



Organisation  
Mondiale  
de la Santé  
Animale

World  
Organisation  
for Animal  
Health

Organización  
Mundial  
de Sanidad  
Animal

Original : anglais

Septembre / octobre 2013

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

Paris (France), 30 septembre - 4 octobre 2013

La Commission des normes sanitaires pour les animaux aquatiques (ci-après dénommée « Commission des animaux aquatiques ») s'est réunie au siège de l'OIE du 30 septembre au 4 octobre 2013.

La liste des participants et l'ordre du jour adopté figurent respectivement aux [annexes 1 et 2](#).

La Commission des animaux aquatiques a examiné les documents répertoriés à l'ordre du jour en tenant compte des commentaires qu'elle avait reçus des Pays Membres à la date du 30 août 2013, et a amendé, chaque fois que nécessaire, les textes du *Code sanitaire pour les animaux aquatiques* de l'OIE (ci-après dénommé « *Code aquatique* ») et du *Manuel des tests de diagnostic pour les animaux aquatiques* de l'OIE (ci-après dénommé « *Manuel aquatique* »). Les amendements apportés sont indiqués de la manière habituelle, c'est-à-dire par un double soulignement pour les textes ajoutés et par des caractères barrés pour les textes supprimés. Ils figurent dans les annexes jointes au présent rapport.

Les Pays Membres doivent prendre acte du fait que, sauf indication contraire, les textes soumis aux Membres dans le but de recueillir leurs commentaires pourront être proposés pour adoption lors de la 82<sup>e</sup> Session générale de l'OIE en mai 2014. En fonction des commentaires reçus sur chaque texte, la Commission dressera la liste des textes proposés pour adoption en mai 2014 dans le rapport de sa réunion de février 2014.

La Commission encourage vivement les Pays Membres à participer à l'élaboration des normes internationales de l'OIE en lui soumettant des commentaires sur le présent rapport. Les Membres sont invités à présenter leurs commentaires sous forme de propositions de modifications rédactionnelles, dûment étayées par des arguments scientifiques. Les suppressions proposées doivent être signalées par des caractères barrés et les ajouts proposés indiqués par un double soulignement. Les Pays Membres ne doivent pas recourir à la fonction de « suivi des modifications » de leur logiciel de traitement de texte, car les marques de correction disparaissent au moment où les propositions des Membres sont intégrées dans les documents de travail de la Commission.

Le tableau ci-après fournit un récapitulatif des textes présentés dans les annexes. Les [annexes 3 à 12](#) sont soumises aux Pays Membres dans le but de recueillir leurs commentaires ; l'[annexe 13](#) est présentée pour information.

Les Pays Membres sont invités à adresser leurs commentaires au siège de l'OIE **avant le 24 janvier 2014** afin que la Commission puisse les examiner lors de sa réunion de février 2014. Les commentaires devront être adressés par courrier électronique au Service du commerce international, à l'adresse suivante : [trade.dept@oie.int](mailto:trade.dept@oie.int).

<b>Textes présentés aux Pays Membres afin de recueillir leurs commentaires</b>	<b>Numéro d'annexe</b>
<b>Code aquatique :</b>	
Glossaire	Annexe 3
Notification des maladies et des informations épidémiologiques (chapitre 1.1.)	Annexe 4
Critères d'inscription des maladies des animaux aquatiques sur la liste de l'OIE (chapitre 1.2.)	Annexe 5
Hépatopancréatite nécrosante (chapitre 9.4.)	Annexe 6
Infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon (chapitre 10.5.)	Annexe 7
Articles types présentant les amendements horizontaux	Annexe 8
Critères permettant de déterminer la sensibilité des animaux aquatiques à un agent pathogène donné (nouveau chapitre X.X.)	Annexe 9
Infection par l'alphavirus des salmonidés (nouveau chapitre 10.X.)	Annexe 10
<b>Manuel aquatique :</b>	
Infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon (chapitre 2.3.5.)	Annexe 11
Infection due à un microvariant de l'herpèsvirus de l'huître de type 1 (chapitre 2.4.9.)	Annexe 12
<b>Annexes présentées aux Pays Membres pour information</b>	
Plan de travail de la Commission des animaux aquatiques pour la période 2012/2014	Annexe 13

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

La Commission des animaux aquatiques a souhaité souligner que la question des maladies émergentes est importante compte tenu de l'apparition fréquente dans l'aquaculture de nouvelles maladies, dont certaines ont des répercussions significatives sur la productivité, la pérennité des ressources et les échanges. De nouvelles maladies font régulièrement leur apparition chez les animaux aquatiques en raison des espèces récemment domestiquées, du grand nombre d'espèces d'élevage et de la croissance rapide de la production de l'aquaculture.

Au cours de cette réunion, la Commission des animaux aquatiques a évoqué plusieurs questions liées aux maladies émergentes et à la façon dont le *Code aquatique* les aborde, notamment la définition d'une maladie émergente (Glossaire), les dispositifs de notification des maladies émergentes (chapitre 1.1.) et le mécanisme d'inscription des maladies émergentes (chapitre 1.2.). L'ensemble de ces sections du *Code aquatique* aide les Pays Membres à reconnaître les maladies émergentes importantes et à prévenir leur propagation tout en préservant la sécurité sanitaire des échanges.

Les points 1.1., 1.2. et 1.3. du présent rapport (correspondant respectivement au Glossaire, et aux chapitres 1.1. et 1.2.) sont concernés. La Commission des animaux aquatiques invite les Pays Membres à formuler leurs commentaires en prenant en considération la corrélation qui existe entre ces éléments.

### 1.1. Glossaire

#### *Vétérinaire*

Compte tenu de la modification de la définition de « vétérinaire » récemment adoptée dans le *Code terrestre*, la Commission des animaux aquatiques a convenu d'amender la définition dans le *Code aquatique* dans un souci d'harmonisation avec la définition du *Code terrestre*.

### *Maladie émergente*

La Commission des animaux aquatiques a examiné la proposition de révision de la définition de « maladie émergente » élaborée par la Commission du Code terrestre, qui visait principalement à la rendre plus claire.

La Commission des animaux aquatiques a relevé deux situations favorisant l'apparition de maladies : les nouveaux agents pathogènes ou une mutation épidémiologique d'agents pathogènes connus, ce que reflète la définition modifiée.

Dans l'aquaculture, l'apparition de maladies provoquées par des agents pathogènes inconnus est fréquente. C'est pourquoi la définition dans le contexte aquatique nécessite d'inclure le cas où un agent infectieux est intimement lié à la maladie même si l'étiologie n'est pas prouvée. La Commission des animaux aquatiques a noté que cette notion est à l'heure actuelle intégrée dans les critères servant à l'inscription d'une maladie émergente (chapitre 1.2.). Dans cette optique, la Commission a remodifié la définition comme suit :

désigne une ~~infection nouvellement reconnue résultant de l'évolution~~ maladie, avec des répercussions significatives sur la santé animale ou humaine, résultant de :

- la modification d'un ~~agent pathogène existant~~ connu ~~une infection connue se propageant à ou de sa propagation~~ à une nouvelle aire géographique ou à une nouvelle ~~population~~ espèce, ou
- ~~la présence d'un agent nouvellement reconnu ou suspecté d'être pathogène non identifié précédemment ou encore une maladie dont le diagnostic est posé pour la première fois et ayant des répercussions significatives sur la santé des animaux aquatiques ou sur la santé publique.~~

La Commission des animaux aquatiques a précisé que la définition précitée exclut les maladies listées dans le *Code aquatique*.

La Commission des animaux aquatiques a souhaité informer les Pays Membres que les commentaires reçus au sujet de cette définition modifiée seront soumis à l'examen de la Commission du Code terrestre lors de sa prochaine réunion (11 - 18 février 2014) afin de garantir l'harmonisation des définitions utilisées dans les deux *Codes* le cas échéant. La Commission des animaux aquatiques examinera ensuite les commentaires des Pays Membres ainsi que la proposition de la Commission du Code terrestre lors de sa prochaine réunion.

D'autres éléments sur le sujet sont présentés aux points 1.2. et 1.3. (qui correspondent aux chapitres 1.1. et 1.2.). La Commission des animaux aquatiques invite les Pays Membres à formuler leurs commentaires en prenant en considération la corrélation qui existe entre ces points.

### *Espèce sensible*

Considérant que la seconde phrase de la définition actuelle d'« espèce sensible » ne contribue pas à définir ce terme, la Commission des animaux aquatiques a proposé de supprimer cette phrase. De plus, la Commission a suggéré de modifier la première phrase pour la rendre plus claire.

désigne une espèce d'*animal aquatique* chez laquelle la présence d'une *infection* a été démontrée par la survenue de cas spontanés ou par une exposition expérimentale à un *agent pathogène* simulant la voie naturelle d'*infection*. ~~Chaque chapitre du Code aquatique et du Manuel aquatique traitant d'une maladie contient la liste des espèces sensibles connues à ce jour.~~

Le Glossaire révisé est présenté à l'annexe 3 dans le but de recueillir les commentaires des Pays Membres.

### **1.2. Notification de maladies et d'informations épidémiologiques (chapitre 1.1.)**

La Commission des animaux aquatiques a examiné les amendements à ce chapitre proposés par la Commission du Code terrestre, qui visent principalement à gagner en clarté. La Commission des animaux aquatiques a intégré les modifications suggérées par la Commission du Code dans le chapitre révisé, à l'exception de celle du point e) de l'article 1.1.3. En ce qui concerne ce point, la Commission du Code a proposé l'utilisation du terme « espèce hôte inhabituelle ». Toutefois, considérant le terme « inhabituelle » comme ambigu et estimant que ces espèces sont importantes pour les échanges et doivent être décrites, la Commission des animaux aquatiques a suggéré de lui préférer le terme « nouvelle espèce hôte ».

La Commission des animaux aquatiques a souhaité mettre l'accent sur certaines modifications significatives concernant les maladies émergentes, notamment :

- (i) la suppression du point f) de l'article 1.1.3. (« ~~L'apparition d'une maladie émergente associée à une morbidité ou à une mortalité significatives, ou ayant un potentiel zoonotique ;~~ ») qui précise que la définition d'une maladie émergente exclut les maladies de la liste de l'OIE ;
- (ii) l'élaboration d'un nouvel article 1.1.3.bis qui sépare clairement les différentes obligations de notification d'une maladie émergente, à savoir l'obligation de notifier toute maladie émergente ainsi que les circonstances dans lesquelles la déclaration doit être effectuée.

La Commission des animaux aquatiques a fait observer que les informations sur les maladies émergentes sont actuellement fournies aux Pays Membres par le système d'alertes de l'OIE en matière d'informations sanitaires. La Commission craint que ce mécanisme n'accorde trop d'importance à l'impact ou à l'importance de certains événements liés à des maladies émergentes, ce qui pourrait dissuader de les déclarer. La Commission a convenu de soulever cette question avec le Directeur général de l'OIE.

D'autres éléments sur le sujet sont présentés aux points 1.1. et 1.3. (qui correspondent au Glossaire et au chapitre 1.2). La Commission invite les Pays Membres à formuler leurs commentaires en prenant en considération la corrélation qui existe entre ces points.

Le chapitre 1.1. révisé est présenté à l'annexe 4 dans le but de recueillir les commentaires des Pays Membres.

### **1.3. Critères d'inscription d'une maladie émergente (chapitre 1.2.)**

La Commission des animaux aquatiques a examiné l'importance de reconnaître les maladies émergentes à un stade précoce et de transmettre toute information relative à ces événements aux Pays Membres. La Commission a notamment examiné certains exemples récents tels que le syndrome de nécrose hépatopancréatique aiguë (AHPNS) ou l'infection due à un microvariant de l'herpèsvirus de l'huître de type 1 (OsHv-1).

Malgré les obligations actuelles de notification et de déclaration des maladies émergentes décrites au point 1 f) de l'article 1.1.3., des anomalies existent en la matière. La Commission des animaux aquatiques considère que la définition révisée d'une maladie émergente et le chapitre 1.1. révisé, incluant l'article 1.1.3.bis, ont permis de clarifier les obligations de notification et de déclaration des maladies émergentes.

La Commission des animaux aquatiques a réexaminé l'utilité du mécanisme d'inscription des maladies émergentes (qui utilise les critères décrits à l'article 1.2.3.). La Commission considère que ce mécanisme n'est pas suffisamment souple pour communiquer efficacement en cas de survenue d'une maladie émergente. Cet article présente un mécanisme complémentaire qui fait obligation aux Pays Membres de déclarer certaines maladies émergentes listées. Cependant, ce mécanisme établit une obligation de déclaration uniquement pour un petit nombre de maladies émergentes de la liste de l'OIE.

La Commission des animaux aquatiques a également fait remarquer que la définition modifiée d'une maladie émergente reflète désormais l'ensemble des critères figurant à l'article 1.2.3.

Considérant que les exigences en matière de notification et de déclaration des maladies émergentes ainsi que la définition d'une maladie émergente sont désormais plus claires, et au vu de la lenteur du mécanisme d'inscription des maladies émergentes, la Commission des animaux aquatiques a proposé de supprimer l'article 1.2.3.

D'autres éléments sur le sujet sont présentés aux points 1.1. et 1.2. (qui correspondent au Glossaire et au chapitre 1.1.). La Commission des animaux aquatiques invite les Pays Membres à formuler leurs commentaires en prenant en considération la corrélation qui existe entre ces points.

Le chapitre 1.2. révisé est présenté à l'annexe 5 dans le but de recueillir les commentaires des Pays Membres.

