “universal” 18s probes) on tested samples to check if the material is suitable for ISH analyses.

For further details see disease-specific chapters in this *Aquatic Manual*.

6. Additional information to be collected

Sample information should include the collector's name, organisation, date, time, and description of the geographical location of the place of origin. The geographical location of the place of origin of samples may be described as the name or location of the site from which the sample has originated, or its geographical co-ordinates. There should also be records that provide information to allow trace-backs on the sample movement from the site of origin to the storage facility or laboratory and within those facilities.

Samples should be accompanied with background information, including the reason for submitting the sample (surveillance, abnormal mortality, abnormal growth, etc.), gross observations and associated environmental parameters, approximate prevalence and patterns of mortality, origin and nature of the molluscs (species, age, whether or not the samples are from local mollusc populations or stocks transferred from another site, date of transfer and source location, etc.). This information should identify possible changes in handling or environmental conditions that could be a factor in mortality in association, or not, with the presence of infectious agents

Information on the preservation method, storage location, and date and time of storage at each storage locker or freezer along with information on the storage temperature (continuously monitored is preferable) should be collected. This information should be tracked with a unique sample code for all samples. For laboratories, the date of receipt, storage location information, date of analysis, analysis notes, and report date should be maintained for all uniquely coded samples. These data will greatly facilitate the tracking of sample problems and provide assurance that the samples were properly handled.

See disease-specific chapters in this *Aquatic Manual* for recommendations on any additional information that may be required or that may assist the diagnostic laboratory in determining the most appropriate test(s) to be run for submitted samples.

7. Key references for further reading

ALMEIDA M., BERTHE F., THEBAULT A. & DINIS M.T. (1999). Whole clam culture as a quantitative diagnostic procedure of *Perkinsus atlanticus* (Apicomplexa, Perkinsea) in clams *Ruditapes decussatus*. *Aquaculture*, **177**, 325–332.

ARZUL I., CORBEIL S., MORGA B. & RENAULT T. (2017). Viruses infecting marine molluscs. *J. Invert. Pathol.*, **147**, 118–135.

BERTHE F.C.J., LE ROUX F., ADLARD R.D. & FIGUERAS A.J. (2004). Marteilliosis of molluscs: a review. *Aquat. Living Resour.*, **17**, 433–448.

BONDAD-REANTASO M.G., MCGLADDERY S.E., EAST I. & SUBASINGHE R.P. (2001). Asian Diagnostic Guide to Aquatic Animal Diseases. *FAO Fisheries Technical Paper*, No. 402, supplement 2. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Rome, Italy, 240 pp.

BUSHEK D., FORD S.E. & ALLEN S.K. (1994). Evaluation of methods using Ray's fluid thioglycollate medium for diagnosis of *Perkinsus marinus* infections in the eastern oyster, *Crassostrea virginica*. *Ann. Rev. Fish Dis.*, **4**, 201–217.

GUO X. & FORD S.E. (2015). Infectious diseases of marine molluscs and host responses as revealed by genetic tools. *Phil. Trans. R. Soc.*, **B 371**, 20150206.

HOWARD D.W., LEWIS E.J., KELLER J. & SMITH C.S. (2004). Histological techniques for marine bivalve molluscs and crustaceans. *NOAA Technical Memorandum NOS NCCOS 5*, 218 pp.

MCDOWELL E. & TRUMP B.F. (1976). Histologic fixatives suitable for diagnostic light and electron microscopy. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, **100**, 405–414.

MOODY N.J.G. & CRANE M.ST.J. (2016). Validation of diagnostic tests in the OIE manual for aquatic animals. In: Proc. 3rd OIE Global Conference on Aquatic Animal Health – “Riding the Wave of the Future”, Ho Chi Minh City, Vietnam, 20–22 January 2015, pp.119–126.

QADIRI S.S.N., SOO-JIN KIM S.-J., KRISHNAN R., KIM J.-O., KOLE S., KIM W.-S. & OH M.-J. (2019). Localization and tissue tropism of viral haemorrhagic septicemia virus (VHSV) in experimentally infected juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus*: An *in situ* hybridization and immunohistochemical study. *Aquaculture*, **505**, 242–252.

VALVERDE E.J., BORREGO J.J., SARASQUETE M.C., ORTIZ-DELGADO J.B. & CASTRO D. (2017). Target organs for lymphocystis disease virus replication in gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Vet. Res.*, **48**, 21. doi 10.1186/s13567-017-0428-3.

VILLALBA A., REECE K.S., ORDÁS M.C., CASAS S.M. & FIGUERAS A.J. (2004). Perkinsosis in molluscs. *Aquat. Living Resour.*, **17**, 411–432.

*
* *

NB: FIRST ADOPTED IN 1997. MOST RECENT UPDATES ADOPTED IN 2012.

CHAPTER 2.4.1.

INFECTION WITH ABALONE HERPESVIRUS

1. Scope

Infection with abalone herpesvirus means infection with the pathogenic agent *Aurivirus haliotidmalaco1* (commonly known as *Haliotid herpesvirus 1* [AbHV-1]) of the genus *Aurivirus* and the Family *Malacoherpesviridae*.

2. Disease information

2.1. Agent factors

2.1.1. Aetiological agent

AbHV-1 is the aetiological agent of abalone viral ganglioneuritis (AVG), a contagious disease of abalone species in Australia (Ellard *et al.*, 2009; Hooper *et al.*, 2007), China (People's Rep. of) (Gu *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 2004) and Chinese Taipei (Chang *et al.*, 2005). Comparison of nucleotide sequences of the Victorian isolate of AbHV-1 and ostreid herpesvirus-1 (Davison *et al.*, 2009; Le Deuff & Renault, 1999) over common coding regions identified similarities ranging from 19% to 53%, indicating that these viruses share a low level of sequence similarity (Savin *et al.*, 2010). AbHV-1 has been assigned as a second member of the *Malacoherpesviridae* (ICTV, 2022). Complete genome sequences of isolates demonstrated that there are at least five genetic variants of AbHV-1 within Australia (Cowley *et al.*, 2012; Corbeil *et al.*, 2016) and one Chinese Taipei strain (Chang *et al.*, 2005). More recent analysis demonstrated that the Chinese strain represents a further variant (Bai *et al.*, 2019b).

Purified AbHV-1 particles (Tan *et al.*, 2008) observed by transmission electron microscopy are enveloped and icosahedral with electron dense cores and 100–110 nm in diameter. The intranuclear location of AbHV-1 particles, their size and ultrastructure are characteristic of members of the *Herpesviridae*. Isopycnic gradient centrifugation (in potassium tartrate and caesium chloride density gradients) indicated a virus particle buoyant density of 1.17–1.18 g ml⁻¹ (Tan *et al.*, 2008).

2.1.2. Survival and stability in processed or stored samples

Virus derived from tissue obtained from experimentally infected abalone that had been homogenised in sterile EMEM Gibco) containing 10% fetal bovine serum, centrifuged (1500 g for 20 minutes at 4°C), filtered (0.22 µm) and stored as 250 µl aliquots in liquid nitrogen remains infectious for at least 21 months (Corbeil *et al.*, 2012b).

2.1.3. Survival and stability outside the host

Experimental studies (Corbeil *et al.*, 2012b) demonstrated that AbHV-1 remained infectious for up to 5 days when held in seawater at 4°C and for only 1 day at 15°C.

2.2. Host factors

Acute disease was first reported in farmed *Haliotis diversicolor supertexta* in Chinese Taipei (Chang *et al.*, 2005). Subsequently, disease outbreaks occurred in both farmed and wild abalone populations in Australia in all age classes of *H. rubra*, *H. laevisgata*, and their hybrids (Hooper *et al.*, 2007). AbHV-1 is also suspected to be the aetiological agent of an epizootic disease that devastated the abalone aquaculture industry in southeastern China (People's Rep. of) starting in 1999 and continuing through the early 2000s (Gu *et al.*, 2019; Wei *et al.*, 2018; Wu &

Zhang, 2016). Interestingly, New Zealand pāua (*H. iris*) was highly resistant to experimental infection (Corbeil et al., 2017).

2.2.1. Susceptible host species

Species that fulfil the criteria for listing as susceptible to infection with AbHV-1 according to Chapter 1.5. of the *Aquatic Animal Health Code (Aquatic Code)* are: small abalone (*Haliotis diversicolor*), Greenlip abalone (*Haliotis laevis*), Blacklip abalone (*Haliotis rubra*) and hybrids of Greenlip × Blacklip abalone (*Haliotis laevis* × *Haliotis rubra*).

2.2.2. Species with incomplete evidence for susceptibility

Species for which there is incomplete evidence to fulfil the criteria for listing as susceptible to infection with AbHV-1 according to Chapter 1.5 of the *Aquatic Code* are: Japanese abalone (*Haliotis discus*) and Rainbow abalone (*Haliotis iris*).

In addition, pathogen-specific positive polymerase chain reaction (PCR) results have been reported in the following species, but no active infection has been demonstrated: none

2.2.3. Likelihood of infection by species, host life stage, population or sub-populations

All age classes of *H. diversicolor*, *H. rubra*, *H. laevis*, and hybrids of *H. rubra* × *H. laevis* appear to be highly susceptible to disease (Corbeil 2020; Gu et al., 2019).

2.2.4. Distribution of the pathogen in the host

The major histopathological lesion identified in abalone affected with AVG is ganglioneuritis: inflammation confined to neural tissue. The cerebral, pleuropedal and buccal ganglia can be affected as well as the cerebral commissure and associated peripheral nerves (Bai et al., 2019a; Chang & Handlinger, 2022; Hooper et al., 2007). The Chinese variant is also able to infect and replicate in haemocytes of *H. diversicolor* (Bai et al., 2020)

2.2.5. Aquatic animal reservoirs of infection

No information available.

2.2.6. Vectors

No information available.

2.3. Disease pattern

Outbreaks of AVG in both farmed and wild abalone populations in Australia are associated with the rapid onset of high mortality rates (up to 90%) in all age classes (Corbeil et al., 2010). Similarly, in Chinese Taipei, during the epizootic in cultured abalone (the water temperature was 16–19°C), both adult and juvenile abalone suffered from the disease, with cumulative mortalities of 70–80%. It was reported that death of all of the abalone in a pond could occur within 3 days of the onset of clinical signs (Chang et al., 2005). A similar disease pattern occurred with experimental infections (Chang et al., 2005; Crane et al., 2009).

2.3.1. Mortality, morbidity and prevalence

In on-farm epizootics in Australia cumulative mortality in all age classes can reach >90%. In experimental trials, 100% mortality can occur within 5 days post-exposure. Most abalone that display gross signs are likely to die within 1–2 days.

In Australia, and similarly in Chinese Taipei, an outbreak of AVG is associated with a rapid rise in mortality rate (up to 90% or more). Affected abalone demonstrating clinical signs (e.g. curling of the foot) are likely to die within 1 day of showing these signs. Ganglioneuritis is observed in sections of neural tissue by light microscopy and confirmation of the presence of AbHV-1 is obtained by real-time PCR or *in-situ* hybridisation (Crane et al., 2016). The precise prevalence of AVG in wild abalone populations in Australian

waters is unknown. The first epidemiological study undertaken in China (People's Rep. of), using real-time PCR (Gu *et al.*, 2019), revealed a detection rate of 27–30% in abalone (*H. diversicolor* and *H. discus hanna*) farms with both healthy and diseased abalone.

2.3.2. Clinical signs, including behavioural changes

AVG outbreaks in both farmed and wild abalone were associated with high mortality rates (up to 90% on farm). Clinically, abalone may demonstrate one or more of the following signs: irregular peripheral concave elevation of the foot; swollen and protruding mouth parts; eversion of the radula; minimal movement of the pedal muscle; excessive mucus production; absence of the marked extension of the foot shown in the righting reflex when healthy abalone are turned onto their backs; reduced pedal adhesion to the substrate. In Tasmania, abalone affected by AVG in processing plants exhibited 'hard foot' or tetany, excessive mucus production, abnormal spawning and 'bloating' (Ellard *et al.*, 2009). These facilities also experienced much lower morbidity and mortality rates than reported on farms or in wild abalone in Victoria, Australia. Similar signs have been reported for an abalone disease epizootic in Chinese Taipei (Chang *et al.*, 2005).

AVG is normally an acute disease, with abalone dying within 1–2 days of demonstrating gross signs of the disease. Wild harvested abalone held in live-holding facilities in Tasmania have previously exhibited slower onset of clinical signs and mortality. Some Tasmanian wild caught abalone have previously tested positive for AVG using real-time PCR without overt clinical or histological signs.

2.3.3 Gross pathology

Abalone that are loosely attached to the substrate owing to weakness or abnormalities of the pedal muscle should be selected for sampling. If this gross pathology is caused by acute AVG, it is likely that these abalone will die within 1–2 days.

2.3.4. Modes of transmission and life cycle

Horizontal transmission (Bai *et al.*, 2019a; Chang *et al.*, 2005; Crane *et al.*, 2009) has been demonstrated experimentally by:

1. exposing healthy abalone to water containing diseased abalone in the same tank without direct contact between the diseased and healthy abalone;
2. placing healthy abalone in water that was previously inhabited by diseased abalone.

In all cases, 100% mortality was observed with a preclinical period of 1–2 days following exposure and then mortality commenced until 100% mortality occurred within 2–5 days post-infection.

2.3.5. Environmental factors

In Australia, the initial outbreak of AVG occurred on a farm during summer 2005/2006 and subsequently appeared to spread to wild populations, which experienced mortality throughout the following year i.e. during all seasons. All experimental infections to date have been carried out in the temperature range 15–18°C. In Chinese Taipei, during the reported epizootic, the water temperature was 16–19°C, and experimental infections were carried out at 17–20°C. In China (People's Rep. of), natural infections were only detected at water temperatures below 23°C (Gu *et al.*, 2019). How temperature affects viral replication and onset of disease has yet to be determined. The possible effects of changes in other environmental factors such as salinity and dissolved oxygen are unknown.

2.3.6. Geographical distribution

Reported in Asia-Pacific.

See WAHIS (<https://wahis.woah.org/#/home>) for recent information on distribution at the country level.

2.4. Biosecurity and disease control strategies

2.4.1. Vaccination

None.

2.4.2. Chemotherapy including blocking agents

No data available.

2.4.3. Immunostimulation

No data available.

2.4.4. Breeding resistant strains

No data available.

2.4.5. Inactivation methods

AbHV-1 was inactivated by treatment with 50 ppm of the iodophor Buffodine® as well as a 1% solution of the non-ionic surfactant Impress®. Calcium hypochlorite (1.5 ppm) treatment also inactivated the virus (Corbeil *et al.*, 2012b).

2.4.6. Disinfection of eggs and larvae

No data available.

2.4.7. General husbandry

To date, experimental data indicates that AbHV-1 is highly virulent. Practices that could be implemented to reduce the severity of the disease have not been identified. It is interesting to note that, in contrast to the situation in Victoria, Australia, clinical disease has not been reported in wild abalone populations in Tasmania, Australia. Disease outbreaks in processing plants in Tasmania suggest that stress factors may influence expression of subclinical infection.

3. Specimen selection, sample collection, transportation and handling

This section draws on information in Sections 2.2, 2.3 and 2.4 to identify populations, individuals and samples that are most likely to be infected.

3.1. Selection of populations and individual specimens

At the first signs of increased numbers of abalone appearing to be weak or behaving abnormally, or sudden onsets of unexplained mortality, live moribund individuals should be selected for sampling. If moribund or freshly dead abalone are not available, samples of overtly normal abalone from all parts of the farm, and representing all age classes, should be selected for sampling.

3.2. Selection of organs or tissues

Neural tissue that includes the cerebral, pleuropedal and buccal ganglia.

3.3. Samples or tissues not suitable for pathogen detection

To date, lesions have not been detected consistently in non-neural tissues.

3.4. Non-lethal sampling

Not available.

3.5. Preservation of samples for submission

For guidance on sample preservation methods for the intended test methods, see Chapter 2.4.0 *General information (diseases of molluscs)*.

3.5.1. Samples for pathogen isolation

The results of bioassay depend strongly on the quality of samples (time since collection and time in storage). Fresh specimens should be kept on ice and preferably sent to the laboratory within 24 hours of collection. To avoid degradation of samples, use alternative storage methods only after consultation with the receiving laboratory.

3.5.2. Preservation of samples for molecular detection

Tissue samples for PCR testing should be preserved in 70–90% (v/v) analytical/reagent-grade (undenatured) ethanol. The recommended ratio of ethanol to tissue is 10:1 based on studies in terrestrial animal and human health. The use of lower grade (laboratory or industrial grade) ethanol is not recommended. If material cannot be fixed it may be frozen.

Standard sample collection, preservation and processing methods for molecular techniques can be found in Section B.5.5 of Chapter 2.4.0 *General information* (diseases of molluscs).

3.5.3. Samples for histopathology, immunohistochemistry or *in-situ* hybridisation

Standard sample collection, preservation and processing methods for histological techniques can be found in Section B.5.3 of Chapter 2.4.0 *General information* (diseases of molluscs).

3.5.4. Samples for other tests

Not applicable.

3.6. Pooling of samples

Pooling of samples from more than one individual animal for a given purpose is only recommended where robust supporting data on diagnostic sensitivity and diagnostic specificity have been evaluated and found to be suitable. If the effect of pooling on diagnostic sensitivity has not been thoroughly evaluated, larger specimens should be processed and tested individually. Small life stages such as larvae can be pooled to obtain the minimum amount of material for molecular detection.

4. Diagnostic methods

The methods currently available for pathogen detection that can be used in i) surveillance of apparently healthy animals, ii) presumptive diagnosis in clinically affected animals and iii) confirmatory diagnostic purposes are listed in Table 4.1. by animal life stage.

Ratings for purposes of use. For each recommended assay a qualitative rating for the purpose of use is provided. The ratings are determined based on multiple performance and operational factors relevant to application of an assay for a defined purpose. These factors include appropriate diagnostic performance characteristics, level of assay validation, availability cost, timeliness, and sample throughput and operability. For a specific purpose of use, assays are rated as:

+++ =	Methods are most suitable with desirable performance and operational characteristics.
++ =	Methods are suitable with acceptable performance and operational characteristics under most circumstances.
+ =	Methods are suitable, but performance or operational characteristics may limit application under some circumstances.
Shaded boxes =	Not appropriate for this purpose.

Validation stage. The validation stage corresponds to the assay development and validation pathway in chapter 1.1.2. The validation stage is specific to each purpose of use. Where available, information on the diagnostic performance of recommended assays is provided in Section 6.3.

WOAH Reference Laboratories welcome feedback on diagnostic performance of recommended assays, in particular PCR methods. Of particular interest are any factors affecting expected assay sensitivity (e.g. tissue components inhibiting

amplification) or expected specificity (e.g. failure to detect particular genotypes, detection of homologous sequences within the host genome). These issues should be communicated to the WOAHP Reference Laboratories so that advice can be provided to diagnostic laboratories and the standards amended if necessary.

Table 4.1. WOAHA recommended diagnostic methods and their level of validation for surveillance of apparently healthy animals and investigation of clinically affected animals

Method	D. Surveillance of apparently healthy animals				E. Presumptive diagnosis of clinically affected animals				F. Confirmatory diagnosis ¹ of a suspect result from surveillance or presumptive diagnosis			
	Early life stages ²	Juveniles ²	Adults	LV	Early life stages ²	Juveniles ²	Adults	LV	Early life stages ²	Juveniles ²	Adults	LV
Wet mounts												
Imprints												
Histopathology		+	+	NA		++	++	2		++	++	2
Transmission electron microscopy						+	+	NA		+	+	NA
Real-time PCR		+++	+++	2		+++	+++	2		+++	+++	2
Conventional PCR						++	++	2				
Conventional PCR followed by amplicon sequencing										+++	+++	2
<i>In-situ</i> hybridisation						++	++	NA		++	++	NA
Bioassay						+	+	NA				
LAMP												
Ab-ELISA												
Ag-ELISA												
Other antigen detection methods												
Other methods												

LV = level of validation, refers to the stage of validation in the WOAHA Pathway (chapter 1.1.2); PCR = polymerase chain reaction; LAMP = loop-mediated isothermal amplification;

Ab- or Ag-ELISA = antibody or antigen enzyme-linked immunosorbent assay, respectively; IFAT = indirect fluorescent antibody test.

¹For confirmatory diagnoses, methods need to be carried out in combination (see Section 6). ²Susceptibility of early and juvenile life stages is described in Section 2.2.3.

Shading indicates the test is inappropriate or should not be used for this purpose.

4.1. Wet mounts

Not applicable.

4.2. Electron microscopy/cytopathology

Transmission electron microscopy is not a routine diagnostic method but can be used to confirm the presence of viral particles in infected ganglia. AbHV-1 particles are icosahedral with electron dense cores and a diameter of 100–110 nm. The intranuclear location of the particles and their ultrastructure are characteristic of members of the *Herpesviridae* (Tan *et al.*, 2008).

Tissue samples (containing pleuropedal ganglion) for examination by electron microscopy should be fixed using 2.5% (v/v) glutaraldehyde and 2–4% (v/v) paraformaldehyde in 0.1 M cacodylate buffer and post-fixed in 1% (w/v) osmium tetroxide, washed in reverse osmosis water (3 × 5 minutes), dehydrated in a graded series of 'analytical grade' ethanol (70%, overnight at 4°C; 95%, 20 minutes; 100%, 3 × 20 minutes), infiltrated in 100% Spurr's resin (overnight) and then embedded in Spurr's resin.

4.3. Histopathology

Neural tissue (cerebral, pleuropedal and buccal ganglia, branches of the pedal nerve and peripheral nerves) is the prime target and should be sampled, fixed (using 10% formalin) and processed using standard procedures, and stained with haematoxylin and eosin for histological examination.