#### **1.4. Maladies de la Liste de l'OIE (chapitre 1.3.)**

##### **Syndrome de nécrose hépatopancréatique aiguë**

Dans la continuité des débats antérieurs tenus par la Commission des animaux aquatiques lors de sa réunion de mars 2013 sur le syndrome de nécrose hépatopancréatique aiguë, la Commission a réexaminé les informations actuelles sur ce syndrome.

La Commission des animaux aquatiques a estimé que les informations disponibles sont peut-être trop fragmentées pour envisager l'inscription de la maladie sur la Liste au regard des critères de l'article 1.2.2. L'incertitude afférente à l'identité de l'agent pathogène (parmi les souches de *Vibrio parahaemolyticus*) et l'absence d'un test de diagnostic spécifique (pour différencier l'agent causal des autres souches de *V. parahaemolyticus*) en particulier impliquent qu'il est peu probable que les critères d'inscription sur la Liste soient remplis. Compte tenu de la proposition de supprimer l'article 1.2.3. pour l'inscription des maladies émergentes sur la Liste, la Commission des animaux aquatiques pense qu'il n'est pas opportun d'inscrire le syndrome de nécrose hépatopancréatique aiguë comme maladie émergente.

Néanmoins, la Commission des animaux aquatiques a convenu que la maladie répond à la définition d'une maladie émergente et que les Pays Membres doivent notifier la survenue de cette maladie conformément à l'article 1.1.3.

La Commission a rédigé une fiche d'information technique sur le syndrome de nécrose hépatopancréatique aiguë à laquelle des experts ont apporté leur contribution. Cette fiche d'information sera mise en ligne sur le site web de l'OIE et revue régulièrement au fil de l'évolution des connaissances.

La Commission invite les Pays Membres à transmettre toute information pertinente susceptible de contribuer à l'amélioration de la fiche d'information précitée et en particulier des données sur la façon de diagnostiquer la maladie.

#### **1.5. Maîtrise des dangers associés aux aliments destinés aux animaux aquatiques (chapitre 6.1.)**

La Commission des animaux aquatiques a examiné la façon de réviser l'objectif, le champ d'application et le contenu du chapitre 6.1. La Commission a reconnu que l'objectif principal de ce chapitre consistait à prévenir la propagation de maladies infectieuses causées par des aliments destinés aux animaux aquatiques. La Commission a également convenu que ce chapitre devait aider les Pays Membres à repérer les mécanismes de concrétisation d'un risque et à évaluer les risques sanitaires encourus par les animaux aquatiques du fait des aliments qui leur sont destinés.

La Commission va revoir le chapitre, qui sera examiné lors de sa réunion de février 2014. La Commission invite les Pays Membres à formuler leurs commentaires sur cette proposition.

#### **1.6. Hépatopancréatite nécrosante (chapitre 9.4.)**

Compte tenu des résultats du Comité international de taxonomie des bactéries au sujet du nouveau nom de la bactérie responsable de l'hépatopancréatite nécrosante (NHP-B), devenue *Candidatus Hepatobacter penaei*, la Commission des animaux aquatiques a suggéré d'amender l'article 9.4.1. pour intégrer cette modification.

Le chapitre 9.4. révisé est présenté à l'annexe 6 dans le but de recueillir les commentaires des Pays Membres.

#### **1.7. Infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon (chapitre 10.5.)**

En réponse au commentaire d'un Pays Membre lors de la Session générale de l'OIE en mai 2013, qui demandait la clarification du texte du point 1 de l'article 10.5.5. concernant l'absence d'espèces sensibles et la déclaration par un pays de l'absence du variant délété dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon, la Commission des animaux aquatiques a proposé de supprimer ce point et le point équivalent à l'article 10.5.7. (zone ou compartiment), considérant qu'ils étaient redondants et que les processus de déclaration d'absence de maladie étaient respectivement couverts aux articles 10.5.4. et 10.5.6.

En examinant ce chapitre, la Commission des animaux aquatiques a également réalisé qu'il manquait un article spécifique sur l'« Importation de produits issus d'animaux aquatiques à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment déclaré(e) indemne d'infection par les variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon ». La Commission a introduit un nouvel article 10.5.15. bis pour prendre en considération cette situation.

La Commission des animaux aquatiques a tenu à faire remarquer que les amendements horizontaux proposés au point 1.8. ont également été intégrés à ce chapitre modifié.

Le chapitre 10.5. révisé est présenté à l'annexe 7 dans le but de recueillir les commentaires des Pays Membres.

### 1.8. Questions horizontales

La Commission des animaux aquatiques a signalé un certain nombre d'incohérences en ce qui concerne l'intégration de texte pertinent dans certains chapitres portant sur des maladies spécifiques et a proposé d'y inclure les modifications suivantes.

#### **Modifier tous les chapitres portant sur des maladies spécifiques comme suit :**

##### Point 2 des articles 10.X.9. et 10.X.10., comme indiqué ci-dessous :

Les amendements proposés ont été adoptés au chapitre 10.2. lors de la Session générale de l'OIE en mai 2013, ce qui a permis d'harmoniser l'ensemble des chapitres.

##### Article 10.X.9.

- 2) le traitement de l'eau utilisée pour le transport, et celui des effluents et des déchets résultant des opérations de transformation de manière à assurer l'inactivation de « Maladie X » ou leur élimination de manière à prévenir tout contact avec les *espèces sensibles*.

##### Article 10.X.10.

- 2) le traitement de l'eau utilisée pour le transport, et celui de tous les effluents et de tous les déchets résultant des opérations de transformation de manière à assurer l'inactivation de « Maladie X ». Le présent article ne s'applique pas aux *marchandises* énumérées au point 1 de l'article 10.X.3.

##### Point 3 des articles 10.X.4. et 10.X.5., comme indiqué ci-dessous :

- 3) Un pays dans lequel ~~la manifestation de la maladie a été observée au cours des dix dernières années, ou dont~~ le statut sanitaire au regard de ~~l'infection~~ la maladie était inconnu avant la mise en place d'une surveillance ciblée et ce, en dépit de l'existence de conditions propices à son expression clinique, ~~comme indiqué au chapitre correspondant du Manuel aquatique,~~ peut déposer une *auto-déclaration d'absence* de « Maladie X », sous réserve :
- que les *conditions élémentaires de sécurité biologique* soient réunies sans discontinuer depuis au moins deux ans, et
  - qu'une *surveillance ciblée*, telle que celle définie au chapitre 1.4., soit en place depuis au moins deux ans et que la présence de « Maladie X » ne soit pas décelée.

La Commission des animaux aquatiques a proposé ces modifications afin de clarifier les situations autorisant une déclaration d'absence de maladie pour ces points. Les références aux dix ans et à l'absence de conditions propices à l'expression clinique sont inutiles et créent une ambiguïté.

##### Alinéa d du point 4 des articles 10.X.4. et 10.X.5., comme indiqué ci-dessous :

La Commission des animaux aquatiques a suggéré ces modifications, car elle a considéré que la mise en place de « conditions élémentaires de sécurité biologique » modifiées devait avoir lieu dès l'éradication de la maladie et que la période de 2 ans n'était pas pertinente pour ce point.

- 4 d) les *conditions* prévalant antérieurement doivent avoir été examinées et, si nécessaire, modifiées ; les *conditions élémentaires de sécurité biologique* devront être en place tel que stipulé depuis ~~au moins deux ans à compter de~~ l'éradication de la maladie.

Articles 10.X.7. (ensemble des chapitres portant sur des maladies spécifiques) et article 10.X.11. (chapitres sur les poissons et les amphibiens) ou article 10.X.10. (chapitres sur les mollusques et les crustacés)

La Commission des animaux aquatiques a noté que dans certains articles les renvois vers d'autres articles pertinents étaient parcellaires. Elle a proposé que leur texte soit amendé afin de s'assurer que les renvois vers d'autres articles se rapportant au maintien du statut indemne sont correctement insérés.

Approche sous l'angle de l'« Infection par l'agent pathogène X »

La Commission des animaux aquatiques a, en outre, fait remarquer qu'un certain nombre de chapitres portant sur des maladies spécifiques s'intitulent « Infection par l'agent pathogène X », mais cette approche n'est pas appliquée de manière systématique dans l'ensemble du chapitre. La Commission s'assurera que ces incohérences soient corrigées dans tous les chapitres de l'édition 2014 du *Code aquatique* portant sur des maladies spécifiques. La Commission a convenu que les chapitres 10.2 et 10.5. récemment révisés doivent constituer des exemples pour l'application de ces modifications à la nomenclature des noms de maladies.

Les articles types figurent à l'annexe 8 dans le but de recueillir les commentaires des Pays Membres.

#### **1.9. Critères permettant de déterminer la sensibilité des animaux aquatiques à un agent pathogène donné (nouveau chapitre X.X.)**

Les pays suivants ont fait parvenir des commentaires : l'Australie, le Canada, la Corée, les États-Unis d'Amérique, le Japon, la Nouvelle-Zélande, la Norvège, la Russie, la Suisse, le Taipei chinois et l'Union européenne.

La Commission des animaux aquatiques a examiné les commentaires des Pays Membres et amendé le projet de chapitre le cas échéant.

La Commission des animaux aquatiques a approuvé la requête de plusieurs Pays Membres souhaitant que ce chapitre insiste sur les critères d'inscription des espèces comme sensibles en vue de leur intégration dans l'article X.X.2. des chapitres portant sur des maladies spécifiques dans le *Code aquatique*. Pour clarifier ce point, la Commission a suggéré de modifier le titre du chapitre comme suit : « Critères d'inscription sur la liste des espèces sensibles à une infection par un agent pathogène spécifique ».

En réponse aux commentaires des Pays Membres, la Commission des animaux aquatiques a précisé que les dispositions des chapitres du *Code aquatique* portant sur des maladies spécifiques ne s'appliquent qu'aux espèces sensibles à une infection n'impliquant pas de vecteurs mécaniques. La Commission a par ailleurs expliqué que la définition de « maladie » dans le *Code aquatique* englobe à la fois les infections cliniques et non cliniques, ce qui signifie que la sensibilité d'une espèce correspond à sa sensibilité à l'agent responsable de l'infection. Les critères proposés sont destinés à évaluer la sensibilité à l'infection.

En réponse aux commentaires des Pays Membres stipulant que seules les « espèces définitivement sensibles » doivent être intégrées dans le *Code aquatique*, la Commission des animaux aquatiques a reconnu l'ambiguïté possible liée à l'utilisation des concepts « espèces définitivement sensibles » et « espèces possiblement sensibles ». Par conséquent, la Commission a modifié le chapitre en question afin de supprimer ces termes.

L'article X.X.7. a en outre été modifié pour indiquer clairement que, dans l'hypothèse où les preuves existent mais sont insuffisantes pour démontrer la sensibilité d'une espèce, cette espèce sera intégrée à la section 2.2.1. du chapitre relatif à la maladie concernée dans le *Manuel aquatique*. La Commission des animaux aquatiques a aussi ajouté du texte soulignant que conformément aux recommandations figurant dans le *Code aquatique*, les Autorités compétentes doivent procéder à une analyse des risques lorsqu'elles envisagent l'importation ou le transit par leur territoire d'animaux aquatiques ou de produits issus d'animaux aquatiques appartenant à une espèce non visée à l'article 10.5.2. mais dont on peut raisonnablement s'attendre qu'ils posent un risque en termes de transmission du virus de l'anémie infectieuse du saumon. Dans la logique de l'intention de la Commission des animaux aquatiques de se concentrer uniquement sur les espèces sensibles, la Commission a convenu de supprimer l'article X.X.8. proposé et intitulé « Relation taxonomique entre les espèces sensibles ». La Commission des animaux aquatiques a précisé qu'une fois le nouveau chapitre X.X. adopté, ces critères seront utilisés afin de déterminer les espèces sensibles pour toutes les maladies figurant sur la Liste. La Commission a proposé de convoquer un groupe ad hoc pour entreprendre les évaluations en fonction des critères qui seront ensuite soumis aux Pays Membres dans le but de recueillir leurs commentaires. Toute modification ultérieure apportée à la liste des espèces sensibles figurant à l'article X.X.2. des chapitres portant sur des maladies spécifiques dans le *Code aquatique* sera soumise aux Pays Membres dans le but de recueillir leurs commentaires avant d'être proposée pour adoption.

Après l'adoption de ce projet de chapitre et après l'achèvement de la détermination de la sensibilité des espèces, la Commission des animaux aquatiques propose de supprimer le texte suivant de l'article X.X.2. (Champ d'application) des chapitres du *Code aquatique* portant sur des maladies spécifiques : « Ces recommandations concernent toutes les autres espèces sensibles visées dans le *Manuel aquatique* lorsqu'elles font l'objet d'échanges internationaux », et de le remplacer par : « Lorsque les recommandations formulées dans ce chapitre concernent d'autres espèces, les *Autorités compétentes* doivent conduire une analyse de risque conformément aux recommandations du *Code aquatique* ».

Le chapitre X.X. révisé est présenté à l'annexe 9 dans le but de recueillir les commentaires des Pays Membres.

#### **1.10. Infection par l'alphavirus des salmonidés (nouveau chapitre 10.X.)**

L'« Infection par l'alphavirus des salmonidés » ayant été ajoutée aux maladies de la Liste de l'OIE lors de la Session générale de l'OIE de mai 2013, la Commission des animaux aquatiques a élaboré un nouveau projet de chapitre sur l'infection par l'alphavirus des salmonidés destiné à être intégré dans le *Code aquatique*.

La Commission des animaux aquatiques a indiqué que la liste des marchandises figurant aux articles 10.X.3., 10.X.12. et 10.X.13. a été mise « à l'étude ». La Commission a demandé que le Groupe ad hoc sur les marchandises dénuées de risque soit convoqué une nouvelle fois afin de mener des évaluations sur la base des critères mentionnés au chapitre 5.4. sur une série de marchandises faisant l'objet de fréquents échanges internationaux ainsi que sur la sécurité au plan sanitaire des œufs désinfectés. La Commission a demandé à recevoir le rapport du Groupe ad hoc avant sa réunion de février 2014 afin de pouvoir actualiser les articles concernés.

La Commission des animaux aquatiques a tenu à faire remarquer que les amendements horizontaux proposés au point 1.8. ont été intégrés à ce projet de chapitre.

Le nouveau chapitre 10.X. figure à l'annexe 10 dans le but de recueillir les commentaires des Pays Membres.

#### **1.11. Travail à venir sur la différenciation des agents pathogènes**

La Commission des animaux aquatiques a examiné toutes les maladies listées par l'OIE ainsi que les questions possibles liées à l'approche fondée sur la différenciation des agents pathogènes. La Commission a reconnu que le chapitre du *Code aquatique* relatif à la maladie de la tête jaune nécessite une clarification en ce qui concerne son champ d'application, ainsi qu'une harmonisation entre le *Code aquatique* et le *Manuel aquatique*. La Commission examinera cette question de façon plus approfondie lors de sa réunion de février 2014.

#### **1.12. Code aquatique - Sommaire**

La Commission des animaux aquatiques a réexaminé le sommaire du *Code aquatique* et a convenu qu'il serait plus opportun de placer le chapitre 6.1. dans la section 4. Recommandations générales : prévention et contrôle des maladies. Parallèlement à cette proposition de modification, la Commission a convenu que le titre de la section 6 devait être modifié pour mieux refléter sa teneur. La Commission a suggéré de renommer la section 6 intitulée « Santé publique vétérinaire » comme suit : « Recommandations en matière d'utilisation des antimicrobiens chez les animaux aquatiques ». La Commission a demandé au Service du commerce international de l'OIE de mettre en œuvre cette proposition dans l'édition 2014 du *Code aquatique*.

## **2. Manuel des tests de diagnostic pour les animaux aquatiques de l'OIE**

Madame Sara Linnane, rédactrice scientifique du Service scientifique et technique, a rejoint la réunion pour ce point de l'ordre du jour.

### **2.1. Examen des chapitres du Manuel aquatique**

Les pays suivants ont fait parvenir des commentaires : l'Australie et l'Union européenne.

#### **2.1.1. Chapitre 2.3.5. Infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon**

La Commission des animaux aquatiques, en concertation avec l'expert désigné de l'OIE, a examiné les commentaires des Pays Membres et modifié le texte le cas échéant.



Le chapitre 2.3.5. révisé est présenté à l'[annexe 11](#), en anglais, dans le but de recueillir les commentaires des Pays Membres. Veuillez noter que la version espagnole sera mise à disposition après adoption du chapitre en 2014.

#### **2.1.2. Chapitre 2.4.9. Infection due à un microvariant de l'herpèsvirus de l'huître de type 1**

La Commission des animaux aquatiques, en concertation avec les auteurs de ce chapitre, a examiné les commentaires des Pays Membres et modifié le texte le cas échéant.

Le chapitre 2.4.9. révisé est présenté à l'[annexe 12](#), en anglais, dans le but de recueillir les commentaires des Pays Membres. Veuillez noter que la version espagnole sera mise à disposition après adoption du chapitre en 2014.

#### **2.1.3. Chapitre 2.1.4. Infection par l'alphavirus des salmonidés**

La Commission des animaux aquatiques a indiqué que le projet de chapitre destiné au *Manuel aquatique* est toujours en cours d'élaboration, mais sera soumis à l'OIE d'ici à [mi-novembre 2013](#). Une fois reçu, le projet de chapitre sera envoyé à tous les Pays Membres dans le but de recueillir leurs commentaires, qu'ils devront soumettre avant la réunion de février 2014 pour permettre l'adoption rapide de ce chapitre.

### **2.2. Documents d'orientation portant spécifiquement sur la surveillance d'une maladie des poissons, des mollusques et des crustacés**

La Commission des animaux aquatiques a examiné les trois documents distincts donnant des exemples sur la façon de mettre au point des systèmes de surveillance spécifiques pour une maladie des poissons, des mollusques et des crustacés. Parmi ces documents, la Commission a convenu que celui traitant de la septicémie hémorragique virale serait mis en ligne sur le site web de l'OIE. Les autres exemples, portant respectivement sur la maladie des points blancs et l'infection à *Bonamia ostreae*, nécessitent des modifications supplémentaires avant publication sur ledit site web.

La Commission va entreprendre ce travail et examinera les documents révisés lors de sa prochaine réunion en février 2014.

## **3. Centres de référence de l'OIE**

### **3.1. Réactions relatives aux systèmes de gestion de la qualité des Laboratoires de référence**

La Docteure Min-Kyung Park, du Service scientifique et technique de l'OIE, a rejoint la réunion pour ce point de l'ordre du jour. Lors de la réunion précédente, la Docteure Park avait présenté une analyse des activités des Centres de référence de l'OIE consignées dans les rapports annuels de 2012. La Commission des animaux aquatiques a indiqué que certains laboratoires étaient en train de parvenir à un système de gestion de la qualité internationalement reconnu. La Commission a signalé qu'une lettre de soutien serait envoyée à ces laboratoires, leur demandant de bien vouloir informer l'OIE de tout progrès accompli au cours de l'année.

La Commission des animaux aquatiques a jugé préoccupant que certains Laboratoires de référence de l'OIE n'aient pas de système de gestion de la qualité et ne prévoient pas d'en mettre un en place, bien qu'il s'agisse d'une condition stipulée dans le mandat d'un Laboratoire de référence de l'OIE. La Commission a signalé qu'une lettre serait envoyée à ces laboratoires pour les avertir que tout manquement à la mise en conformité avec le chapitre 1.1.1 du *Manuel des tests de diagnostic pour les animaux aquatiques* de l'OIE intitulé : *Gestion de la qualité dans les laboratoires de diagnostic vétérinaire* pourrait conduire à une proposition de radiation de la liste de l'OIE.

### **3.2. Conférence mondiale des Centres de référence de l'OIE, Séoul (République de Corée), 14-16 octobre 2014**

La troisième Conférence mondiale des Centres de référence de l'OIE se tiendra à Séoul (République de Corée) du 14 au 16 octobre 2014. Les principaux thèmes abordés lors de la Conférence seront les suivants : la consolidation du réseau des Centres de référence de l'OIE, les systèmes de gestion de la qualité des laboratoires, le renforcement des liens entre les Centres de référence et les Services vétérinaires, ainsi que la mondialisation des bases de données des séquences des agents pathogènes.

La Commission a convenu que les trois premiers thèmes mentionnés ci-dessus sont importants pour les Centres de référence pour les animaux aquatiques et a accueilli favorablement le projet d'organiser une session en groupe restreint spécifiquement destinée aux Centres de référence pour les animaux aquatiques.

### **3.3. Suppression du statut de Laboratoire de référence de l'OIE**

La Commission a indiqué que les Laboratoires de référence suivants ne souhaitent plus être classés parmi les Laboratoires de référence de l'OIE et seront donc retirés de la Liste :

- le Laboratoire de référence de l'OIE pour la baculovirose sphérique (baculovirus spécifique de *Penaeus monodon*) se trouvant à l'Université nationale de Taïwan située dans le Taïpei chinois ;
- le Laboratoire de référence de l'OIE pour l'infection à *Batrachochytrium dendrobatidis* se trouvant au Laboratoire australien de santé animale situé en Australie.

La Commission des animaux aquatiques a fait remarquer qu'il n'y avait désormais plus de Laboratoire de référence de l'OIE pour l'infection à *Batrachochytrium dendrobatidis* et sollicite les candidatures pour la désignation comme Laboratoire de référence de l'OIE pour cette maladie de la Liste.

### **3.4. Examen des candidats désignés pour remplacer des experts**

La Commission des animaux aquatiques a examiné et approuvé la candidature suivante proposée pour le remplacement d'un expert attaché au Laboratoire de référence de l'OIE pour la nécrose hématopoïétique épizootique et l'infection à ranavirus :

le Docteur Nick Moody remplacera le Docteur Alex Hyatt au Laboratoire australien de santé animale de Geelong (Victoria, Australie).

## **4. Projets de jumelage de l'OIE**

Le Docteur Gounalan Pavade, du Service scientifique et technique de l'OIE, a informé la Commission de trois projets de jumelage : États-Unis/République populaire de Chine pour la nécrose hématopoïétique infectieuse ; États-Unis/Indonésie pour les maladies des crustacés/crevettes ; et Japon/Indonésie pour l'herpès-virose de la carpe koï.

## **5. Plan de travail de la Commission des animaux aquatiques pour 2014**

La Commission des animaux aquatiques a examiné et actualisé le plan de travail. Celui-ci donne aux Pays Membres un aperçu des activités en cours et à venir.

Le plan de travail de la Commission est présenté en détail aux Pays Membres à l'[annexe 13](#) pour information.

## **6. Questions diverses**

### **6.1. Conférence mondiale de l'OIE sur la santé des animaux aquatiques**

La Docteure Gillian Mylrea, Adjointe du chef du Service du commerce international, a informé la Commission des animaux aquatiques que l'OIE se propose d'accueillir la troisième Conférence mondiale sur la santé des animaux aquatiques en janvier 2015, en attendant la confirmation d'un possible pays organisateur.

### **6.2. Commentaires en ligne**

La Commission des animaux aquatiques a examiné l'utilisation de systèmes de commentaires en ligne par la Convention internationale pour la protection des végétaux et par la CCA, et a invité le Service du commerce international à se renseigner davantage sur la façon dont un tel système pourrait être utilisé à l'OIE, puis à faire remonter les informations à la Commission du Code.

## **7. Prochaine réunion**

La Commission des animaux aquatiques a proposé de tenir ses prochaines réunions respectivement du 24 au 28 février 2014 et du 29 septembre au 3 octobre 2014.

---

.../Annexes



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

**Paris, 30 septembre - 4 octobre 2013**

**Liste des participants**

**MEMBRES DE LA COMMISSION**

---

**Dr Franck Berthe**

*Président*  
European Food Safety Authority - EFSA  
Head of Animal Health and Animal Welfare  
Unit  
Via Carlo Magno 1, Parma  
ITALIE  
Tél. : + 39 052 1 036 870  
Fax : + 39 052 1 036 0870  
Franck.Berthe@efsa.europa.eu

**Dr Jie Huang**

*Vice-président*  
Maricultural Organism Diseases Control &  
Molecular Pathology Laboratory,  
Yellow Sea Fisheries Research Institute,  
Chinese Academy of Fishery Sciences  
106 Nanjing Road  
Qingdao, SD 266071  
PR CHINA  
Tél. : +86 532 582 3062  
Fax : +86-532-5811514  
huangjie@ysfri.ac.cn

**Dr Victor Manuel Vidal Martínez**

*Vice-président*  
Centro de Investigación y de  
Estudios Avanzados del Instituto  
Politécnico Nacional  
Carretera Antigua a Progreso Km. 6  
Apartado Postal 73 Cordemex  
Mérida,  
Yucatán C.P. 97310  
MEXIQUE  
Tél. : +52 99 99 42 94 72  
Fax : +52 99 81 29 17  
vvidal@mda.cinvestav.mx

**Dr Ingo Ernst**

Director, Aquatic Animal Health  
Animal Health Policy Branch  
Australian Government Department of  
Agriculture  
GPO Box 858  
Canberra ACT 2601  
AUSTRALIE  
Tél. : 02 627 256 15  
Fax : 02 627 231 50  
ingo.ernst@daff.gov.au

**Dr Brit Hjeltnes**

Deputy Director, Fish and Shellfish Health  
National Veterinary Institute  
PO Box 750 Sentrum, N-0106  
Bergen  
NORVÈGE  
Tél. : +47 918 893 76  
brit.hjeltnes@vetinst.no

**Dr Alicia Gallardo Lagno**

Subdirectora nacional de acuicultura  
Servicio Nacional de Pesca y  
Acuicultura  
Calle Victoria 2832  
CHILI  
Tél. : +56 32 281 9282  
agallardol@sermapesca.cl

**SIÈGE DE L'OIE**

---

**Dr Bernard Vallat**

Directeur général  
OIE  
12, rue de Prony  
75017 Paris  
FRANCE  
Tél. : 33 - (0)1 44 15 18 88  
Fax : 33 - (0)1 42 67 09 87  
oie@oie.int

**Dr Derek Belton**

Chef  
Service du commerce international  
OIE  
d.belton@oie.int

**Mme Sara Linnane**

Secrétaire de rédaction scientifique  
Service scientifique et technique  
OIE  
s.linnane@oie.int

**Dr Gillian Mylrea**

Adjointe  
Service du commerce international  
OIE  
g.mylrea@oie.int

**Flavia Godoy**

Stagiaire  
Service du commerce international  
University of Sao Paulo  
BRÉSIL



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

Paris, 30 septembre - 4 octobre 2013

—————  
**Ordre du jour adopté**

1. *Code sanitaire pour les animaux aquatiques de l'OIE*
  - 1.1. Glossaire
  - 1.2. Notification des maladies et des informations épidémiologiques (chapitre 1.1.)
  - 1.3. Critères d'inscription d'une maladie émergente (chapitre 1.2.)
  - 1.4. Maladies de la liste de l'OIE (chapitre 1.3.)
  - 1.5. Maîtrise des dangers associés aux aliments destinés aux animaux aquatiques (chapitre 6.1.)
  - 1.6. Hépatopancréatite nécrosante (chapitre 9.4.)
  - 1.7. Infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon (chapitre 10.5.)
  - 1.8. Questions horizontales
  - 1.9. Critères permettant de déterminer la sensibilité des animaux aquatiques à un agent pathogène donné (nouveau chapitre X.X.)
  - 1.10. Infection par l'alphavirus des salmonidés (nouveau chapitre 10.X.)
  - 1.11. Travail à venir sur la différenciation des agents pathogènes
  - 1.12. *Code aquatique* - Sommaire
2. *Manuel des tests de diagnostic pour les animaux aquatiques de l'OIE*
  - 2.1. Examen des chapitres du *Manuel aquatique*
    - 2.1.1. Chapitre 2.3.5. Infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon
    - 2.1.2. Chapitre 2.4.9. Infection due à un microvariant de l'herpèsvirus de l'huître de type 1
    - 2.1.3. Chapitre 2.1.4. Infection par l'alphavirus des salmonidés
  - 2.2. Documents d'orientation portant spécifiquement sur la surveillance d'une maladie des poissons, des mollusques et des crustacés