Abalone affected with AVG demonstrate inflammation (increased infiltration by haemocytes) and necrosis confined to neural tissue (cerebral, pleuropedal and buccal ganglia, branches of the pedal nerve and peripheral nerves) as observed in histological sections of neural tissue stained with haematoxylin and eosin and examined by light microscopy (Chang & Handlinger, 2022; Ellard *et al.*, 2009; Hooper *et al.*, 2007).

4.4. Nucleic acid amplification

PCR assays should always be run with the controls specified in Section B.5.5 *Molecular methods* of Chapter 2.4.0 *General information* (diseases of molluscs). An 18S rDNA real-time PCR can be used to validate nucleic acid extraction and integrity, and the absence of PCR inhibitors (Crane *et al.*, 2016). Each sample should be tested in duplicate.

Extraction of nucleic acids

Different kits and procedures can be used for nucleic acid extraction. The quality and concentration of the extracted nucleic acid is important and can be checked using a suitable method as appropriate to the circumstances.

4.4.1. Real-time PCR

Following validation of the real-time PCR test targeted to ORF49 (Corbeil *et al.*, 2010), the discovery of genotypic variants in Australia not recognised by this test necessitated other real-time PCR tests to be developed based on more conserved regions of the viral genome. Real-time PCR tests targeted to ORF49 and ORF66 have been used extensively in disease investigations and the accumulated data have been used in test validation (Caraguel *et al.*, 2019). For the detection of all genetic variants, the ORF49 and ORF66 real-time PCR tests should be run in parallel, and infection with AbHV can be confirmed by a positive result from either of the two tests. Each of these tests can be multiplexed with an 18S rDNA real-time PCR test, used to validate nucleic acid extraction and integrity, and the absence of PCR inhibitors (Crane *et al.*, 2016).

Primers and probes (sequences)

Pathogen/ target gene	Primer/probe (5'–3')	Concentration	Cycling parameters ^(a)
Crane <i>et al.</i> , 2016; GenBank Accession No.: MW412419.1			
AbHV ORF49	ORF49F1: AAC-CCA-CAC-CCA-ATT-TTT-GA ORF49R1: CCC-AAG-GCA-AGT-TTG-TTG-TT 49Prb1: 6FAM-CCG-CTT-TCA-ATC-TGA-TCC-GTG-G-TAMRA	300 nM 300 nM 100 nM	50 cycles of: 95°C/3 sec and 62°C/30 sec
Crane <i>et al.</i> , 2016; GenBank Accession No.: MW412419.1			
AbHV ORF66	ORF66F1: TCC-CGG-ACA-CCA-GTA-AGA-AC ORF66R1: CAA-GGC-TGC-TAT-GCG-TAT-GA 66Prb1: 6FAM-TGG-CCG-TCG-AGA-TGT-CCA-TG-TAMRA	300 nM 300 nM 100 nM	50 cycles of: 95°C/3 sec and 60°C/30 sec

^(a)A denaturation step prior to cycling has not been included.

4.4.2. Conventional PCR

Conventional PCR may also be used for detection of AbHV-1 in tissue samples. Nucleic acid is extracted as described above. The AbHV1617 PCR has been shown to generate amplicons of various length (522bp to 588bp) depending on the AbHV-1 isolate. Thus it is potentially useful for epidemiological studies and to confirm positive real-time PCR results (Crane *et al.*, 2016). A second PCR targeting the Taiwanese AbHV-1 DNA polymerase gene has also been developed (Chen *et al.*, 2012). The primer sequences for the two tests are detailed below.

Primer sequences

Pathogen/ target gene	Primer (5'–3')	Concentration	Cycling parameters ^(a)
Method 1: Crane <i>et al.</i> , 2016; GenBank Accession No.: MW412419.1 amplicon size: 522–588 bp (depending on genetic variant)			
AbHV	AbHV-16: GGC-TCG-TTC-GGT-CGT-AGA-ATG AbHV-17: TCA-GCG-TGT-ACA-GAT-CCA-TGT-C	360 nM 360 nM	40 cycles of: 94°C/30 sec and 52°C/30 sec
Method 2: Chen <i>et al.</i> , 2012; GenBank Accession No.: HQ317456; amplicon size: 606 bp			
AbHV	40f: TCC-ATC-GAG-ATT-CCC-AGT-TC 146r: ACG-CCA-CCC-TGT-ATA-ACG-AG	400 nM 400 nM	35 cycles of: 94°C/60 sec and 52°C/60 sec

^(a)A denaturation step prior to cycling has not been included.

4.4.3. Other nucleic acid amplification methods

A loop-mediated isothermal amplification assay for rapid and sensitive detection of AbHV-1 has been developed that is 100-fold more sensitive than conventional PCR (Chen *et al.*, 2014) but is not widely used because of false positive and false negative results.

4.5. Amplicon sequencing

The size of the PCR amplicon should be verified, for example by agarose gel electrophoresis. Both DNA strands of the PCR product must be sequenced and analysed in comparison with reference sequences.

4.6. *In-situ* hybridisation

In-situ hybridisation localises AbHV-1-infected cells within the neural tissue which, on histological examination, demonstrates ganglioneuritis typified by an inflammatory change with increased cellularity involving mainly haemocytes and glial cells, and cell necrosis in the affected nerves (Mohammad *et al.*, 2011).

The *in-situ* hybridisation (ISH) procedure uses a digoxigenin (DIG)-labelled DNA probe to detect AbHV-1 in formalin-fixed, paraffin-embedded (FFPE) tissue sections and is described in Crane *et al.* (2016).

4.7. Immunohistochemistry

Not applicable.

4.8. Bioassay

A bioassay is not normally required for routine diagnosis. However, when there is a suspect case due to the presence clinical signs and/or histopathology but molecular tests yield negative results, a bioassay (Corbeil *et al.*, 2012a) can be used for confirmation of the presence of a previously unknown genetic variant. Homogenised and clarified neural tissue is used as inoculum and injected (i.m.) into the foot of known uninfected susceptible abalone host species. The inoculated abalone are monitored for clinical signs such as loss of adhesion to the substrate and then samples taken for histology, molecular analyses and electron microscopy. If presence of a herpesvirus is confirmed by electron microscopy further investigation such as whole genome sequencing should be initiated.

4.9. Antibody- or antigen-based detection methods

None currently available.

4.10. Other methods

None.

5. Test(s) recommended for surveillance to demonstrate freedom in apparently healthy populations

The real-time PCR assays targeting ORF49 and ORF66 performed in parallel is recommended for surveillance to demonstrate freedom in apparently health populations (Caraguel *et al.*, 2019).

6. Corroborative diagnostic criteria

This section only addresses the diagnostic test results for detection of infection in the absence (Section 6.1.) or in the presence of clinical signs (Section 6.2.) but does not evaluate whether the infectious agent is the cause of the clinical event.

The case definitions for a suspect and confirmed case have been developed to support decision making related to trade and confirmation of disease status at the country, zone or compartment level. Case definitions for disease confirmation in endemically affected areas may be less stringent. If a Competent Authority does not have the capability to undertake the necessary diagnostic tests it should seek advice from the appropriate WOAHP Reference Laboratory, and if necessary, refer samples to that laboratory for confirmatory testing of samples from the index case in a country, zone or compartment considered free.

6.1. Apparently healthy animals or animals of unknown health status¹⁰

Apparently healthy populations may fall under suspicion, and therefore be sampled, if there is an epidemiological link(s) to an infected population. Hydrographical proximity to, or movement of animals or animal products or equipment, etc., from a known infected population equate to an epidemiological link. Alternatively, healthy populations are sampled in surveys to demonstrate disease freedom.

6.1.1. Definition of suspect case in apparently healthy animals

The presence of infection with abalone herpesvirus shall be suspected if at least one of the following criteria is met:

- i) Positive result by a real-time PCR
- ii) Histopathological changes consistent with the presence of the pathogen

6.1.2. Definition of confirmed case in apparently healthy animals

The presence of Infection with abalone herpesvirus is considered to be confirmed if one of the following criteria are met:

- i) Positive results by real-time PCR and by conventional PCR followed by sequence analysis of the amplicon
- ii) Positive results by *in-situ* hybridisation and by conventional PCR followed by sequence analysis of the amplicon

6.2 Clinically affected animals

Clinical signs are not pathognomonic for a single disease; however, they may narrow the range of possible diagnoses.

6.2.1. Definition of suspect case in clinically affected animals

The presence of infection with abalone herpesvirus shall be suspected if at least one of the following criteria is met:

- i) Gross pathology or clinical signs associated with the disease as described in this chapter, with or without elevated mortality
- ii) Positive result by a real-time PCR
- iii) Positive result by conventional PCR
- iv) Histopathological changes consistent with the presence of the pathogen or the disease
- v) Positive result of a bioassay

6.2.2. Definition of confirmed case in clinically affected animals

The presence of infection with abalone herpesvirus is considered to be confirmed if one of the following criteria are met:

- i) Positive results by real-time PCR and by conventional PCR followed by sequence analysis of the amplicon

¹⁰ For example transboundary commodities.

- ii) Positive results by *in-situ* hybridisation and by conventional PCR followed by sequence analysis of the amplicon

6.3. Diagnostic sensitivity and specificity for diagnostic tests

The diagnostic performance of tests recommended for surveillance or diagnosis of infection with abalone herpesvirus are provided in Tables 6.3.1. and 6.3.2. This information can be used for the design of surveys for infection with abalone herpesvirus, however, it should be noted that diagnostic performance is specific to the circumstances of each diagnostic accuracy study (including the test purpose, source population, tissue sample types and host species) and diagnostic performance may vary under different conditions. Data are only presented where tests are validated to at least level 2 of the validation pathway described in Chapter 1.1.2. and the information is available within published diagnostic accuracy studies.

6.3.1. For presumptive diagnosis of clinically affected animals

Test type	Test purpose	Source populations	Tissue or sample types	Species	DSe (n)	DSp (n)	Reference test	Citation
Real-time PCR	Diagnosis	Clinically diseased abalone from the wild and processing plants	Pleuropedal ganglion or pedal nerve cords	<i>Haliotis rubra</i>	100 (48)	100 (48)	Histopathology	Corbeil et al., 2010
Conventional PCR								
Histopathology								

DSe = diagnostic sensitivity, DSp = diagnostic specificity, n = number of samples used in the study, PCR = polymerase chain reaction.

6.3.2. For surveillance of apparently healthy animals

Test type	Test purpose	Source populations	Tissue or sample types	Species	DSe (n)	DSp (n)	Reference test	Citation
Real-time PCR	Surveillance	Naturally AbHV-1 infected wild and farmed populations; AbHV-1 free populations	Pleuropedal ganglion or pedal nerve cords	<i>Haliotis laevigata</i> ; <i>H. rubra</i> ; <i>H. laevigata</i> x <i>H. rubra</i> hybrids	90.1 (1452)	97.7 (1452)	Histopathology	Caraguel et al., 2019
Histopathology								

DSe = diagnostic sensitivity, DSp = diagnostic specificity, n = number of samples used in the study, PCR = polymerase chain reaction.