Annexe 2 (suite)

**3. Centres de référence de l'OIE**

**3.1. Réactions relatives aux systèmes de gestion de la qualité des Laboratoires de référence**

**3.2. Conférence mondiale des Centres de référence de l'OIE, Séoul (République de Corée), 14-16 octobre 2014**

**3.3. Suppression du statut de Laboratoire de référence de l'OIE**

**3.4. Examen des candidats désignés pour remplacer des experts**

**4. Projets de jumelage de l'OIE**

**5. Plan de travail de la Commission des animaux aquatiques pour 2013**

**6. Questions diverses**

**6.1. Conférence mondiale de l'OIE sur la santé des animaux aquatiques**

**7. Prochaine réunion**



## GLOSSAIRE

### **Maladie émergente**

désigne une ~~infection nouvellement reconnue~~ résultant de l'évolution maladie, avec des répercussions significatives sur la santé animale ou humaine, résultant de :

- la modification d'un agent pathogène existant connu ~~une infection connue se propageant à~~ ou de sa propagation à une nouvelle aire géographique ou à une nouvelle population espèce, ou
- la présence d'un agent nouvellement reconnu ou suspecté d'être pathogène non identifié précédemment ou encore une maladie dont le diagnostic est posé pour la première fois et ayant des répercussions significatives sur la santé des animaux aquatiques ou sur la santé publique.

### **Espèce sensible**

désigne une espèce d'*animal aquatique* chez laquelle la présence d'une *infection* a été démontrée par la survenue de cas spontanés ou par une exposition expérimentale à un *agent pathogène* simulant la voie naturelle d'*infection*. ~~Chaque chapitre du Code aquatique et du Manuel aquatique traitant d'une maladie contient la liste des espèces sensibles connues à ce jour.~~

### **Vétérinaire**

désigne une personne ayant suivi une formation adaptée, ayant procédé aux formalités d'enregistrement auprès de l'*organisme statutaire vétérinaire* d'un pays ou titulaire d'un agrément délivré par cet organisme pour exercer la médecine ou les sciences vétérinaire dans ce pays.

-----

— Texte supprimé



## CHAPITRE 1.1.

## NOTIFICATION DES MALADIES ET DES INFORMATIONS ÉPIDÉMIOLOGIQUES

## Article 1.1.1.

Aux fins de l'application du *Code aquatique* et conformément aux dispositions des articles 5, 9 et 10 des Statuts organiques de l'OIE, tout Pays Membre reconnaît au Siège le droit de communiquer directement avec l'*Autorité compétente* de son ou de ses *territoires*.

Toute *notification* ou toute information envoyée par l'OIE à l'*Autorité compétente* est considérée comme ayant été envoyée à l'État dont elle relève et toute *notification* ou toute information envoyée à l'OIE par l'*Autorité compétente* est considérée comme ayant été envoyée par l'État dont elle relève.

## Article 1.1.2.

- 1) Les Pays Membres mettront à la disposition des autres Pays Membres, par l'intermédiaire de l'OIE, toute information nécessaire pour enrayer la propagation des *maladies* importantes des *animaux aquatiques* et de leurs *agents pathogènes*, et permettre un meilleur contrôle de ces *maladies* au plan mondial.
- 2) À cet effet, les Pays Membres appliqueront les obligations de *notification* prévues à l'article 1.1.3.
- 3) Pour la clarté et la concision de l'information transmise à l'OIE, les Pays Membres devront se conformer aussi exactement que possible au modèle officiel de déclaration des *maladies* à l'OIE.
- 4) Considérant que les connaissances scientifiques sur la relation entre *agents pathogènes* et *maladies* cliniques sont en constant développement et que la présence ~~de~~ d'un agent infectieux n'implique pas nécessairement la présence clinique d'une maladie de celles-ci, les Pays Membres feront en sorte, dans leurs rapports, de se conformer à l'esprit et à l'objet du point 1 ci-dessus. Ceci signifie que la détection chez un *animal aquatique* d'un agent infectieux responsable d'une *maladie de la Liste de l'OIE listée par l'OIE* doit être signalée même en l'absence de manifestations cliniques ~~de la maladie~~.
- 5) Outre les *notifications* adressées en application de l'article 1.1.3., les Pays Membres fourniront également des informations sur les mesures prises pour prévenir la propagation des *maladies*, en particulier sur d'éventuelles mesures de *quarantaine* et sur des restrictions à la circulation des *animaux aquatiques*, des *produits issus d'animaux aquatiques*, des *produits biologiques* et objets divers qui, par leur nature, pourraient être responsables de la transmission de *maladies*. S'agissant des *maladies* transmises par des vecteurs, les mesures prises contre ces derniers devront également être spécifiées.

## Article 1.1.3.

Sous la responsabilité du Délégué, l'*Autorité compétente* doit adresser au ~~Siège de l'OIE~~ :

- 1) en application des dispositions pertinentes des chapitres spécifiques consacrés aux *maladies*, une *notification* dans les 24 heures en cas de survenue d'un des événements ci-après, soit par le biais du Système mondial d'information zoonositaire (WAHIS [World Animal Health Information System]), soit par télécopie ou courrier électronique :
  - a) la première apparition d'une ~~des maladies de la Liste de l'OIE listée par l'OIE~~ dans un pays, une zone ou un compartiment ;
  - b) la réapparition d'une ~~des maladies de la Liste de l'OIE listée par l'OIE~~ dans un pays, une zone ou un compartiment postérieurement au rapport final faisant état de l'extinction du foyer notifiée par l'envoi d'un rapport ;
  - c) la première apparition dans un pays, une zone ou un compartiment d'une nouvelle souche d'un *agent pathogène* responsable d'une ~~des maladies de la Liste de l'OIE listée par l'OIE~~ ;

## Annexe 4 (suite)

- d) de façon soudaine et inattendue, une augmentation soudaine et inattendue un changement dans la distribution ou une augmentation de l'incidence, de la virulence, de la morbidité ou de la mortalité liée à l'agent étiologique d'une caractérisant une maladie de la Liste de l'OIE listée par l'OIE prévalente présente dans un pays, une zone ou un compartiment ;
- e) la constatation de modifications dans l'épidémiologie d'une des maladies de la Liste de l'OIE (y compris dans le type de l'hôte, le pouvoir pathogène et la souche de l'agent pathogène), en particulier si cette constatation a des implications zoonotiques l'apparition pour la première fois d'une maladie listée par l'OIE chez une nouvelle espèce hôte ;
- f) l'apparition d'une maladie émergente associée à une morbidité ou à une mortalité significatives, ou ayant un potentiel zoonotique.

pour décider si des observations justifient une *notification* immédiate (dans les 24 heures), les Pays Membres doivent s'assurer de la conformité aux obligations des chapitres 5.1. et 5.2. (notamment de l'article 5.1.1.) concernant les développements sanitaires risquant d'avoir des répercussions sur les *échanges internationaux* ;

- 2) un rapport hebdomadaire en réponse à une *notification* effectuée en application du point 1 ci-dessus, donnant des informations complémentaires sur l'évolution de l'événement ayant justifié la *notification* ; l'envoi de rapports hebdomadaires se poursuivra jusqu'à ce que la *maladie* soit éradiquée ou que la situation se soit suffisamment stabilisée pour que le Pays Membre puisse satisfaire à ses obligations en faisant parvenir à l'OIE un rapport semestriel en application des dispositions du point 3 ci-dessous ; dans tous les cas, pour tout événement notifié, il conviendra de fournir un rapport final sur l'événement ;
- 3) un rapport semestriel sur l'absence ou la présence et l'évolution des *maladies de la Liste de l'OIE listées par l'OIE* ainsi que sur les éléments d'information épidémiologiquement significatifs pour les autres Pays Membres ;
- 4) un rapport annuel concernant toute autre information importante pour les autres Pays Membres.

Bien qu'ils soient seulement tenus de notifier les *maladies de la Liste de l'OIE* et les *maladies émergentes* conformément aux points 1 à 4 ci-dessus, les Pays Membres sont encouragés à informer l'OIE de la survenue de tout autre événement zoonositaire épidémiologiquement significatif.

## Article 1.1.3. bis

Sous la responsabilité du Délégué, les Autorités vétérinaires adresseront au Siège :

- 1) une notification par l'intermédiaire de WAHIS, ou par télécopie ou courrier électronique, dans le cas où une maladie émergente est détectée dans un pays, une zone ou un compartiment ;
- 2) des rapports périodiques faisant suite à toute notification de maladie émergente adressée en application du point 1 ci-dessus ; ces rapports doivent se poursuivre jusqu'à ce que la maladie ait été éradiquée, ou que sa situation soit suffisamment stabilisée, ou encore que des informations scientifiques permettent de déterminer si elle répond aux critères d'inscription sur la liste de l'OIE.

## Article 1.1.4.

- 1) L'Autorité compétente d'un pays incluant une zone ou un compartiment infecté(e) avise le Siège dès que cette zone ou ce compartiment est libéré(e) de la *maladie*.
- 2) Un compartiment infecté ou une zone infectée d'une *maladie* déterminée ne sera considéré(e) comme indemne qu'au terme d'une durée écoulée supérieure à la période d'*infectiosité* telle que spécifiée dans le *Code aquatique*, après le dernier cas de *maladie* déclaré, et une fois que toutes les mesures de contrôle et les mesures zoonositaires appropriées auront été prises pour prévenir sa réapparition ou sa propagation. Ces mesures sont décrites en détail dans les différents chapitres du *Code aquatique*.
- 3) Un Pays Membre peut être considéré comme ayant recouvré le statut indemne d'une *maladie* déterminée lorsqu'il remplit toutes les conditions requises dans le *Code aquatique*.
- 4) L'Autorité compétente d'un Pays Membre ayant qui a délimité une ou plusieurs zones indemnes ou compartiments indemnes, en informera le Siège en donnant les détails nécessaires parmi lesquels doivent figurer notamment les critères appliqués pour établir le sur lesquels doit s'appuyer le statut de territoire indemne et statut indemne et les conditions pour le maintien de ce statut, en indiquant clairement l'emplacement desdites zones et desdits compartiments sur une carte du territoire du Pays Membre.

## Article 1.1.5.

- 1) Bien qu'ils soient tenus de notifier seulement les *maladies listées* par l'OIE ainsi que les *maladies émergentes*, les Pays Membres sont encouragés à informer l'OIE de tout autre événement zoonitaire important.
- 2) Le *Siège* transmettra aux *Autorités compétentes* toutes les *notifications* reçues, par courrier électronique ou par le biais de la base mondiale d'information zoonitaire (WAHID), conformément aux articles 1.1.2. à 1.1.4. et d'autres informations jugées pertinentes.

---

-----  
— Texte supprimé



CHAPITRE 1.2.

**CRITÈRES D'INSCRIPTION DES MALADIES  
DES ANIMAUX AQUATIQUES  
SUR LA LISTE DE L'OIE**

Article 1.2.1.

**Introduction**

Le présent chapitre décrit les critères servant à l'inscription sur la liste de l'OIE des *maladies* figurant au chapitre 1.3. L'inscription sur la liste a pour but de soutenir les efforts déployés par les Pays Membres pour prévenir la propagation transfrontalière des *maladies* importantes affectant les *animaux aquatiques* au moyen de pratiques transparentes et cohérentes de déclaration.

Chacune des *maladies* inscrites suivant les critères énoncés à l'article 1.2.2. fait l'objet d'un chapitre dédié dans le *Code aquatique*, qui présente les normes relatives à la sûreté au plan sanitaire des *échanges internationaux d'animaux aquatiques* et de produits qui en sont issus.

~~L'inscription des *maladies* figurant dans la catégorie couverte par l'article 1.2.3. a pour but de reconnaître les *maladies émergentes* importantes et de recueillir des informations épidémiologiques pertinentes. Ces informations sont réunies afin de pouvoir ensuite déterminer s'il convient ou non d'inscrire ces *maladies* suivant les critères énoncés à l'article 1.2.2. Les *maladies* inscrites conformément aux critères énoncés à l'article 1.2.3. ne font pas l'objet d'un chapitre dédié dans le *Code aquatique* et ne donnent donc lieu à aucune norme spécifique relative aux *échanges internationaux*. Les Pays Membres ne peuvent imposer que des exigences commerciales justifiées par une *appréciation de risque* scientifique.~~

Les exigences en matière de *notification* des *maladies de la Liste de l'OIE listées par l'OIE* sont décrites en détail au chapitre 1.1.

Article 1.2.2.

**Critères pour inscrire une maladie des animaux aquatiques sur la Liste de l'OIE**

Les *maladies* dont l'inscription sur la liste est proposée doivent répondre aux critères applicables figurant aux points suivants : A. Conséquences, B. Propagation et C. Diagnostic. Ainsi, pour être inscrite sur la liste, une *maladie* doit présenter les caractéristiques suivantes : 1 ou 2 ou 3 ; et 4 ou 5 ; et 6 ; et 7 ; et 8. Ces propositions doivent être accompagnées d'une *définition de cas* pour la *maladie* considérée.

N°	Critères d'inscription	Notes explicatives
<b>A. Conséquences</b>		
1.	Lorsqu'elle apparaît, il est prouvé que la maladie provoque des pertes significatives de production au niveau national ou multinational (zones ou régions).	Il existe un schéma général selon lequel la maladie aboutit à des pertes chez les espèces sensibles, et la morbidité ou la mortalité est en relation principalement avec l'agent infectieux et non avec des pratiques d'élevage ou des facteurs liés à l'environnement. (La morbidité inclut, par exemple, les pertes de production dues à des baisses de ponte.) L'impact économique direct de la maladie est lié à sa morbidité, à sa mortalité et à son effet sur la qualité du produit.
2.	Ou	On a montré la présence de la maladie ou on dispose de preuves scientifiques indiquant que la maladie est susceptible de provoquer une morbidité ou une mortalité importante au sein des populations d'animaux aquatiques sauvages.
3.	Ou	L'agent infectieux représente une menace pour la santé publique.

## Annexe 5 (suite)

Et B. Propagation		
4.		Une étiologie infectieuse de la maladie est prouvée.
5.	Ou	Un agent infectieux est fortement associé à la maladie, mais l'étiologie est encore inconnue.
		Des maladies infectieuses d'étiologie inconnue peuvent avoir des implications à tout aussi haut risque que les maladies dont l'étiologie infectieuse est prouvée. Tout en recueillant des données sur l'apparition de la maladie, il convient de faire des recherches pour élucider l'étiologie de la maladie, et d'en diffuser les résultats dans un délai raisonnable.
6.	Et	Probabilité de propagation internationale de la maladie, y compris via des animaux vivants, leurs produits ou des matériels contaminés.
		Des échanges internationaux d'espèces d'animaux aquatiques sensibles à la maladie sont pratiqués ou sont envisagés. Selon les pratiques commerciales internationales, la pénétration et l'installation de la maladie représentent une certaine probabilité.
7.	Et	Plusieurs pays ou zones peuvent être déclarés indemnes de la maladie, conformément aux principes généraux de surveillance énoncés au chapitre 1.4.
		Les pays ou zones indemnes peuvent toujours être protégés. L'inscription des maladies qui sont partout présentes ou extrêmement répandues rendrait la notification impossible, mais les pays qui appliquent un programme de lutte contre une telle maladie peuvent proposer son inscription à condition d'avoir entrepris une évaluation scientifique à l'appui de leur demande. On peut citer en exemple la protection du cheptel contre les maladies largement répandues, ou la protection des dernières zones indemnes subsistantes contre une maladie largement répandue.
Et C. Diagnostic		
8.		Une méthode pratique et reproductible de détection ou de diagnostic existe.
		Une épreuve de diagnostic doit être largement disponible, ou avoir subi un processus officiel de normalisation et de validation utilisant des échantillons prélevés systématiquement sur place (voir <i>Manuel aquatique</i> ) ou bien il doit exister une définition de cas solide permettant d'identifier clairement les cas et de les distinguer des autres pathologies.

## Article 1.2.3.

**Critères pour inscrire une maladie émergente des animaux aquatiques sur la Liste de l'OIE**

~~Une maladie émergente peut être proposée pour inscription sur la liste si elle réunit les critères 1 ou 2, et 3 ou 4. Ces propositions doivent être accompagnées d'une définition de cas pour la maladie considérée.~~

N°	Paramètres justifiant l'inscription	Notes explicatives
1.	<del>Une étiologie infectieuse de la maladie est prouvée.</del>	
	<del>Ou</del>	
2.	<del>Un agent infectieux est fortement associé à la maladie, mais l'étiologie est encore inconnue.</del>	<del>Des maladies infectieuses d'étiologie inconnue peuvent avoir des implications à tout aussi haut risque que les maladies dont l'étiologie infectieuse est prouvée. Tout en recueillant des données sur l'apparition de la maladie, il convient de faire des recherches pour élucider l'étiologie de la maladie, et d'en diffuser les résultats dans un délai raisonnable.</del>



## Annexe 5 (suite)

Et	
3.	<del>L'agent pathogène représente une menace pour la santé publique.</del>
Ou	
4.	<del>Propagation significative au sein des populations naïves d'animaux aquatiques sauvages ou d'élevage.</del>
	<del>La maladie a provoqué une morbidité, une mortalité ou des pertes de production significatives au niveau d'une zone, d'un compartiment ou d'un pays. On entend par « naïfs » des animaux n'ayant jamais été exposés à une nouvelle maladie ou une nouvelle forme d'une maladie connue.</del>

-----

— Texte supprimé



## CHAPITRE 9.4.

**HÉPATOPANCRÉATITE NÉCROSANTE**

## Article 9.4.1.

Aux fins de l'application du *Code aquatique*, l'expression « hépatopancréatite nécrosante » désigne une *infection* causée par Candidatus *Hepatobacter penaei* ~~la bactérie responsable de la maladie (NHP-B)~~. Cette bactérie intracellulaire obligatoire fait partie de l'ordre des alpha-protéobactéries.

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

---

-----

— Texte supprimé



## CHAPITRE 10.5.

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

## Article 10.5.1.

Aux fins de l'application du *Code aquatique*, l'expression « infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon » désigne une *infection* par les formes du virus de l'anémie infectieuse du saumon présentant des délétions dans la région hautement polymorphe (variants délétés dans la RHP du virus) ou non (variants RHP0). Ce virus appartient au genre Isavirus et à la famille Orthomyxoviridés. Les deux génotypes doivent faire l'objet d'une *notification*, conformément au *Code aquatique*.

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

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

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

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

## Article 10.5.2.

**Champ d'application**

Les recommandations du présent chapitre s'appliquent au saumon atlantique (*Salmo salar*), à la truite d'Europe (*S. trutta*) et à la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*). Ces recommandations concernent également toutes les autres *espèces sensibles* visées dans le *Manuel aquatique* lorsqu'elles font l'objet d'*échanges internationaux*.

## Article 10.5.3.

### **Importation ou transit d'animaux aquatiques et de produits issus d'animaux aquatiques indépendamment de l'usage auquel ils sont destinés, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré(e) indemne d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon**

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

- 1) Quel que soit le statut sanitaire du pays, de la *zone* ou du *compartiment* d'exportation au regard du virus de l'anémie infectieuse du saumon, les *Autorités compétentes* ne doivent imposer aucune condition liée à l'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon quand elles autorisent, pour quelque usage que ce soit, l'importation ou le transit par leur *territoire* des *animaux aquatiques* ou des *produits issus d'animaux aquatiques* énumérés ci-dessous lorsqu'il s'agit d'une espèce visée à l'article 10.5.2. et que ces animaux ou ces produits satisfont aux conditions requises à l'article 5.4.1. :
  - a) produits à base de poisson stérilisés par la chaleur (c'est-à-dire exposés à une température de 121 °C pendant au moins 3,6 minutes ou à une combinaison de température et de temps équivalente au traitement précité) et présentés en conditionnement hermétique ;
  - b) produits pasteurisés à base de poisson ayant subi un traitement thermique à 90 °C pendant au moins 10 minutes ou à une combinaison de température et de temps dont l'équivalence a été démontrée en termes d'inactivation du virus de l'anémie infectieuse du saumon ;

Annexe 7 (suite)

- c) poissons éviscérés et séchés par un procédé mécanique (c'est-à-dire ayant subi un traitement thermique à 100 °C pendant ~~au moins~~ 30 minutes ou à une combinaison de température et de temps dont l'équivalence a été démontrée en termes d'inactivation du virus de l'anémie infectieuse du saumon) ;
  - d) huile de poisson ;
  - e) farines de poisson, et
  - f) cuir de poisson.
- 2) Les *Autorités compétentes*, 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 10.5.2., à l'exclusion des produits énumérés au point 1 de l'article 10.5.3., doivent imposer le respect des conditions requises aux articles 10.5.10. à 10.5.17. en fonction du statut sanitaire du pays, de la *zone* ou du *compartiment* d'exportation au regard du virus de l'anémie infectieuse du saumon.
- 3) Conformément aux recommandations figurant dans le *Code aquatique*, les *Autorités compétentes* doivent procéder à une *analyse des risques* lorsqu'elles envisagent l'importation ou le transit par leur *territoire d'animaux aquatiques* ou de *produits issus d'animaux aquatiques* appartenant à une espèce non visée à l'article 10.5.2. mais dont on peut raisonnablement s'attendre qu'ils posent un *risque* en termes de transmission du virus de l'anémie infectieuse du saumon et que le pays, la *zone* ou le *compartiment* d'exportation n'est pas déclaré(e) indemne d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon. Le *pays exportateur* doit être tenu informé du résultat de cette analyse.

## Article 10.5.4.

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

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

Un pays peut déposer une *auto-déclaration d'absence* d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon s'il satisfait aux conditions requises aux points 1, 2 ou 3 ci-après.

En cas de partage d'une *zone* avec un ou plusieurs autres pays, un pays ne peut déposer une *auto-déclaration d'absence* d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon que si tous les secteurs couverts par les eaux partagées sont déclarés pays ou *zones* indemnes de cette *infection* (voir article 10.5.6.).

- 1) Un pays dans lequel n'est présente aucune *espèce sensible* peut déposer une *auto-déclaration d'absence* d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon si les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer sur son *territoire* depuis au moins deux ans.

OU

- 2) Un pays dans lequel les espèces visées à l'article 10.5.2. sont présentes mais où la présence détectable l'apparition de l'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon n'a pas été observée détectée peut déposer une *auto-déclaration d'absence* d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon, sous réserve :

- a) que les *conditions élémentaires de sécurité biologique* soient réunies sans discontinuer sur son *territoire* depuis au moins deux ans, et
- b) qu'une *surveillance ciblée*, telle que celle définie au chapitre 1.4., soit en place sur son *territoire* depuis au moins deux ans ~~et sans~~ que l'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon ~~n'ait pas~~ été détectée.

OU

- 3) Un pays ayant déposé une *auto-déclaration d'absence* d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon mais dans lequel l'*infection* a été détectée à une date postérieure, peut de nouveau déposer une *auto-déclaration d'absence* d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon s'il satisfait aux conditions suivantes :

- a) dès la détection de l'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon, quelle que soit sa forme, le secteur touché doit avoir été déclaré *zone infectée* et une *zone de protection* doit avoir été établie, et
- b) les populations infectées doivent avoir été détruites ou éliminées de la *zone infectée* par des moyens réduisant autant que possible le *risque* de nouvelle propagation du virus de l'anémie infectieuse du saumon de la maladie, et les mesures de *désinfection* appropriées doivent avoir été exécutées (voir *Manuel aquatique*), et
- c) une *surveillance ciblée*, telle que celle définie au chapitre 1.4., doit avoir été mise en place depuis au moins deux ans et l'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon ne doit pas avoir été détectée, et
- d) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* prévalant antérieurement doivent avoir été examinées et modifiées si nécessaire, et être en place, sans discontinuer, depuis ~~au moins deux ans~~ suivant l'éradication de la *maladie*.

Entre-temps, une partie du secteur non touché peut être déclarée *zone indemne*, sous réserve qu'elle remplisse les conditions requises au point 3 de l'article 10.5.6.

#### Article 10.5.5.

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

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

Un pays peut déposer une *auto-déclaration d'absence* d'infection par des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon s'il satisfait aux conditions requises aux points 1, 2 ou 3 ~~ou~~ 4 ci-après.

En cas de partage d'une *zone* avec un ou plusieurs autres pays, un pays ne peut déposer une *auto-déclaration d'absence* d'infection par des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon que si tous les secteurs couverts par les eaux partagées sont déclarés pays ou *zones* indemnes d'infection par des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon (voir article 10.5.7.).

- 1) ~~Un pays dans lequel n'est présente aucune espèce sensible peut déposer une auto-déclaration d'absence d'infection par des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon si les conditions élémentaires de sécurité biologique sont réunies sans discontinuer dans ce pays depuis au moins deux ans.~~

OU

- 2) Un pays dans lequel les espèces visées à l'article 10.5.2. sont présentes mais où aucune manifestation clinique connue de l'infection par des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon n'a ~~pas~~ été ~~détectée~~ enregistrée depuis au moins dix ans, et ce, en dépit de l'existence de conditions propices à ~~son~~ expression une manifestation clinique, comme indiqué au chapitre correspondant du *Manuel aquatique*, peut déposer une *auto-déclaration d'absence* d'infection par des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon si les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer dans ce pays depuis au moins dix ans.

OU

- 3) Un pays dans lequel la dernière ~~apparition~~ manifestation connue de l'infection par des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon a été ~~détectée~~ enregistrée au cours des dix dernières années, ou dont le statut sanitaire au regard de la *maladie* était inconnue avant la mise en place d'une *surveillance ciblée* (en raison, par exemple, de l'absence de conditions propices à ~~son~~ expression une manifestation clinique comme indiqué au chapitre correspondant du *Manuel aquatique*), peut déposer une *auto-déclaration d'absence* d'infection par des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon, sous réserve :

- a) que les *conditions élémentaires de sécurité biologique* soient réunies sans discontinuer depuis au moins deux ans, et
- b) qu'une *surveillance ciblée*, telle que celle définie au chapitre 1.4. ~~du Code aquatique~~, soit en place depuis au moins deux ans ~~et sans~~ que la présence d'infection par des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon ~~ne soit pas~~ décelée.