7. References

BAI C.-M., LI Y.-N., CHANG P.-H., JIANG J.-Z., XIN L.-S., LI C., WANG J.-Y. & WANG C.-M. (2019a). Susceptibility of two abalone species, *Haliotis diversicolor supertexta* and *Haliotis discus hannai*, to *Haliotid herpesvirus 1* infection. *J. Invertebr. Pathol.*, **160**, 26-32.

BAI C.-M., LI Y.-N., CHANG P.-H., JIANG J.-Z., XIN L.-S., LI C., WANG J.-Y. & WANG C.-M. (2020). *In situ* hybridization revealed wide distribution of *Haliotid herpesvirus 1* in infected small abalone, *Haliotis diversicolor supertexta*. *J. Invertebr. Pathol.*, **173**, 107356.

BAI C.-M., ROSANI U., LI Y.-N., ZHANG S.-M., XIN L.-S. & WANG C.-M. (2019b). RNA-seq of HaV-1-infected abalones reveals a common transcriptional signature of Malacoherpesviruses. *Nature Sci. Rep.*, **9**, 938.

-
- CARAGUEL C.G.B., ELLARD K., MOODY N.J.G., CORBEIL S., WILLIAMS L.M., MOHR P.G., CUMMINS D.M., HOAD J., SLATER J. & CRANE M.ST.J. (2019). Diagnostic test accuracy when screening for *Haliotid herpesvirus 1* (AbHV) in apparently healthy populations of Australian abalone *Haliotis* spp. *Dis. Aquat. Org.*, **136**, 199-207.
- CHANG P.H. & HANDLINGER J. (2022). ABALONE HERPESVIRUS. In: *Aquaculture Pathophysiology*, Vol. II. Crustacean and Mollusks Diseases, (K.S.B. Kibenge, R.S.-M. Chong, B. Baldisserotto (eds.)), Pp. 451-459. Academic Press, Elsevier.
- CHANG P.H., KUO S.T., LAI S.H., YANG H.S., TING Y.Y., HSU C.L. & CHEN H.C. (2005). Herpes-like virus infection causing mortality of cultured abalone *Haliotis diversicolor supertexta* in Taiwan. *Dis. Aquat. Org.*, **65**, 23-27.
- CHEN M.H., KUO S.T., RENAULT T., FRIEDMAN C.S. & CHANG P.H. (2012). Development of a polymerase chain reaction for the detection of abalone herpesvirus infection based on the DNA polymerase gene. *J. Virol. Meths.*, **185**, 1-6.
- CHEN M.H., KUO S.T., RENAULT T. & CHANG P.H. (2014). The development of a loop-mediated isothermal amplification assay for rapid and sensitive detection of abalone herpesvirus DNA. *J. Virol. Meths.*, **196**, 199-2013.
- CORBEIL S. (2020). Abalone Viral Ganglioneuritis. *Pathogens*, **9**, 720.
- CORBEIL S., COLLING A., WILLIAMS L.M., WONG F.Y.K., SAVIN K., WARNER S., MURDOCH B., COGAN N.O.I., SAWBRIDGE T.I., FEGAN M., MOHAMMAD I., SUNARTO A., HANDLINGER J., PYECROFT S., DOUGLAS M., CHANG P.H. & CRANE M.ST.J. (2010). Development and validation of a TaqMan® PCR assay for the Australian abalone herpes-like virus. *Dis. Aquat. Org.*, **92**, 1-10.
- CORBEIL S., MCCOLL K.A., WILLIAMS L.M., MOHAMMAD I., HYATT A.D., CRAMERI S.G., FEGAN M. & CRANE M.ST.J. (2012a). Abalone viral ganglioneuritis: Establishment and use of an experimental immersion challenge system for the study of abalone herpesvirus infections in Australian abalone. *Virus Res.*, **165**, 207-213.
- CORBEIL S., MCCOLL K.A., WILLIAMS L.M., SLATER J. & CRANE M.ST.J. (2017). Innate resistance of New Zealand pāua to abalone viral ganglioneuritis. *J. Invertebr. Pathol.*, **146**, 31-35.
- CORBEIL S., WILLIAMS L.M., BERGFELD J. & CRANE M.ST.J. (2012b). Abalone herpes virus stability in sea water and susceptibility to chemical disinfectants. *Aquaculture*, **326-329**, 20-26.
- CORBEIL S., WILLIAMS L.M., MCCOLL K.A. & CRANE M.ST.J. (2016). Australian abalone (*Haliotis laevis*, *H. rubra* and *H. conicopora*) are susceptible to infection by multiple abalone herpesvirus genotypes. *Dis. Aquat. Org.*, **119**, 101-106.
- COWLEY J.A., CORBEIL S., BULACH D., MOODY N.J., ELLARD K., FEGAN M., SAVIN K., WARNER S. & CRANE M.ST.J. (2012). Complete genome sequences of abalone herpes virus (AbHV) strains from Victoria and Tasmania provide insights into its origins and identity variations useful for epidemiology. In: 8th International Abalone Symposium Hobart, Tasmania, Australia, 6-11 May 2012.
- CRANE M.ST.J., CORBEIL S., FEGAN M. & WARNER S. (2009). Aquatic Animal Health Subprogram: Development of molecular diagnostic procedures for the detection and identification of herpes-like virus of abalone (*Haliotis* spp.). ISBN 978 0 643 09835 0. 79 pp.
- CRANE M.ST.J., MCCOLL K.A., COWLEY J.A., ELLARD K., SAVIN K.W., CORBEIL S., MOODY N.J.G., FEGAN M. & WARNER S. (2016). Abalone Herpesvirus In: *Molecular Detection of Animal Viral Pathogens* (D. Liu (ed.)) Pp 807-815. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, USA.
- DAVISON A.J., EBERLE R., EHLERS B., HAYWARD G.S., MCGEOCH D.J., MINSON A.C., PELLETT P.E., ROIZMAN B., STUDDERT M.J. & THIRY E. (2009). The order Herpesvirales. *Arch. Virol.*, **154**, 171-177.
- ELLARD K., PYECROFT S., HANDLINGER J. & ANDREWARTHA R. (2009). Findings of disease investigations following the recent detection of AVG in Tasmania. Proceedings of the Fourth National FRDC Aquatic Animal Health Scientific Conference, Cairns, Australia, 22-24 July 2009.
- GU L., QI R.-J., YANG R., HAN T., JIANG J.-Z. & WANG J.-Y. (2019). The prevalence of abalone herpesvirus in two *Haliotis* species in South China during 2002-2013. *Aquaculture*, **505**, 18-29.
-

HOOPER C., HARDY-SMITH P. & HANDLINGER J. (2007). Ganglioneuritis causing high mortalities in farmed Australian abalone (*Haliotis laevis* and *Haliotis rubra*). *Aus. Vet. J.*, **85**, 188–193.

INTERNATIONAL COMMITTEE OF TAXONOMY ON VIRUSES (ICTV) (2022). *Abolish 6 species and rename 1 family, 4 genera and 124 species in the order Herpesvirales*. <https://ictv.global/filebrowser/download/11652>

LE DEUFF R.M. & RENAULT T. (1999). Purification and partial genome characterization of a herpes-like virus infecting the Japanese oyster *Crassostrea gigas*. *J. Gen. Virol.*, **80**, 1317–1322.

MOHAMMAD I.M., WARNER S., KVALHEIM N., CRANE M.STJ. & FEGAN M. (2011) Development of an *in situ* hybridisation assay for the detection and identification of the abalone herpes-like virus. Proceedings of the First FRDC Australasian Scientific Conference on Aquatic Animal Health, Cairns, Australia, 5–8 July 2011.

SAVIN K.W., COCKS B.G., WONG F., SAWBRIDGE T., COGAN N., SAVAGE D. & WARNER S. (2010). A neurotropic herpesvirus infecting the gastropod, abalone, shares ancestry with oyster herpesvirus and a herpesvirus associated with the amphioxus genome. *Virol. J.*, **7**, 308. <http://www.virologyj.com/content/7/1/308>.

TAN J., LANCASTER M., HYATT A., VAN DRIEL R., WONG F. & WARNER S. (2008). Purification of a herpes-like virus from abalone (*Haliotis* spp.) with ganglioneuritis and detection by transmission electron microscopy. *J. Virol. Methods*, **149**, 338–341.

WANG J., GUO Z., FENG J., LIU G., XU L., CHEN B. & PAN J. (2004). Virus infection in cultured abalone, *Haliotis diversicolor* Reeve in Guangdong Province, China. *J. Shellfish Res.*, **23**, 1163–1168.

WEI H.Y., HUANG S., YAO T., GAO F., JIANG J.Z. & WANG J.Y. (2018). Detection of viruses in abalone tissue using metagenomics technology. *Aquaculture Res.*, **49**, 2704–2713. doi:10.1111/are.13731.

WU F.C. & ZHANG G.F. (2016). Pacific Abalone Farming in China: Recent Innovations and Challenges. *J. Shellfish. Res.*, **35**, 703–710.

*
* *

NB: There is a WOA Reference Laboratory for infection with abalone herpesvirus
(please consult the WOA web site:

<https://www.woah.org/en/what-we-offer/expertise-network/reference-laboratories/#ui-id-3>).

Please contact WOA Reference Laboratories for any further information on infection with abalone herpesvirus

NB: FIRST ADOPTED IN 2012.

CHAPTER 2.4.4.

INFECTION WITH *MARTEILIA REFRINGENS*

1. Scope

Infection with *Marteilia refringens* means infection with the pathogenic agent *M. refringens* (including O and M types) of the Family *Marteiliidae*.

2. Disease information

2.1. Agent factors

2.1.1. Aetiological agent

Marteilia refringens is a protozoan parasite of the Family *Marteiliidae* (Cavalier-Smith & Chao, 2003; Feist et al., 2009) infecting the digestive system of several bivalve species and inducing physiological disorders and eventual death of the animal (Alderman, 1979; Grizel et al., 1974). Two types of *M. refringens* (Grizel et al., 1974), types O and M, were defined by Le Roux et al. (2001). Although more recent results suggest that *M. refringens* should be distinguished from *M. pararefringens* (previously *M. maurini* or *M. refringens* type M) (Kerr et al., 2018), a larger set of samples is required to properly define both species and most available data in the literature do not allow differentiation of *M. refringens* type O (= *M. refringens* in Kerr et al., 2018) or *M. refringens* type M (= *M. pararefringens* in Kerr et al., 2018) to be made.

2.1.2. Survival and stability in processed or stored samples

No information available

2.1.3. Survival and stability outside the host

After its release from the European flat oyster (*Ostrea edulis*), *M. refringens* can survive at least 20 days in seawater and faeces. Parasite survival seems improved in faeces compared with seawater (Mérou et al., 2022).

2.2. Host factors

2.2.1. Susceptible host species

Species that fulfil the criteria for listing as susceptible to infection with *Marteilia refringens* according to Chapter 1.5. of the *Aquatic Animal Health Code (Aquatic Code)* are: blue mussel (*Mytilus edulis*), dwarf oyster (*Ostrea stentina*), European flat oyster (*Ostrea edulis*), European razor clam (*Solen marginatus*), golden mussel (*Xenostrobus securis*), Mediterranean mussel (*Mytilus galloprovincialis*) and striped venus clam (*Chamelea gallina*). Additionally, a copepod species (*Paracartia grani*) has been found to meet the criteria for listing as susceptible to infection with *M. refringens* and is considered an intermediate host.