Annexe 7 (suite)

OU

- 43) Un pays ayant déposé une *auto-déclaration d'absence* d'infection par des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon, mais dans lequel l'*infection* a été détectée à une date postérieure, peut de nouveau déposer une *auto-déclaration d'absence* d'infection par des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon s'il satisfait aux conditions suivantes :
- a) dès la détection de l'infection par des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon, le secteur touché doit avoir été déclaré *zone infectée* et une *zone de protection* doit avoir été établie, et
  - b) les populations infectées doivent avoir été détruites ou éliminées de la *zone infectée* par des moyens réduisant autant que possible le *risque* de nouvelle propagation des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon, et les mesures de *désinfection* appropriées doivent avoir été exécutées (voir *Manuel aquatique*), et
  - c) une *surveillance ciblée*, telle que celle définie au chapitre 1.4., doit avoir été mise en place depuis au moins deux ans et la présence d'infection par des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon ne doit pas avoir été décelée, et
  - d) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* prévalant antérieurement doivent avoir été examinées et modifiées si nécessaire ; ces conditions devront être en place tel que stipulé depuis ~~au moins deux ans~~ ~~suivant~~ l'éradication de la *maladie*.

Entre-temps, une partie du secteur non touché peut être déclarée *zone indemne*, sous réserve qu'elle remplisse les conditions requises au point 3 de l'article 10.5.7.

## Article 10.5.6.

**Zone ou compartiment indemne d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon**

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

Un *compartiment* ou une *zone* situé(e) sur le *territoire* d'un pays, ou d'un ensemble de pays, non déclaré indemne d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon peut être déclaré(e) indemne par l'*Autorité compétente* de ce pays, ou par les *Autorités compétentes* de cet ensemble de pays, si ce *compartiment* ou cette *zone* satisfait aux conditions requises aux points 1, 2 ou 3 ci-après.

- 1) Un *compartiment* ou une *zone* où n'est présente aucune *espèce sensible* peut être déclaré(e) indemne d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon si les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer dans ce *compartiment* ou cette *zone* depuis au moins deux ans.

OU

- 2) Un *compartiment* ou une *zone* où les espèces visées à l'article 10.5.2. sont présentes mais où l'apparition détectable de l'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon n'a pas été ~~détectée~~ observée peut déposer une *auto-déclaration d'absence* d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon, sous réserve :
  - a) que les *conditions élémentaires de sécurité biologique* soient réunies sans discontinuer dans ce *compartiment* ou cette *zone* depuis au moins deux ans, et
  - b) qu'une *surveillance ciblée*, telle que celle définie au chapitre 1.4., soit en place dans ce *compartiment* ou cette *zone* depuis au moins deux ans et sans que la présence de l'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon ~~ne soit pas~~ décelée.

OU

- 3) Une *zone* précédemment déclarée indemne d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon mais où la présence de l'*infection* a été détectée à une date postérieure, peut de nouveau être déclarée indemne d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon si elle satisfait aux conditions suivantes :



- a) dès la détection de l'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon, le secteur touché doit avoir été déclaré *zone infectée* et une *zone de protection* doit avoir été établie, et
- b) les populations infectées doivent avoir été détruites ou éliminées de la *zone infectée* par des moyens réduisant autant que possible le *risque* de nouvelle propagation du virus de l'anémie infectieuse du saumon de la maladie, et les mesures de *désinfection* appropriées doivent avoir été exécutées (voir *Manuel aquatique*), et
- c) une *surveillance ciblée*, telle que celle définie au chapitre 1.4., doit avoir été mise en place dans cette *zone* depuis au moins deux ans et la présence d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon ne doit pas avoir été décelée, et
- d) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* prévalant antérieurement doivent avoir été examinées et modifiées si nécessaire ; ces conditions devront être en place dans cette *zone* tel que stipulé depuis ~~au moins deux ans~~ suivant l'éradication de la *maladie*.

## Article 10.5.7.

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

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

Un *compartiment* ou une *zone* situé(e) sur le *territoire* d'un pays, ou d'un ensemble de pays, non déclaré indemne d'infection par des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon peut être déclaré(e) indemne par l'*Autorité compétente* de ce pays, ou par les *Autorités compétentes* de cet ensemble de pays, si ce *compartiment* ou cette *zone* satisfait aux conditions requises aux points 1, 2 ~~ou 3 ou 4~~ ci-après.

- 1) ~~Un *compartiment* ou une *zone* où n'est présente aucune espèce sensible peut être déclaré(e) indemne d'infection par des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon si les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer dans ce *compartiment* ou cette *zone* depuis au moins deux ans.~~

OU

- 2) Un *compartiment* ou une *zone* où les espèces visées à l'article 10.5.2. sont présentes mais où aucune manifestation clinique connue de l'infection par des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon n'a été détectée enregistrée depuis au moins dix ans malgré l'existence de conditions propices à ~~son~~ expression une manifestation clinique, comme indiqué au chapitre correspondant du *Manuel aquatique*, peut être déclaré(e) indemne d'infection par des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon si les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer dans ce *compartiment* ou cette *zone* depuis au moins dix ans.

OU

- 3) Un *compartiment* ou une *zone* où la dernière ~~apparition~~ manifestation clinique connue de l'infection par des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon a été détectée enregistrée au cours des dix dernières années, ou dont le statut sanitaire au regard de la *maladie* était inconnu avant la mise en place d'une *surveillance ciblée* (en raison, par exemple, de l'absence de conditions propices à ~~son~~ expression une manifestation clinique comme indiqué au chapitre correspondant du *Manuel aquatique*), peut être déclaré(e) indemne d'infection par des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon, sous réserve :

- a) que les *conditions élémentaires de sécurité biologique* soient réunies sans discontinuer dans ce *compartiment* ou cette *zone* depuis au moins deux ans, et
- b) qu'une *surveillance ciblée*, telle que celle définie au chapitre 1.4., soit en place dans ce *compartiment* ou cette *zone* depuis au moins deux ans ~~et sans~~ que la présence d'infection par des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon ~~ne soit pas~~ décelée.

OU

- 4) Une *zone* précédemment déclarée indemne d'infection par des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon, mais dans laquelle l'*infection* a été détectée à une date postérieure, peut de nouveau être déclarée indemne d'infection par des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon si elle satisfait aux conditions suivantes :

Annexe 7 (suite)

- a) dès la détection de l'infection par des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon, le secteur touché doit avoir été déclaré *zone infectée* et une *zone de protection* doit avoir été établie, et
- b) les populations infectées doivent avoir été détruites ou éliminées de la *zone infectée* par un moyen réduisant autant que possible le *risque* de nouvelle propagation des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon, et les mesures de *désinfection* appropriées doivent avoir été exécutées (voir *Manuel aquatique*), et
- c) une *surveillance ciblée*, telle que celle définie au chapitre 1.4., doit avoir été mise en place depuis au moins deux ans et la présence d'infection par des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon ne doit pas avoir été décelée, et
- d) les *conditions élémentaires de sécurité biologique* prévalant antérieurement doivent avoir été examinées et modifiées si nécessaire ; ces conditions devront être en place sans discontinuer tel que stipulé depuis ~~au moins deux ans~~ suivant l'éradication de la *maladie*.

## Article 10.5.8.

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

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

Aux termes des dispositions prévues par le point 1 énoncé, suivant le cas, à l'article 10.5.4. ou à l'article 10.5.6., un pays, une *zone* ou un *compartiment* déclaré(e) indemne d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon peut conserver son statut indemne au regard de cette *infection* sous réserve que les *conditions élémentaires de sécurité biologique* soient maintenues sans discontinuer.

Aux termes des dispositions prévues par le point 2 énoncé, suivant le cas, à l'article 10.5.4. ou à l'article 10.5.6., un pays, une *zone* ou un *compartiment* déclaré(e) indemne d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon ~~doit continuer à exercer une surveillance ciblée afin de conserver son statut indemne au regard de cette infection, peut conserver son statut indemne au regard de cette infection sous réserve que la surveillance ciblée soit poursuivie à un niveau défini par le Service chargé de la santé des animaux aquatiques en rapport avec la probabilité d'introduction de l'infection et que~~ les *conditions élémentaires de sécurité biologique* doivent être maintenues sans discontinuer.

## Article 10.5.9.

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

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

Aux termes des dispositions prévues par le point 1 ou le point 2 énoncés, suivant le cas, à l'article 10.5.5. ou à l'article 10.5.7., un pays, une *zone* ou un *compartiment* déclaré(e) indemne d'infection par des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon peut conserver son statut indemne au regard de cette *infection* sous réserve que les *conditions élémentaires de sécurité biologique* soient maintenues sans discontinuer.

Aux termes des dispositions prévues par le point 3 énoncé, suivant le cas, à l'article 10.5.5. ou à l'article 10.5.7., un pays, une *zone* ou un *compartiment* déclaré(e) indemne d'infection par des variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon peut interrompre la *surveillance ciblée* tout en conservant son statut indemne au regard de cette *infection*, sous réserve que les conditions propices à une manifestation ~~l'expression~~ clinique, comme indiqué au chapitre correspondant du *Manuel aquatique*, soient réunies et que les *conditions élémentaires de sécurité biologique* soient maintenues sans discontinuer.

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

## Article 10.5.10.

**Importation d'animaux aquatiques vivants à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment déclaré(e) indemne d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon**

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

Lors d'une importation d'*animaux aquatiques* vivants appartenant aux espèces visées à l'article 10.5.2. à partir d'un pays, d'une zone ou d'un *compartiment* déclaré(e) indemne d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon, l'*Autorité compétente* du pays importateur doit exiger la présentation d'un *certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques* délivré par l'*Autorité compétente* du pays exportateur ou par un *agent certificateur* agréé par le pays importateur. Le *certificat* doit attester sur la base des procédures décrites aux articles 10.5.4. ou 10.5.6. (suivant le cas) et 10.5.8. que le lieu de production des *animaux aquatiques* est un pays, une zone ou un *compartiment* déclaré(e) indemne d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon.

Ce *certificat* doit être conforme au modèle reproduit au chapitre 5.11.

Le présent article ne s'applique pas aux *marchandises* énumérées au point 1 de l'article 10.5.3.

## Article 10.5.11.

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

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

Lors d'une importation d'*animaux aquatiques* vivants appartenant aux espèces visées à l'article 10.5.2. à partir d'un pays, d'une zone ou d'un *compartiment* déclaré(e) indemne d'infection par les variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon, l'*Autorité compétente* du pays importateur doit exiger la présentation d'un *certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques* délivré par l'*Autorité compétente* du pays exportateur ou par un *agent certificateur* agréé par le pays importateur. Le *certificat* doit attester sur la base des procédures décrites aux articles 10.5.5. ou 10.5.7. (suivant le cas) et 10.5.9. que le lieu de production des *animaux aquatiques* est un pays, une zone ou un *compartiment* déclaré(e) indemne d'infection par les variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon.

Ce *certificat* doit être conforme au modèle reproduit au chapitre 5.11.

Le présent article ne s'applique pas aux *marchandises* énumérées au point 1 de l'article 10.5.3.

## Article 10.5.12.

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

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

- 1) Lors de l'importation à des fins d'aquaculture d'*animaux aquatiques* vivants appartenant aux espèces visées à l'article 10.5.2. à partir d'un pays, d'une zone ou d'un *compartiment* non déclaré(e) indemne d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon, l'*Autorité compétente* du pays importateur doit apprécier le *risque* associé au type de *marchandise* susvisé et, si la situation le justifie, appliquer les mesures énoncées ci-dessous afin de réduire ce *risque* :
  - a) la livraison directe du chargement et son maintien à vie dans des installations assurant la sécurité biologique en l'isolant du milieu environnant d'une manière permanente, et
  - b) le traitement de tous les effluents et de tous les déchets de manière à assurer l'inactivation du virus de l'anémie infectieuse du saumon.

Annexe 7 (suite)

- 2) Si l'opération d'importation a pour objet d'établir une nouvelle population, il convient d'appliquer les aspects pertinents du Code de conduite pour les introductions et les transferts d'organismes marins du Conseil international pour l'exploration de la mer (CIEM).
- 3) Aux fins de l'application du *Code aquatique*, les aspects pertinents du Code de conduite précité (dont le texte complet peut être consulté sur le site internet du CIEM à l'adresse suivante : <http://www.ices.dk/publications/our-publications/Pages/Miscellaneous.aspx>) peuvent se résumer comme suit :
  - a) identifier les populations d'intérêt (d'élevage ou sauvages) dans leur site d'origine ;
  - b) évaluer l'état sanitaire des populations et leurs antécédents pathologiques ;
  - c) prélever et analyser des échantillons afin de rechercher la présence du virus de l'anémie infectieuse du saumon ou de parasites et d'évaluer l'état de santé et le statut sanitaire de la population ;
  - d) importer et mettre en *quarantaine* dans une installation sécurisée une population de géniteurs (F-0) ;
  - e) produire une génération F-1 à partir de la population F-0 mise en *quarantaine* ;
  - f) élever la population F-1 et, aux stades critiques du développement (cycle biologique), effectuer des prélèvements et les analyser pour mettre en évidence la présence du virus de l'anémie infectieuse du saumon et étendre les investigations à la recherche de parasites afin de déterminer l'état de santé et le statut sanitaire de la population ;
  - g) si ni la présence du virus de l'anémie infectieuse du saumon ni celle de parasites ne sont décelées et s'il est considéré que l'état de santé et le statut sanitaire de la population répondent aux *conditions élémentaires de sécurité biologique* qui prévalent dans le pays, la *zone* ou le *compartiment* d'importation, la population F-1 pourra être reconnue indemne d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon ou indemne de l'*agent pathogène* spécifique de cette *maladie* ;
  - h) sortir de *quarantaine* la population F-1 indemne de l'*agent pathogène* spécifique et l'introduire à des fins d'*aquaculture* ou de repeuplement dans le pays, la *zone* ou le *compartiment*.
- 4) Concernant les dispositions énoncées à l'alinéa e) du point 3, les conditions de *quarantaine* doivent créer un milieu propice à la multiplication des *agents pathogènes* et éventuellement à l'expression de signes cliniques. Si les conditions de *quarantaine* ne servaient pas de milieu favorable à la multiplication et au développement des *agents pathogènes*, l'approche diagnostique, faisant l'objet de la présente recommandation, pourrait ne pas être suffisamment sensible pour détecter des *infections* de bas niveau.