2.2.2. Species with incomplete evidence for susceptibility

Species for which there is incomplete evidence to fulfil the criteria for listing as susceptible to infection with *M. refringens* according to Chapter 1.5 of the *Aquatic Code* are: Chilean flat oyster (*Ostrea chilensis*), a copepod (*Paracartia latisetosa*) and Japanese flat oyster (*Ostrea denselamellosa*). In addition, pathogen-specific positive polymerase chain reaction (PCR) results have been reported in the following species, but no active infection has been demonstrated: Cortez oyster (*Crassostrea corteziensis*), grooved carpet shell

(*Ruditapes decussatus*), Pacific cupped oyster (*Magallana* [syn. *Crassostrea*] *gigas*) and zooplankton (*Acartia discaudata*, *Centropages typicus*, *Euterpina acutifrons*, unidentified *Oithona* sp., *Penilia avirostris*).

2.2.3. Likelihood of infection by species, host life stage, population or sub-populations

Marteilia refringens usually causes clinical infection in the European flat oyster, *O. edulis* (Berthe et al., 2004; Grizel et al., 1974). In flat oysters and mussels, prevalence and infection intensity are generally higher in individuals 2 years old or older (Audemard et al., 2001; Villalba et al., 1993b).

2.2.4. Distribution of the pathogen in the host

Marteilia refringens infects the digestive tract. Young plasmodia are mainly found in the epithelium of labial palps, oesophagus and the stomach (Grizel et al., 1974). Sporulation takes place in the digestive gland tubules and ducts. Propagules are released into the lumen of the digestive tract and shed into the environment in faeces (Audemard et al., 2002; Berthe et al., 2004; Mérou et al., 2022).

2.2.5. Aquatic animal reservoirs of infection

Infected flat oysters, *O. edulis*, and mussels, *Mytilus edulis* and *M. galloprovincialis*, might not exhibit clinical signs or mortality, however they can release parasite sporangiospores (Arzul et al., 2014; Mérou et al., 2023).

2.2.6. Vectors

None known.

2.3. Disease pattern

2.3.1. Mortality, morbidity and prevalence

Infection is lethal for oysters: a 50–90% mortality rate is usually reported during summer and autumn and is associated with sporulation of the parasite (Grizel, 1985; Grizel et al., 1974). Similarly, morbidity is higher during warmer periods. Mussels are less affected by infection but mortalities up to 40% were reported in impacted areas (Berthe et al., 2004; Villalba et al., 1993b) and naïve mussels presented 100% mortality after being cultured for 6 months in an infected area (Thébault et al., 1999).

Prevalence is highly variable – up to 98% in *O. edulis*. Higher prevalence is expected depending on farming practices and in areas where potential hosts have had more than 1 year of exposure to infection (Berthe et al., 2004; Grizel, 1985). Prevalence usually peaks in summer whereas the parasite is usually absent or found at lower infection intensity in winter and early spring (Audemard et al., 2001; Mérou et al., 2023). An additional prevalence peak in spring has been reported in several studies (Arzul et al., 2014; Boyer et al., 2013; Carrasco et al., 2007; Mérou et al., 2023).

2.3.2. Clinical signs, including behavioural changes

Clinical signs include dead or gaping molluscs (Grizel, 1985; Grizel et al., 1974) but are not specific for infection with *M. refringens* and could be indicative of other infections.

2.3.3. Gross pathology

Pale digestive gland, thin watery flesh, mantle retraction and reduced growth rate were reported for infected flat oysters (Berthe et al., 2004; Grizel, 1985; Grizel et al., 1974), although these gross signs are not specific for infection with *M. refringens*. Reduced growth rate and inhibition of gonad development were reported for infected mussels (Villalba et al., 1993a).

2.3.4. Modes of transmission and life cycle

Horizontal transmission of *M. refringens* occurs, probably via an intermediate host (Audemard et al., 2002; Carrasco et al., 2008b). The parasite could be experimentally transmitted from *O. edulis* and *M. galloprovincialis* to the copepod *Paracartia grani* (Audemard et al., 2002; Carrasco et al., 2008b).

Transmission from *P. grani* to *O. edulis* or *M. galloprovincialis* has not been demonstrated experimentally (Audemard et al., 2002; Carrasco et al., 2008b). In oysters, the early stages of disease occur in the oesophagus, stomach, palps and even gill epithelia. It is thought that initial infection occurs via feeding currents. In mussels, the early stages have been observed in the epithelium of the gills, mantle, stomach and primary digestive tubules (Carrasco et al., 2008a).

The life cycle of *M. refringens* is suspected to be indirect and may include *P. grani* (Audemard et al., 2001; 2002), at least in pond systems. Other species (see Sections 2.2.5 and 2.2.6) might be involved as reservoirs or vectors in the *M. refringens* life cycle but their role has not been demonstrated).

The detection of *M. refringens* DNA in plankton, particularly nanoplankton, and in the benthos, suggests their involvement in the parasite life-cycle including transmission and storage or possible overwintering, respectively (Mérou et al., 2023).

2.3.5. Environmental factors

The threshold temperature for parasite sporulation and transmission is 17°C. This temperature is common in estuaries or bays where prevalence is usually higher in the upper parts of the water column (Audemard et al., 2001; Berthe et al., 2004; Carrasco et al., 2007; Grizel, 1985). Infection with *M. refringens* is seldom observed in open sea waters (Grizel, 1985). High salinity and water renewal could be detrimental to *M. refringens* development and transmission, although these parameters appear to be less significant than temperature (Audemard et al., 2001).

Parasite DNA detection in pelagic compartments was found higher when temperature, salinity and chlorophyll-a were higher (Mérou et al., 2023).

2.3.6. Geographical distribution

Reported in Europe and North Africa.

See WAHIS (<https://wahis.woah.org/#/home>) for recent information on distribution at the country level.

2.4. Biosecurity and disease control strategies

2.4.1. Vaccination

None.

2.4.2. Chemotherapy including blocking agents

None.

2.4.3. Immunostimulation

None.

2.4.4. Breeding resistant strains

None.

2.4.5. Inactivation methods

No data available.

2.4.6. Disinfection of eggs and larvae

No data available.

2.4.7. General husbandry

Stocking at low density or in association with resistant mollusc species, such as *Crassostrea gigas*, has been shown to be effective (Grizel, 1985). Stocking bivalves in deep zones exposed to currents seems to

limit the transmission of the parasite. Considering the possible presence of the parasite in the sediment (Mérout *et al.*, 2023), maintaining bivalves at distance from the bottom should limit the number of infected animals.

3. Specimen selection, sample collection, transportation and handling

This section draws on information in Sections 2.2, 2.3 and 2.4 to identify populations, individuals and samples that are most likely to be infected.

3.1. Selection of populations and individual specimens

Gaping or freshly dead individuals (2 or more years old) of species referred to in Section 2.2.1., should be sampled preferentially, to increase the chances of finding infected bivalves. For histology, only live (including moribund) bivalves should be sampled.

Sampling of bivalves should be organised when prevalence is known to be at a maximum. When such data are not available in a particular ecosystem, sampling should preferably be carried out when temperature reaches the yearly maximum (Audemard *et al.*, 2001; Carrasco *et al.*, 2007).

3.2. Selection of organs or tissues

A 3–5 mm thick section of tissues including gills and digestive mass is used for diagnosis of *M. refringens* infection by histology and PCR. A piece of digestive gland is preferred for imprints.

3.3. Samples or tissues not suitable for pathogen detection

Tissues other than gills and digestive mass are not suitable.

3.4. Non-lethal sampling

Examination of fresh samples of faeces collected from potentially infected bivalves using light microscopy is possible although this approach has not been validated (See Section 4.1)

3.5. Preservation of samples for submission

For guidance on sample preservation methods for the intended test methods, see Chapter 2.4.0 *General information (diseases of molluscs)*.

3.5.1. Samples for pathogen isolation

The success of pathogen isolation and results of bioassay depend strongly on the quality of samples (time since collection and time in storage). Fresh specimens should be kept on ice and preferably sent to the laboratory within 24 hours of collection. To avoid degradation of samples, use alternative storage methods only after consultation with the receiving laboratory.

3.5.2. Preservation of samples for molecular detection

Tissue samples for PCR testing should be preserved in 80% (v/v) analytical-grade ethanol. The recommended ratio of ethanol to tissue is 10:1 based on studies in terrestrial animal and human health. The use of lower grade (laboratory or industrial grade) ethanol is not recommended. If material cannot be fixed it may be frozen.

Standard sample collection, preservation and processing methods for histological techniques can be found in Section B.5.5 of Chapter 2.4.0 *General information (diseases of molluscs)*.

3.5.3. Samples for histopathology, immunohistochemistry or *in-situ* hybridisation

Standard sample collection, preservation and processing methods for histological techniques can be found in Section B.5.3 of Chapter 2.4.0 *General information* (diseases of molluscs).

3.5.4. Samples for other tests

None.

3.6. Pooling of samples

Pooling of samples from more than one individual animal for a given purpose is only recommended where robust supporting data on diagnostic sensitivity and diagnostic specificity have been evaluated and found to be suitable. If the effect of pooling on diagnostic sensitivity has not been thoroughly evaluated, larger specimens should be processed and tested individually. Small life stages such as spat can be pooled to obtain the minimum amount of material for molecular detection.

Performances of diagnostic methods applied on pools have not been evaluated.

4. Diagnostic methods

The methods currently available for pathogen detection that can be used in i) surveillance of apparently healthy animals, ii) presumptive diagnosis in clinically affected animals and iii) confirmatory diagnostic purposes are listed in Table 4.1. by animal life stage.

Ratings for purposes of use. For each recommended assay a qualitative rating for the purpose of use is provided. The ratings are determined based on multiple performance and operational factors relevant to application of an assay for a defined purpose. These factors include appropriate diagnostic performance characteristics, level of assay validation, availability cost, timeliness, and sample throughput and operability. For a specific purpose of use, assays are rated as:

- +++ = Methods are most suitable with desirable performance and operational characteristics.
- ++ = Methods are suitable with acceptable performance and operational characteristics under most circumstances.
- + = Methods are suitable, but performance or operational characteristics may limit application under some circumstances.

Shaded boxes = Not appropriate for this purpose.

Validation stage. The validation stage corresponds to the assay development and validation pathway in chapter 1.1.2. The validation stage is specific to each purpose of use. Where available, information on the diagnostic performance of recommended assays is provided in Section 6.3.

WOAH Reference Laboratories welcome feedback on diagnostic performance of recommended assays, in particular PCR methods. Of particular interest are any factors affecting expected assay sensitivity (e.g. tissue components inhibiting amplification) or expected specificity (e.g. failure to detect particular genotypes, detection of homologous sequences within the host genome). These issues should be communicated to the WOAH Reference Laboratories so that advice can be provided to diagnostic laboratories and the standards amended if necessary.

Table 4.1. WOAH recommended diagnostic methods and their level of validation for surveillance of apparently healthy animals and investigation of clinically affected animals

Method	A. Surveillance of apparently healthy animals				B. Presumptive diagnosis of clinically affected animals				C. Confirmatory diagnosis ¹ of a suspect result from surveillance or presumptive diagnosis			
	Early life stages ²	Juveniles ²	Adults	LV	Early life stages ²	Juveniles ²	Adults	LV	Early life stages ²	Juveniles ²	Adults	LV
Wet mounts						+	+	NA				
Tissue imprints		++	++	NA		+++	+++	NA				
Histopathology		++	++	2		+++	+++	NA				
Transmission electron microscopy									+	++	++	NA
Real-time PCR	+++	+++	+++	3	+++	+++	+++	NA	+++	+++	+++	NA
Conventional PCR	++	++	++	2	+++	+++	+++	NA				
Conventional PCR followed by amplicon sequencing									+++	+++	+++	NA
<i>In-situ</i> hybridisation									+	+++	+++	NA
Bioassay												
LAMP												
Ab-ELISA												
Ag-ELISA												
Other antigen detection methods ³												
Other methods ³												

LV = level of validation, refers to the stage of validation in the WOAHP Pathway (chapter 1.1.2); PCR = polymerase chain reaction; LAMP = loop-mediated isothermal amplification;

Ab- or Ag-ELISA = antibody or antigen enzyme-linked immunosorbent assay, respectively; IFAT = indirect fluorescent antibody test.

¹For confirmatory diagnoses, methods need to be carried out in combination (see Section 6). ²Susceptibility of early and juvenile life stages is described in Section 2.2.3.

³Specify the test used. Shading indicates the test is inappropriate or should not be used for this purpose.

4.1. Wet mounts

Samples to be taken consist of gaping oysters/mussels or freshly dead oysters/mussels.

Squash a piece of digestive gland on a glass slide. Observations are then made at $\times 400$ magnification and can potentially show refringent granules in mature sporangia.

Marteilia species are indicated by the presence of large (9–30 μm) spherical bodies containing thick wall structures.

4.2. Imprints

In moderate and advanced infections, digestive gland imprints are prepared.

Samples to be taken consist of fresh, gaping, or freshly dead bivalves.

After drying tissues on absorbent paper, several imprints are made on a glass slide. Slides are air-dried, fixed and stained using a commercially available blood-staining kit, in accordance with the manufacturer's instructions; fixation can be done using methanol or absolute ethanol. After rinsing in tap water and drying, the slides are mounted with a cover-slip using an appropriate synthetic resin. Slides are observed first at $\times 200$ magnification and then under oil immersion at $\times 1000$ magnification.

The observation of cells with a range in size of 5–8 μm diameter in the early stages of development and up to 30–40 μm during sporulation, may indicate infection with *Marteilia refringens*. The cytoplasm stains basophilic, whereas the nucleus stains eosinophilic. Pale halos around large, strongly stained (refringent) granules and, in larger cells, cell-within-cell arrangements are observed. In advanced stages, eight secondary cells can be observed in the primary cells and four spores in each secondary cell (Berthe et al., 2000; 2004; Grizel et al., 1974).

4.3. Histopathology

Samples to be taken consist of live or moribund bivalves.

Sections of tissues that include gills, digestive gland, mantle and gonad should be fixed for a minimum of 24 hours in a recommended fixative followed by standard processing for histology as described in section 5.3 of Chapter 2.4.0 *General information* (diseases of molluscs). Observations are made at increasing magnifications up to $\times 1000$.

Specificity and sensitivity: values of diagnostic sensitivity and specificity for histology were estimated at 70% and 99%, respectively (Thébault et al., 2005).

The observation of cells ranging in size from 4 to 40 μm may be indicative of infection with *Marteilia refringens*. Young stages (uninucleated primary cells) are mainly found in the apical part of the epithelium of labial palps, stomach and sometimes in the digestive tubules. Sporulation involves divisions of cells within cells and generally takes place in the digestive gland tubules and ducts. Refringent granules appear during sporulation but are not observed in early stages. The cytoplasm stains basophilic, whereas the nucleus stains eosinophilic. The granules can range from deep orange to deep red; *M. refringens* can sometimes be observed in other organs including gill and mantle connective tissues (Carrasco et al., 2015; Grizel et al., 1974).

Marteilia refringens is slightly different from other *Marteilia* species including *M. sydneyi* or *M. octospora*. Recognition criteria are mainly based on the number of secondary and tertiary cells (respectively 8 and 4 for *M. refringens*). Although *M. christenseni* and *Eomarteilia granula* display the same number of secondary and tertiary cells as *M. refringens*, they infect different host species in different geographic zones.

4.4. Transmission electron microscopy

A small-sized piece of digestive gland (1–2 mm) should be fixed in an appropriate fixative for at least 1 hour and then processed as described in Section B.5.4 *Transmission electron microscopy methods* of Chapter 2.4.0 *General information* (diseases of molluscs).

The presence of parasites within the epithelia of the digestive gland or the stomach may be indicative of infection with *Marteilia refringens*. Different parasite stages can be observed (Grizel et al., 1974; Longshaw et al., 2001). The first stage (= primary cell) is uninucleated but is often observed presenting a single secondary cell within it. Secondary cells result from a series of divisions within the primary cells and include eight presporangia. These presporangia (=secondary cells) divide and contain four-spore primordia (= tertiary cells). Spore primordia cleave internally to produce mature spores. Mature spores consist of three sporoplasms, one inside the other, the outermost one containing haplosporosomes.

4.5. Nucleic acid amplification

Samples to be taken consist of tissues of digestive gland and gills from live or freshly dead molluscs.

PCR assays should always include the controls specified in Section B.5.5 *Molecular methods* of Chapter 2.4.0 *General information* (diseases of molluscs). Molluscs are known to potentially contain substances that can inhibit PCR reactions. It is recommended to check for the presence of PCR inhibitors in DNA extracts to avoid false negative results. In case PCR inhibitors are present, DNA samples can be diluted prior to PCR analyses (a 1/10 dilution resolves most cases of PCR inhibition).

Extraction of nucleic acids

Different kits and procedures can be used for nucleic acid extraction. The quality and concentration of the extracted nucleic acid is important and can be checked using a suitable method as appropriate to the circumstances.

4.5.1. Real-time PCR

Two multiplex real-time PCR assays targeting the ITS (internal transcribed spacer) gene have been developed for the specific detection and discrimination of *M. refringens* type O and type M (Carrasco et al., 2017; EURL, 2023).

Additionally, a multiplex real-time PCR assay targeting the 18S gene allows the concomitant detection of *M. refringens* and *Bonamia* spp. parasites (Canier et al., 2020). However, validation tests showed that this PCR assay is less specific and also amplifies *M. cochillia* and to a lesser extent *M. sydneyi*.

Primers and probes (sequences)

Pathogen/ target gene	Primer/probe (5'–3')	Concentration	Cycling parameters ^(a)
Method 1: Carrasco et al. (2017); GenBank Accession No.: MH304865.1			
<i>M. refringens</i> types O and M	Fwd Mare-F: YCA-GGC-GAG-TGC-TCT-CGT-T Rev Mare-R: TGA-TCT-GAT-ATT-ATT-CAG-CTG-TTC-GA	400 nM 400 nM	50 cycles of: 95°C/3 sec and 60°C/30 sec
ITS	Probe Mare-O: CCT-TTC-CCC-GAC-GGC (VIC MGB-NFQ) Probe MareM: GCT-TGC-CCT-ACG-GCC (FAM MGB-NFQ)	80 nM 80 nM	
Method 2: EURL (2023); GenBank Accession No.: MH304863.1			
<i>M. refringens</i> types O and M	Fwd TaqMar-F: GTG-TTC-GGC-ACG-GGT-AGT Rev TaqMar-R: TGA-TCT-GAT-ATT-ATT-CAG-CTG-TTC-G	100 nM 300 nM	40 cycles of: 95°C/30 sec and 60°C/1 min
ITS	TaqProb-O: GCC-CTT-TCC-CCG-ACG-GCC-G (FAM-BHQ-1)	250 nM	

	TaqProb-M: GCG-CTT-GCC-CTA-CGG-CCG-TGC (HEX-BHQ-1)	250 nM	
Method 3: Canier et al. (2020); GenBank Accession No.: MH342044.1			
<i>M. refringens</i> Also amplifies <i>M. cochillia</i> and <i>M. sydneyi</i> 18S	Fwd Mar_18S_F: ACG-ATC-AAA-GTG-AGC-TCG-TG Rev Mar_18S_R: CAG-TTC-CCT-CAC-CCC-TGA-T Probe Mar_18S_IN: GCA-TGG-AAT-CGT-GGA-ACG-GG (FAM-BHQ-1)	400 nM 400 nM 300 nM	40 cycles of: 95°C/15 sec and 60°C/1 min

^(a)A denaturation step prior to cycling has not been included.

4.5.2. Conventional PCR

PCR primers are available that target the ITS1 (internal transcribed spacer) region (Le Roux et al., 2001), 18S gene (Le Roux et al., 1999) and the IGS (rDNA intergenic spacer) region (López-Flores et al., 2004).

Primer sequences

Pathogen/ target gene	Primer (5'-3')	Concentration	Cycling parameters ^(a)
Method 1: Le Roux et al. (2001); GenBank Accession No.: MH329403.1; amplicon size 412 bp			
<i>M. refringens</i> types M and O Also amplifies <i>M. cochillia</i> ITS-1	Fwd Pr4 (M2A): CCG-CAC-ACG-TTC-TTC-ACT-CC Rev Pr5 (M3AS): CTC-GCG-AGT-TTC-GAC-AGA-CG	1000 nM 1000 nM	30 cycles of: 95°C/1 min and 55°C/1 min and 72°/1 min
Method 2: Lopez-Flores et al. (2004) (nested PCR) ; GenBank Accession No.: MH356753.1; amplicon size [525bp & 358 bp]			
<i>M. refringens</i> types M and O Also amplifies <i>M. cochillia</i> and possibly other species IGS	PCR1 Fwd MT1: GCC-AAA-GAC-ACG-CCT-CTA-C Rev MT2: AGC-CTT-GAT-CAC-ACG-CTTT PCR2 Fwd MT-1B: CGC-CAC-TAC-GAC-CGT-AGC-CT Rev MT-2B: CGA-TCG-AGT-AAG-TGC-ATG-CA	1000 nM 1000 nM 1000 nM 1000 nM	PCR 1 130 cycles of: 95°C/1 min and 55°C/1 min and 72°/1 min PCR2 25 cycles of: 95°C/30 sec and 60°C/30 sec and 72°/30 sec
Method 3: Le Roux et al. (1999); GenBank Accession No.: MH342044.1; amplicon size [266bp or 700 bp]			
<i>Marteilia</i> spp. amplifies <i>M. refringens</i> types M and O, <i>M. cochillia</i> , and possibly other species 18S	Fwd SS2: CCG-GTG-CCA-GGT-ATA-TCT-CG (Rev SAS1: TTC-GGG-TGG-TCT-TGA-AAG-GC) Or Rev SAS2: CGA-ACG-CAA-ATT-GCG-CAG-GG	1000 nM 1000 nM 1000 nM	30 cycles of: 95°C/1 min and 55°C/1 min and 72°/1 min
Note: according to the alignment of available sequences Rev SAS1 primer sequence should be: TTC-GG-TGG-TCT-TGA-AAG-GC			

^(a)A denaturation step prior to cycling has not been included.