Le présent article ne s'applique pas aux *animaux aquatiques* énumérés au point 1 de l'article 10.5.3.

## Article 10.5.13.

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

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

Lors de l'importation, à des fins de transformation pour la consommation humaine, d'*animaux aquatiques* ou de *produits issus d'animaux aquatiques* appartenant aux espèces visées à l'article 10.5.2. à partir d'un pays, d'une *zone* ou d'un *compartiment* non déclaré(e) indemne d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon, l'*Autorité compétente* du *pays importateur* doit apprécier le *risque* associé à ce type de *marchandise* et, si la situation le justifie, exiger :

- 1) la livraison directe du chargement et son entreposage dans des installations de *quarantaine* ou biosécurisées jusqu'au moment de sa transformation, soit en l'un des produits énumérés au point 1 de l'article 10.5.3., soit en l'un des produits décrits au point 1 de l'article 10.5.16., soit en l'un des autres produits autorisés par l'*Autorité compétente*, et
- 2) le traitement de l'eau utilisée pour le transport et celui de tous les effluents et ~~de tous les~~ déchets résultant des opérations de transformation de manière à assurer l'inactivation du virus de l'anémie infectieuse du saumon ou leur élimination de manière à prévenir tout contact avec les *espèces sensibles*.

Lorsqu'ils l'estiment nécessaire, les Pays Membres peuvent prendre des mesures au niveau national, visant à limiter les risques associés à l'utilisation du type de *marchandise* susvisé à des fins autres que la consommation humaine.

Article 10.5.14.

**Importation d'animaux aquatiques vivants appelés à entrer dans la composition d'aliments pour animaux ou destinés à des usages agricoles, industriels ou pharmaceutiques, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré(e) indemne d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon**

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

Lors de l'importation à des fins d'alimentation animale, ou pour des usages agricoles, industriels ou pharmaceutiques, d'*animaux aquatiques* vivants appartenant aux espèces visées à l'article 10.5.2. à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré(e) indemne d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon, l'*Autorité compétente* du pays importateur doit exiger :

- 1) la livraison directe du chargement et son maintien dans des installations de *quarantaine* en vue d'y être abattu et transformé en des produits autorisés par l'*Autorité compétente*, et
- 2) le traitement de l'eau utilisée pour le transport et celui de tous les effluents et de tous les déchets résultant des opérations de transformation de manière à assurer l'inactivation du virus de l'anémie infectieuse du saumon.

Le présent article ne s'applique pas aux *marchandises* énumérées au point 1 de l'article 10.5.3.

Article 10.5.15.

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

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

Lors d'une importation de *produits issus d'animaux aquatiques* appartenant aux espèces visées à l'article 10.5.2. à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment déclaré(e) indemne d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon, l'*Autorité compétente* du pays importateur doit exiger la présentation d'un *certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques* délivré par l'*Autorité compétente* du pays exportateur ou par un *agent certificateur* agréé par le pays importateur. Le *certificat* doit attester sur la base des procédures décrites aux articles 10.5.4. à l'article 10.5.5., à l'article 10.5.6. ou 10.5.7. (suivant le cas) et 10.5.8. que le lieu de production de la *marchandise* est un pays, une zone ou un compartiment déclaré(e) indemne d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon.

Ce *certificat* doit être conforme au modèle reproduit au chapitre 5.11.

Le présent article ne s'applique pas aux *marchandises* énumérées au point 1 de l'article 10.5.3.

Article 10.5.15. bis

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

Les dispositions énoncées au présent article impliquent que le pays, la zone ou le compartiment sont indemnes d'infection par les variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon, mais pas nécessairement indemnes d'infection par les variants HPR0.

Lors d'une importation de *produits issus d'animaux aquatiques* appartenant aux espèces visées à l'article 10.5.2. à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment déclaré(e) indemne d'infection par les variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon, l'*Autorité compétente* du pays importateur doit exiger la présentation d'un *certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques* délivré par l'*Autorité compétente* du pays exportateur ou par un *agent certificateur* agréé par le pays importateur. Le *certificat* doit attester, sur la base des procédures fixées aux articles 10.5.5. ou 10.5.7. (suivant le cas) et 10.5.9. que le lieu de production de la *marchandise* est un pays, une zone ou un compartiment déclaré(e) indemne d'infection par les variants délétés dans la RHP du virus de l'anémie infectieuse du saumon.

Annexe 7 (suite)

Ce certificat doit être conforme au modèle reproduit au chapitre 5.11.

Le présent article ne s'applique pas aux marchandises énumérées au point 1 de l'article 10.5.3.

## Article 10.5.16.

**Importation d'animaux aquatiques et de produits issus d'animaux aquatiques pour la vente au détail de marchandises destinées à la consommation humaine, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré(e) indemne d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon**

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

- 1) Quel que soit le statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard du virus de l'anémie infectieuse du saumon, les *Autorités compétentes* ne doivent imposer aucune condition liée à l'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon quand elles autorisent l'importation ou le transit par leur territoire des marchandises suivantes qui ont été préparées et emballées pour la vente au détail lorsqu'elles satisfont aux conditions requises à l'article 5.4.2. :

- a) filets ou darnes / pavés de poisson (congelés ou réfrigérés).

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

Lorsqu'ils l'estiment nécessaire, les Pays Membres peuvent prendre des mesures au niveau national, visant à limiter les risques associés à l'utilisation du type de *marchandise* susvisé à des fins autres que la consommation humaine.

- 2) Lors d'une importation d'*animaux aquatiques* ou de *produits issus d'animaux aquatiques*, à l'exclusion de ceux énumérés au point 1 ci-dessus, appartenant aux espèces visées à l'article 10.5.2. à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré(e) indemne d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon, l'*Autorité compétente du pays importateur* doit apprécier le risque associé au type de *marchandise* susvisé et appliquer des mesures appropriées visant à réduire ce risque.

## Article 10.5.17.

**Importation d'œufs désinfectés destinés à l'aquaculture à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré(e) indemne d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon**

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

- 1) L'*Autorité compétente* du pays importateur, lorsqu'elle autorise l'importation d'œufs désinfectés destinés à son aquaculture d'une des espèces visées à l'article 10.5.2., à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré(e) indemne d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon, doit au moins apprécier le risque associé :

- a) au statut sanitaire au regard du virus de l'anémie infectieuse du saumon de l'eau utilisée pour la désinfection des œufs ;
- b) à la prévalence de l'infection due au virus de l'anémie infectieuse du saumon chez les géniteurs (dans le liquide ovarien et la laitance), et
- c) à la température et au pH de l'eau utilisée lors de l'opération de désinfection.

- 2) L'*Autorité compétente* du pays importateur, si elle arrive à la conclusion que l'importation peut être acceptée, doit alors appliquer les mesures ci-après afin de réduire les risques encourus :

Annexe 7 (suite)

- a) les œufs doivent être désinfectés préalablement à leur importation selon les méthodes décrites dans le chapitre 1.1.3. du *Manuel aquatique* (à l'étude) ou celles requises par l'*Autorité compétente* du *pays importateur*, et
- b) il est nécessaire que les œufs désinfectés et destinés à l'importation n'entrent pas en contact avec du matériel susceptible de détériorer leur statut sanitaire.

Lorsqu'ils l'estiment nécessaire, les Pays Membres peuvent prendre des mesures au niveau national, telles que le renouvellement de l'opération de *désinfection* des œufs dès l'arrivée dans le *pays importateur*.

- 3) L'*Autorité compétente* du *pays importateur*, lorsqu'elle autorise l'importation d'œufs désinfectés destinés à son *aquaculture* d'une des espèces visées à l'article 10.5.2., à partir d'un pays, d'une *zone* ou d'un *compartiment* non déclaré(e) indemne d'infection par le virus de l'anémie infectieuse du saumon, doit exiger qu'ils soient accompagnés d'un *certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques* délivré par l'*Autorité compétente* du *pays exportateur* ou par un *agent certificateur* agréé par le *pays importateur*, attestant que les mesures désignées prévues au point 2 du présent article ont été appliquées.

---

-----

— Texte supprimé





**CHAPITRE X.X. TYPE  
PRÉSENTANT LES CHANGEMENTS HORIZONTALAUX**

CHAPITRE X. X.

**MALADIE X**

[...]

Article X.X.4.

**Pays indemne de « Maladie X »**

Un pays peut déposer une *auto-déclaration d'absence* de « Maladie X » s'il satisfait aux conditions requises aux points 1, 2, 3 ou 4 ci-après.

En cas de partage d'une *zone* avec un ou plusieurs autres pays, un pays ne peut déposer une *auto-déclaration d'absence* de « Maladie X » que si tous les secteurs couverts par les eaux partagées sont déclarés pays ou *zones* indemnes de cette *maladie* (voir article X.X.5.).

1) Un pays dans lequel n'est présente aucune *espèce sensible* peut déposer une *auto-déclaration d'absence* de « Maladie X » si les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer sur son *territoire* depuis au moins deux ans.

OU

2) Un pays dans lequel les espèces visées à l'article X.X.2. sont présentes mais où ~~la~~ aucune présence de manifestation clinique connue de « Maladie X » n'a ~~pas~~ été observée enregistrée depuis au moins dix ans malgré l'existence de conditions propices à ~~son expression~~ une manifestation clinique, comme indiqué au chapitre correspondant du *Manuel aquatique*, peut déposer une *auto-déclaration d'absence* de « Maladie X » si les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer sur son *territoire* depuis au moins dix ans.

OU

3) ~~Un pays dans lequel la dernière manifestation clinique connue de la maladie a été observée au cours des dix dernières années, ou dont le statut sanitaire au regard de l'infection de la maladie était inconnu avant la mise en place d'une surveillance ciblée (en raison, par exemple, de l'absence de conditions propices à son expression clinique comme indiqué au chapitre correspondant du Manuel aquatique),~~ peut déposer une *auto-déclaration d'absence* de « Maladie X », sous réserve :

- a) que les *conditions élémentaires de sécurité biologique* soient réunies sans discontinuer sur son *territoire* depuis au moins deux ans, et
- b) qu'une *surveillance ciblée*, telle que celle définie au chapitre 1.4., soit en place sur son *territoire* depuis au moins deux ans ~~et sans~~ que la présence de « Maladie X » ~~ne soit pas~~ décelée.

OU

4) Un pays ayant déposé une *auto-déclaration d'absence* de « Maladie X » mais décelé la présence de la *maladie* à une date postérieure, peut de nouveau déposer une *auto-déclaration* pour cette *maladie* s'il est satisfait aux conditions suivantes :

## Annexe 8 (suite)

- a) dès la détection de la *maladie*, le secteur touché doit avoir été déclaré *zone infectée* et une *zone de protection* doit avoir été établie, et
- b) les populations infectées doivent avoir été détruites ou éliminées de la *zone infectée* par un moyen réduisant autant que possible le *risque* de nouvelle propagation de la *maladie*, et les mesures de *désinfection* indiquées doivent avoir été exécutées (voir *Manuel aquatique*), et
- c) une *surveillance ciblée*, telle que celle définie au chapitre 1.4., doit avoir été mise en place depuis au moins deux ans et la présence de « Maladie X » ne doit pas avoir été décelée, et
- d) les *conditions* prévalant antérieurement doivent avoir été examinées et, si nécessaire, modifiées ; les *conditions élémentaires de sécurité biologique* devront être en place tel que stipulé depuis ~~au moins deux ans~~ l'éradication de la maladie.

Entre-temps, une partie du secteur non touché peut être déclarée *zone indemne*, sous réserve qu'elle remplisse les conditions requises au point 3 de l'article X.X.5.

## Article X.X.5.

**Compartiment ou zone indemne de maladie X**

Un *compartiment* ou une *zone* situé(e) sur le *territoire* d'un pays, ou d'un ensemble de pays, non déclaré indemne de maladie X peut être déclaré(e) indemne par l'*Autorité compétente* de ce pays, ou par les *Autorités compétentes* de cet ensemble de pays, si ce *compartiment* ou cette *zone* satisfait aux conditions requises aux points 1, 2, 3 ou 4 ci-après.

En cas d'extension au-delà des frontières d'un pays, un *compartiment* ou une *zone* ne peut être déclaré(e) indemne de « Maladie X » que si toutes les *Autorités compétentes* confirment que les conditions voulues ont été remplies.

- 1) Un *compartiment* ou une *zone* où n'est présente aucune *espèce sensible* peut être déclaré(e) indemne de « Maladie X » si les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins deux ans.

OU

- 2) Un *compartiment* ou une *zone* où les espèces visées à l'article X.X.2. sont présentes mais où ~~la présence de aucune manifestation clinique connue de~~ « Maladie X » n'a pas été observée enregistrée depuis au moins dix ans malgré l'existence de conditions propices à ~~son~~ une expression manifestation clinique, comme indiqué au chapitre correspondant du *Manuel aquatique*, peut être déclaré(e) indemne de la *maladie* si les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins dix ans.