4.5.3. Other nucleic acid amplification methods

A loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay for the detection of *M. refringens* has been developed, but is not validated (Xie *et al.*, 2012).

4.6. Amplicon sequencing

The size of the PCR amplicon is verified by agarose gel electrophoresis and purified by excision from this gel for sequence analysis. Obtained sequences are compared with published sequences.

Sequencing is recommended as one of the final steps for confirmatory diagnostic. Targeted regions are the SSU rDNA (except 18S PCR SS2/SAS1), ITS1 and IGS (intergenic spacer). Although sequences are available in the public gene banks, it is recommended to refer such cases to the appropriate WOA Reference Laboratory.

4.7. *In-situ* hybridisation

Le Roux *et al.* (1999) developed an ISH genus-specific method targeting the 18S gene. This method allows the detection of all currently known *Marteilia* species. It has been validated against histology for the detection of *M. refringens* (Thébault *et al.*, 2005).

Two other ISH assays have been developed, one targeting the ITS1 (internal transcribed spacer) region (Le Roux *et al.*, 2001) and the other targeting the IGS (intergenic spacer) region (Lopez-Flores *et al.*, 2008a; 2008b). These assays allow the detection of *M. refringens* type O and type M.

Samples to be taken consist of live or gaping molluscs.

Technical procedure:

Reference	Pathogen/target gene	ISH probe	Probe size
Le Roux <i>et al.</i> (1999)	<i>Marteilia</i> sp. 18S	Digoxigenin-labelled PCR product obtained with SS2/SAS1 primers	266 bp
Le Roux <i>et al.</i> (2001)	<i>M. refringens</i> types M and O ITS1	Digoxigenin-labelled PCR product obtained with Pr4/Pr5 primers	412 bp
Lopez-Flores <i>et al.</i> (2004)	<i>M. refringens</i> types M and O IGS	Digoxigenin-labelled PCR product obtained with MT-1B/MT-2B primers	358 bp

The first steps follow the recommendations described in Section B.5.5.4. of Chapter 2.4.0 *General information* (diseases of molluscs). For hybridisation, sections are incubated with 100 µl of hybridisation buffer (4 × SSC [standard saline citrate], 50% formamide, 1 × Denhardt's solution, 250 µg ml⁻¹ yeast tRNA, 10% dextran sulphate) containing approx. 10 ng (2 to 5 µl µl of digoxigenin-labelled probe prepared by conventional PCR as described above (section 4.5.2; Le Roux *et al.*, 1999; 2001, Lopez-Flores *et al.*, 2004; 2008a; 2008b). Sections are covered with *in-situ* plastic cover-slips and placed on a heating block at 94°C for 5 minutes. Slides are then cooled on ice for 1 to 5 minutes before overnight hybridisation at 42°C in a humid chamber. Sections are washed twice for 5 minutes in 2 × SSC at room temperature, and once for 10 minutes in 0.4 × SSC at 42°C. The detection steps are performed according to the manufacturer's instructions. The slides are then rinsed with appropriate buffer. The sections are counter-stained with Bismarck Brown Yellow, rinsed in tap water, immersed in 95% and then 100% ethanol, 30 seconds for each, rinsed in Xylene (10–30 seconds), and cover-slips are applied using an appropriate mounting medium.

Positive/negative controls: inclusion of the following controls is compulsory. 1) Infected host positive control; 2) non-specific ISH (18S) on samples as an internal positive control. 3) No probe ISH negative control; 4) Uninfected host negative control. Positive controls are available on request from the WOA Reference Laboratory.

4.8. Immunohistochemistry

Not available.

4.9. Bioassay

Not available.

4.10. Antibody- or antigen-based detection methods (ELISA, etc.)

Not currently available or used for diagnostic purposes but monoclonal antibodies have been developed (Berthe et al., 2004). These antibodies did not cross-react with *M. sydneyi*.

4.11. Other methods

None available.

5. Test(s) recommended for surveillance to demonstrate freedom in apparently healthy populations

Real-time PCR is recommended for targeted surveillance to declare freedom from infection with *M. refringens*.

6. Corroborative diagnostic criteria

This section only addresses the diagnostic test results for detection of infection in the absence (Section 6.1.) or in the presence of clinical signs (Section 6.2.) but does not evaluate whether the infectious agent is the cause of the clinical event.

The case definitions for a suspect and confirmed case have been developed to support decision making related to trade and confirmation of disease status at the country, zone or compartment level. Case definitions for disease confirmation in endemically affected areas may be less stringent. If a Competent Authority does not have the capability to undertake the necessary diagnostic tests it should seek advice from the appropriate WOAHP Reference Laboratory, and if necessary, refer samples to that laboratory for confirmatory testing of samples from the index case in a country, zone or compartment considered free.

6.1. Apparently healthy animals or animals of unknown health status¹¹

Apparently healthy populations may fall under suspicion, and therefore be sampled, if there is an epidemiological link to an infected population. Hydrographical proximity to, or movement of animals or animal products or equipment, etc., from a known infected population, equate to an epidemiological link. Alternatively, healthy populations are sampled in surveys to demonstrate disease freedom.

6.1.1. Definition of suspect case in apparently healthy animals

The presence of infection with *M. refringens* shall be suspected if at least one of the following criteria is met:

- i) Positive result by a recommended molecular detection test
- ii) Visual observation of the pathogen by microscopy

6.1.2. Definition of confirmed case in apparently healthy animals

¹¹ For example transboundary commodities.

The presence of infection with *M. refringens* is considered to be confirmed if the following criterion is met:

- i) positive result by real-time PCR and conventional PCR followed by sequence analysis

6.2 Clinically affected animals

Clinical signs are not pathognomonic for a single disease; however they may narrow the range of possible diagnoses.

6.2.1. Definition of suspect case in clinically affected animals

The presence of infection with *M. refringens* shall be suspected if at least one of the following criteria is met:

- i) Positive result by wet mounts
- ii) Positive result by tissue imprints
- iii) Positive result by histopathology
- iv) Positive result by real-time PCR
- v) Positive result by conventional PCR

6.2.2. Definition of confirmed case in clinically affected animals

The presence of infection with *M. refringens* is considered to be confirmed if at least one of the following criteria is met:

- i) positive result by real-time-PCR and conventional PCR followed by sequence analysis
- ii) positive result by species-specific ISH and conventional PCR followed by sequence analysis
- iii) Positive result of real-time PCR followed by species-specific ISH

6.3. Diagnostic sensitivity and specificity for diagnostic tests

The diagnostic performance of tests recommended for surveillance or diagnosis of infection with *M. refringens* are provided in Tables 6.3.1. (no data are currently available) and 6.3.2. This information can be used for the design of surveys for infection with *M. refringens*, however, it should be noted that diagnostic performance is specific to the circumstances of each diagnostic accuracy study (including the test purpose, source population, tissue sample types and host species) and diagnostic performance may vary under different conditions. Data are only presented where tests are validated to at least level 2 of the validation pathway described in Chapter 1.1.2. and the information is available within published diagnostic accuracy studies.

6.3.1. For presumptive diagnosis of clinically affected animals [under study]

Test type	Test purpose	Source populations	Tissue or sample types	Species	DSe (n)	DSp (n)	Reference test	Citation

DSe = diagnostic sensitivity, DSp = diagnostic specificity, n = number of samples used in the study.

6.3.2. For surveillance of apparently healthy animals

Test type	Test purpose	Source populations	Tissue or sample types	Species	DSe (n)	DSp (n)	Reference test	Citation
Histology	Surveillance	Field samples from France and The Netherlands, representative of	Section of tissues including visceral mass	Flat oysters	70% (200)	99% (200)	<i>In-situ</i> hybridisation (18S probe) Bayesian	Thébault et al., 2005

Test type	Test purpose	Source populations	Tissue or sample types	Species	DSe (n)	DSp (n)	Reference test	Citation
		3 different levels of prevalence (free, mild, high)					analyses	
<i>In-situ</i> hybridisation (18S probe)	Surveillance	Field samples from France and The Netherlands, representative of 3 different levels of prevalence (free, mild, high)	Section of tissues including visceral mass	Flat oysters	90% (200)	99% (200)	Histology Bayesian analyses	Thébault et al., 2005
Real-time PCR (Canier et al., 2020)	Surveillance	Field samples from the 3 main producing areas in France, representative of 3 different levels of prevalence (free, low, high)	Gills and digestive gland tissues	Flat oysters	87,2% (386)	98,4% (386)	Conventional PCR (Le Roux et al., 2001) Bayesian analyses	Canier et al., 2020
Conventional PCR (Le Roux et al., 2001)	Surveillance	Field samples from the 3 main producing areas in France, representative of 3 different levels of prevalence (free, low, high)	Gills and digestive gland tissues	Flat oysters	60.7% (386)	99.9% (386)	Real-time PCR (Canier et al., 2020) Bayesian analyses	Canier et al., 2020

DSe = diagnostic sensitivity, DSp = diagnostic specificity, *n* = number of samples used in the study, PCR = polymerase chain reaction.

7. References

- ALDERMAN D.J. (1979). Epizootiology of *Marteilia refringens* in Europe. *Mar. Fishery Rev.*, **41**, 67–69.
- ARZUL I., CHOLLET B., BOYER S., BONNET D., GAILLARD J., BALDI Y., ROBERT M., JOLY J.-P., GARCIA C. & BOUCHOUCHA M. (2014). Contribution to the understanding of the cycle of the protozoan parasite *Marteilia refringens*. *Parasitology*, **141**, 227–240.
- AUDEMARD C., BARNAUD A., COLLINS C.M., LE ROUX F., SAURIAU P.-G., COUSTAU C., BLACHIER P. & BERTHE F.C.J. (2001). Claire ponds as an experimental model for *Marteilia refringens* life-cycle studies: new perspectives. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **257**, 87–108.
- AUDEMARD C., LE ROUX F., BARNAUD A., COLLINS C., SAUTOUR B., SAURIAU P.-G., DE MONTAUDOUIN X., COUSTAU C., COMBES C. & BERTHE F.C.J. (2002). Needle in a haystack: involvement of the copepod *Paracartia grani* in the life cycle of the oyster pathogen *Marteilia refringens*. *Parasitology*, **124**, 315–323.
- BERTHE F.C.J., LE ROUX F., PEYRETAILLADE E., PEYRET P., RODRIGUEZ D., GOUY M. & VIVARÈS C.P. (2000). The existence of the phylum Paramyxia Desportes and Perkins, 1990 is validated by the phylogenetic analysis of the *Marteilia refringens* small subunit ribosomal RNA. *J. Euk. Microbiol.*, **47**, 288–293.
- BERTHE F.C.J., ROUX F., ADLARD R.D. & FIGUERAS A. (2004). Martelliosis in molluscs: A review. *Aquat. Living Resour.*, **17**, 433–448.

-
- BOYER S., CHOLLET B., BONNET D., ARZUL I. (2013). New evidence for the involvement of *Paracartia grani* (Copepoda, Calanoida) in the life cycle of *Marteilia refringens* (Paramyxea). *Int. J. Parasitol.*, **43**, 1089–1099.
- CANIER L., DUBREUIL C., NOYER M., SERPIN D., CHOLLET B., GARCIA C. & ARZUL I. (2020). A new multiplex real-time PCR assay to improve the diagnosis of shellfish regulated parasites of the genus *Marteilia* and *Bonamia*. *Prev. Vet. Med.*, **183**, 105126.
- CARRASCO N., ARZUL I., BERTHE F.C.J. & FURONES M.D. (2008a). *In situ* hybridization detection of initial infective stages of *Marteilia refringens* (Paramyxea) in its host *Mytilus galloprovincialis*. *J. Fish Dis.* **31**, 153–157.
- CARRASCO N., ARZUL I., CHOLLET B., ROBERT M., JOLY J.-P., FURONES M.D. & BERTHE F. (2008b). Comparative experimental infection of the copepod *Paracartia grani* with *Marteilia refringens* and *M. maurini*. *J. Fish Dis.* **31**, 497–504.
- CARRASCO N., GREEN T., ITOH N. (2015). *Marteilia* spp. parasites in bivalves: A revision of recent studies. *J. Invertebr. Pathol.*, **131**, 43–57.
- CARRASCO N., LOPEZ-FLORES I., ALCARAZ M., FURONES M.D., BERTHE F.C.J. & ARZUL I. (2007) Dynamics of the parasite *Marteilia refringens* (Paramyxea) in *Mytilus galloprovincialis* and zooplankton populations in Alfacs Bay (Catalonia, Spain). *Parasitology*, **134**, 1541–1550.
- CARRASCO N., VOORBERGEN-LAARMAN M., LACUESTA B., FURONES D. & ENGELSMA M.Y. (2017). Application of a competitive real time PCR for detection of *Marteilia refringens* genotype “O” and “M” in two geographical locations: The Ebro Delta, Spain and the Rhine-Meuse Delta, the Netherlands. *J. Invertebr. Pathol.*, **149**, 51–55.
- CAVALIER-SMITH T. & CHAO E.E. (2003). [Phylogeny and classification of phylum Cercozoa \(Protozoa\)](#). *Protist.*, **154**, 341–358.
- EUROPEAN UNION REFERENCE LABORATORY (EURL) for mollusc diseases (2023). SOP *Marteilia refringens* detection and typing by real-time polymerase chain reaction (PCR) (3rd edition, March 2023), <https://www.eurl-mollusc.eu/>
- FEIST S.W., HINE P.M., BATEMAN K.S., STENTIFORD G.E. & LONGSHAW M. (2009). *Paramarteilia canceri* sp. n. (Cercozoa) in the European edible crab (*Cancer pagarus*) with a proposal for the revision of the order Paramyxida Chatton, 1911. *Folia Parasitologica*, **56**, 73–85.
- GRIZEL H. (1985). Etude des récentes épizooties de l'huître plate (*Ostrea edulis* Linné) et leur impact sur l'ostréiculture bretonne. Thèse Doctorat es Sciences, Université des Sciences et Techniques du Languedoc, Montpellier, France, 145 p.
- GRIZEL H., COMPS M., BONAMI J.R., COUSSERANS F., DUTHOIT J.L., & LE PENNEC M.A. (1974). Recherche sur l'agent de la maladie de la glande digestive de *Ostrea edulis* Linne. *Sci. Pêche. Bull. Inst. Pêches marit.*, **240**, 7–29.
- KERR R., WARD G., STENTIFORD G., ALFJORDEN A., MORTENSEN S., BIGNELL J., FEIST S.W., VILLALBA A., CARBALLAL M.J., CAO A., ARZUL I., RYDER D. & BASS D. (2018). *Marteilia refringens* and *Marteilia pararefringens* sp. nov. are distinct parasites of bivalves and have different European distributions. *Parasitology*, **145**, 1483–1492.
- LE ROUX F., LORENZO G., PEYRET P., AUDEMARD C., FIGUERAS A., VIVARÈS C., GOUY M. & BERTHE F.C.J. (2001). Molecular evidence for the existence of two species of *Marteilia* in Europe. *J. Euk. Microbiol.*, **48**, 449–454.
- LE ROUX F., AUDEMARD C., BARNAUD A. & BERTHE F.C.J. (1999). DNA probes as potential tools for the detection of *Marteilia refringens*. *Mar. Biotechnol.*, **1**, 588–597.
- LONGSHAW M., FEIST S.W., MATTHEWS A. & FIGUERAS A. (2001) Ultrastructural characterisation of *Marteilia* species (Paramyxea) from *Ostrea edulis*, *Mytilus edulis* and *Mytilus galloprovincialis*. *Dis. Aquat. Org.*, **44**, 137–142.
- LOPEZ-FLORES I., DE LA HERRAN R., GARRIDO-RAMOS, M.A., NAVAS J.I., RUIZ-REJON C., RUIZ-REJON M. (2004). The molecular diagnosis of *Marteilia refringens* and differentiation between *Marteilia* strains infecting oysters and mussels based on the rDNA IGS sequence. *Parasitology*, **129**, 411–419

LOPEZ-FLORES I., GARRIDO-RAMOS M.A., DE LA HERRAN R., RUIZ-REJÓN C., RUIZ-REJÓN M. & NAVAS J.I. (2008a). Identification of *Marteilia refringens* infecting the razor clam *Solen marginatus* by PCR and *in situ* hybridization. *Mol. Cell Probes*, **22**, 151–155.

LOPEZ-FLORES I., ROBLES F., VALENCIA J.M., GRAU A., VILLALBA A., DE LA HERRÁN R., GARRIDO-RAMOS M.A., RUIZ-REJÓN C., RUIZ-REJÓN M. & NAVAS J.I. (2008b). Detection of *Marteilia refringens* using nested PCR and *in situ* hybridisation in *Chamelea gallina* from the Balearic Islands (Spain). *Dis. Aquat. Org.*, **82**, 79–87.

MEROU N., LECADET C., BILLON T., CHOLLET B., POUVREAU S. & ARZUL I. (2022). Investigating the environmental survival of *Marteilia refringens*, a marine protozoan parasite of the flat oyster *Ostrea edulis*, through an environmental DNA and microscopy-based approach. *Front. Mar. Sci.* **9**. doi: 10.3389/fmars.2022.811284

MEROU N., LECADET C., UBERTINI M., POUVREAU S. & ARZUL I. (2023). Environmental distribution and seasonal dynamics of *Marteilia refringens* and *Bonamia ostreae*, two protozoan parasites of the European flat oyster, *Ostrea edulis*. *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, **13**, 1154484. doi: 10.3389/fcimb.2023.1154484.

THÉBAULT A., BAUD J.P., LE SAUX J.C., LE ROUX F., CHOLLET B., LE COGUIC M.J., FLEURY P.G., BERTHE F. & GÉRARD A. (1999). Compte rendu sur les mortalité de juillet 1999 des moules (*Mytilus edulis*) en poches dans l'Aber Benoît. Rapport IFREMER. 12 p.

THEBAULT A., BERGMANN S., POUILLON S., LE ROUX F. & BERTHE F.C.J. (2005). Validation of *in situ* hybridization and histology assays for the detection of the oyster parasite *Marteilia refringens*. *Dis. Aquat. Org.*, **65**, 9–16.

VILLALBA A., MOURELLE S.G., CARBALLAL M.J. & LOPEZ M.C. (1993a). Effects of infection by the protistan parasite *Marteilia refringens* on the reproduction of cultured mussels *Mytilus galloprovincialis* in Galicia (NW Spain). *Dis. Aquat. Org.*, **17**, 205–213.

VILLALBA A., MOURELLE S.G., LOPEZ M.C., CARBALLAL M.J. & AZEVEDO C. (1993b). Marteiliasis affecting cultured mussels *Mytilus galloprovincialis* of Galicia (NW. Spain). I. Etiology, phases of the infection, and temporal and spatial variability in prevalence. *Dis. Aquat. Org.*, **16**, 61–72.

XIE L., XIE Z., PANG Y., DENG X., XIE Z. & LIU J. (2012). Development of a loop-mediated isothermal amplification assay for visual detection of *Marteilia refringens* in shellfish. *Chinese J. Vet. Sci.*, **32**, 993–996.

*
* *

NB: There is a WOA Reference Laboratory for infection with *Marteilia refringens*
(please consult the WOA web site:

<https://www.woah.org/en/what-we-offer/expertise-network/reference-laboratories/#ui-id-3>).

Please contact WOA Reference Laboratories for any further information on infection with *Marteilia refringens*

NB: FIRST ADOPTED IN 1995 AS MARTEILIOSIS. MOST RECENT UPDATES ADOPTED IN 2012.

CHAPTER 2.4.5.

INFECTION WITH *PERKINSUS MARINUS*

[...]

2.2. Host factors

2.2.1. Susceptible host species

~~Eastern oyster, *Crassostrea virginica*; Pacific oyster, *C. gigas*; suminoe oyster, *C. ariakensis*; mangrove oyster, *C. rhizophorae*; Cortez oyster, *C. corteziensis* (Andrews 1996; Calvo *et al.*, 1999; Calvo *et al.*, 2001; Villalba *et al.*, 2004; Cáceres-Martínez *et al.*, 2008); softshell clam, *Mya arenaria*; Baltic macoma, *Macoma balthica* (Dungan *et al.*, 2007).~~

Species that fulfil the criteria for listing as susceptible to infection with *Perkinsus marinus* according to Chapter 1.5. of the Aquatic Animal Health Code (Aquatic Code) are: American cupped oyster (*Crassostrea virginica*), Ariake cupped oyster (*Magallana* [Syn. *Crassostrea*] *ariakensis*), Cortez oyster (*Crassostrea corteziensis*) and palmate oyster (*Saccostrea palmula*).

2.2.2. ~~Susceptible stages of the host~~ Species with incomplete evidence for susceptibility

~~All stages after settlement are susceptible.~~

Species for which there is incomplete evidence to fulfil the criteria for listing as susceptible to infection with *P. marinus* according to Chapter 1.5. of the Aquatic Code are: Gasar cupped oyster (*Crassostrea tulipa*), mangrove cupped oyster (*Crassostrea rhizophorae*), and Pacific cupped oyster (*Magallana* [Syn. *Crassostrea*] *gigas*).

In addition, pathogen-specific positive polymerase chain reaction (PCR) results have been reported in the following species, but no active infection has been demonstrated: Columbia black oyster (*Crassostrea columbiensis*), soft shell clam (*Mya arenaria*), and stone oyster (*Striostrea prismatica*).

[...]