OU

- 3) Un *compartiment* ou une *zone* où ~~la dernière manifestation clinique connue de la maladie a été observée au cours des dix dernières années, ou~~ dont le statut sanitaire au regard de l'infection de la maladie était inconnu avant la mise en place d'une *surveillance ciblée* (~~en raison, par exemple, de l'absence de conditions propices à son expression clinique comme indiqué au chapitre correspondant du Manuel aquatique~~), peut être déclaré(e) indemne de « Maladie X », sous réserve :
  - a) que les *conditions élémentaires de sécurité biologique* soient réunies sans discontinuer depuis au moins deux ans, et
  - b) qu'une *surveillance ciblée*, telle que celle définie au chapitre 1.4., soit en place depuis au moins deux ans et que la présence de « Maladie X » ne soit pas décelée.

OU

- 4) Une *zone* déclarée indemne de « Maladie X » mais dans laquelle la présence de la *maladie* a été décelée à une date postérieure, peut de nouveau être déclarée indemne de « Maladie X » s'il est satisfait aux conditions suivantes :
- a) dès la détection de la *maladie*, le secteur touché doit avoir été déclaré *zone infectée* et une *zone de protection* doit avoir été établie, et
  - b) les populations infectées doivent avoir été détruites ou éliminées de la *zone infectée* par un moyen réduisant autant que possible le *risque* de nouvelle propagation de « Maladie X », et les mesures de *désinfection* indiquées doivent avoir été exécutées (voir *Manuel aquatique*), et
  - c) une *surveillance ciblée*, telle que celle définie au chapitre 1.4., doit avoir été mise en place depuis au moins deux ans et la présence de « Maladie X » ne doit pas avoir été décelée, et
  - d) les *conditions* prévalant antérieurement doivent avoir été examinées et, si nécessaire, modifiées ; les *conditions élémentaires de sécurité biologique* devront être en place tel que stipulé depuis ~~au moins deux ans~~ l'éradication de la maladie.

[...]

Article X.X.7.

**Importation d'animaux aquatiques vivants à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment déclaré(e) indemne de « Maladie X »**

Lors d'une importation d'*animaux aquatiques* vivants appartenant aux espèces visées à l'article X.X.2. à partir d'un pays, d'une *zone* ou d'un *compartiment* déclaré(e) indemne de « Maladie X », l'*Autorité compétente* du *pays importateur* doit exiger la présentation d'un *certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques* délivré par l'*Autorité compétente* du *pays exportateur* ou par un *agent certificateur* agréé par le *pays importateur*. Le *certificat* doit attester sur la base des procédures décrites aux articles X.X.4. ou X.X.5. (suivant le cas) et X.X.6. que le lieu de production des *animaux aquatiques* est un pays, une *zone* ou un *compartiment* déclaré(e) indemne de « Maladie X ».

Ce *certificat* doit être conforme au modèle reproduit au chapitre 5.11.

Le présent article ne s'applique pas aux *marchandises* énumérées au point 1 de l'article 10.X.3.

[...]

## Annexe 8 (suite)

## Article X.X.9.

**Importation d'animaux aquatiques et de produits issus d'animaux aquatiques à des fins de transformation pour la consommation humaine, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré(e) indemne de « Maladie X »**

Lors de l'importation, à des fins de transformation pour la consommation humaine, d'*animaux aquatiques* ou de *produits issus d'animaux aquatiques* appartenant aux espèces visées à l'article X.X.2. à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré(e) indemne de « Maladie X », l'*Autorité compétente* du *pays importateur* doit apprécier le risque associé à ce type de *marchandise* et, si la situation le justifie, exiger :

- 1) la livraison directe du chargement et son entreposage dans des installations de *quarantaine* ou biosécurisées jusqu'au moment de sa transformation, soit en l'un des produits énumérés au point 1 de l'article X.X.3., soit en l'un des produits décrits au point 1 de l'article X.X.12., soit en l'un des autres produits autorisés par l'*Autorité compétente*, et
- 2) le traitement de l'eau utilisée pour le transport et celui des effluents et ~~des~~ déchets résultant des opérations de transformation de manière à assurer l'inactivation de la « Maladie X » ou leur élimination de manière à prévenir tout contact avec les *espèces sensibles*.

Lorsqu'ils l'estiment nécessaire, les Pays Membres peuvent prendre des mesures au niveau national, visant à limiter les risques associés à l'utilisation du type de *marchandise* susvisé à des fins autres que la consommation humaine.

## Article X.X.10.

**Importation d'animaux aquatiques vivants appelés à entrer dans la composition de produits d'aliments pour animaux ou destinés à des usages agricoles, industriels ou pharmaceutiques, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré(e) indemne de « Maladie X »**

Lors de l'importation à des fins d'alimentation animale, ou pour des usages agricoles, industriels ou pharmaceutiques, d'*animaux aquatiques* vivants appartenant aux espèces visées à l'article X.X.2., à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré(e) indemne de « Maladie X », l'*Autorité compétente* du *pays importateur* doit exiger :

- 1) la livraison directe du chargement et son maintien dans des installations de *quarantaine* en vue d'y être abattu et transformé en des produits autorisés par l'*Autorité compétente*, et
- 2) le traitement de l'eau utilisée pour le transport et celui de tous les effluents et ~~de tous les~~ déchets résultant des opérations de transformation de manière à assurer l'inactivation de la « Maladie X ».

Le présent article ne s'applique pas aux *marchandises* énumérées au point 1 de l'article X.X.3.

Article X.X.11. (dans les chapitres sur les poissons et les amphibiens)  
et Article X.X.10. (dans les chapitres sur les mollusques et les crustacés)

**Importation de produits issus d'animaux aquatiques à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment déclaré(e) indemne de « Maladie X »**

Lors d'une importation de *produits issus d'animaux aquatiques* appartenant aux espèces visées à l'article X.X.2. à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment déclaré(e) indemne de « Maladie X », l'*Autorité compétente* du *pays importateur* doit exiger la présentation d'un *certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques* délivré par l'*Autorité compétente* du *pays exportateur* ou par un *agent certificateur* agréé par le *pays importateur*. Le *certificat* doit attester sur la base des procédures décrites aux articles X.X.4. ou X.X.5. (suivant le cas) et X.X.6. que le lieu de production de la *marchandise* est un pays, une zone ou un compartiment déclaré(e) indemne de « Maladie X ».

Ce *certificat* doit être conforme au modèle reproduit au chapitre 5.11.

Le présent article ne s'applique pas aux *marchandises* énumérées au point 1 de l'article X.X.3.

[...]

-----  
— Texte supprimé

## CHAPITRE X.X

**CRITÈRES PERMETTANT DE DÉTERMINER  
LA SENSIBILITÉ DES ANIMAUX AQUATIQUES  
À DES AGENTS PATHOGÈNES SPÉCIFIQUES  
D'INSCRIPTION SUR LA LISTE DES ESPÈCES  
SENSIBLES À UNE INFECTION PAR UN AGENT  
PATHOGÈNE SPÉCIFIQUE**

## Article X.X.1.

L'objectif du présent chapitre est de proposer des critères permettant de déterminer les espèces *sensibles* à même de figurer sur la liste des espèces sensibles de l'article X.X.2. de chaque chapitre traitant d'une *maladie* spécifique du *Code aquatique* ainsi que dans celle de l'article 2.2.1. de chaque chapitre traitant d'une *maladie* spécifique du *Manuel aquatique*.

## Article X.X.2.

**Champs d'application**

~~Ce chapitre propose des critères permettant de déterminer quelles espèces doivent figurer sur la liste des espèces sensibles à une *infection* par un agent étiologique répertorié dans la liste des *maladies*. La sensibilité à une *infection* ne se traduit pas nécessairement par des manifestations cliniques. Ce chapitre ne propose pas de critères permettant d'identifier les Toutefois, les vecteurs mécaniques (c'est-à-dire les espèces pouvant être porteuses de l'agent pathogène étiologique sans que ce dernier ne se multiplie) ne doivent pas être considérés comme appartenant aux espèces sensibles.~~

~~La décision d'inclure une espèce dans la liste des espèces sensibles doit reposer sur des preuves solides. Cependant, le fait qu'une espèce soit potentiellement sensible constitue également une information importante, et, à ce titre, devrait figurer à la section 2.2.1. du chapitre traitant de la maladie du *Manuel aquatique*.~~

## Article X.X.3.

**Approche**

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

- 1) critères permettant de déterminer si la voie de transmission de l'*infection* utilisée correspond aux voies de transmission naturelles ~~(telles que décrites tels que décrits à l'article X.X.4.)~~;
- 2) critères permettant de déterminer si l'agent étiologique a été identifié selon une technique donnée (tels que décrits à l'article X.X.5.)
- 3) critères permettant de déterminer, ~~à l'aide des critères énumérés à l'article X.X.6.,~~ si la présence de l'agent étiologique est suffisante pour conclure à l'*infection* ~~(tels que décrits à l'article X.X.6.)~~.

## Article X.X.4.

**Étape 1 : critères permettant de déterminer si la voie de transmission de l'infection utilisée correspond aux voies de transmission naturelles de détermination du mode de transmission de l'infection**

Les preuves ayant permis de déterminer la voie de transmission doivent être classées selon la méthode utilisée pour les obtenir, dans une des trois catégories suivantes : i) ~~apparition naturelle,~~ ii) ~~procédure expérimentale non invasive,~~ ou iii) ~~procédure expérimentale invasive.~~

- a) l'apparition naturelle, qui regroupe l'ensemble des situations où l'infection est apparue sans intervention expérimentale directe (par exemple, apparition spontanée de l'infection au sein de populations sauvages ou d'élevage) ; ou

## Annexe 9 (suite)

- b) la procédure expérimentale non invasive, qui consiste en une induction de l'infection par cohabitation avec des hôtes infectés, par immersion ou par ingestion ; ou
- c) la procédure expérimentale invasive, qui consiste en une induction de l'infection par injection, par exposition à des concentrations anormalement élevées d'agents pathogènes ou à des facteurs de stress (température par exemple) auxquels l'hôte n'est pas soumis dans son environnement naturel ou milieu d'élevage.

Il est important de savoir si les conditions expérimentales (par exemple : voie d'administration, titre infectieux, état de stress de l'hôte) reproduisent les conditions naturelles de transmission de la *maladie*.

### Article X.X.5.

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

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

~~Dans certains cas, il a été procédé à l'identification de l'agent étiologique mais cette identification présumée n'a pas été confirmée selon les méthodes du *Manuel aquatique*.~~

### Article X.X.6.

#### **Étape 3 : critères permettant de déterminer si la présence de l'agent étiologique est suffisante pour conclure à l'infection**

~~Une combinaison des~~ Les critères suivants ~~doit~~ doivent être utilisés ~~pour~~ pouvoir conclure à la présence de l'infection (voir l'article X.X.7.):

- A. l'agent étiologique se multiplie, ou se développe ~~ou est à l'état latent~~ dans ou sur l'hôte ;
- B. l'agent étiologique a été isolé chez les *espèces sensibles* proposées ou ~~sa viabilité~~ son infectiosité a été ~~mise en évidence~~ démontrée lors de transmission à des individus naïfs (~~par la voie de transmission naturelle~~) ;
- C. il y a des modifications cliniques ~~et/ou~~ pathologiques associées à l'*infection* ;
- D. la localisation de l'agent pathogène est spécifique (par exemple, dans un ou plusieurs types de tissus).

Le type de preuves permettant de satisfaire aux critères énoncés dépendra de l'agent étiologique et des espèces hôtes potentielles considérées.

### Article X.X.7.

#### **Résultats de l'évaluation**

~~Les espèces sensibles peuvent être classées dans la catégorie 1) « possiblement sensibles » ou dans la catégorie 2) « définitivement sensibles ».~~

La décision d'inscrire une espèce sur la liste des espèces sensibles doit être motivée par l'établissement de l'existence d'éléments de preuve suffisants. Les éléments de preuve fournis doivent concerner les aspects suivants :

#### 1- Espèces possiblement sensibles :

- 1a) la transmission s'est effectuée de façon naturelle ou a été réalisée dans des conditions expérimentales reproduisant les conditions naturelles de l'*infection*, conformément à l'article X.X.4. ;

ET

- 2b) l'identification de l'agent étiologique a été réalisée mais cette identification présumée n'a pas été confirmée conformément à l'article X.X.5. ;

ET

- 3e) il existe des preuves de l'*infection* par l'agent étiologique chez les espèces suspectées d'être sensibles, conformément aux critères A à D figurant à l'article X.X.6. Les preuves permettant de satisfaire au critère A sont suffisantes pour conclure à l'*infection*. En l'absence de preuves permettant de satisfaire au critère A, il est requis de satisfaire au moins à deux des trois critères B, C et D pour conclure à l'*infection*.

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

Lorsqu'il existe des preuves mais que ces dernières sont insuffisantes pour démontrer de façon certaine la sensibilité d'une espèce, parce que soit la transmission n'a pas été réalisée dans des conditions expérimentales reproduisant les conditions naturelles de l'*infection*, soit l'identification de l'agent étiologique n'a pas été confirmée, soit les critères n'ont pas été réunis pour conclure à l'*infection*, cette information doit figurer dans le chapitre traitant de la maladie concernée du *Manuel Aquatique*.

Lorsque ces espèces sont suspectées d'être impliquées dans la transmission d'un agent pathogène donné, les *Autorités compétentes* doivent réaliser une *analyse de risque*, conformément aux recommandations du *Code aquatique*.

2. Espèces définitivement sensibles :

- a) ~~la transmission a été réalisée dans des conditions expérimentales reproduisant les conditions naturelles de l'*infection*, conformément à l'article X.X.4.;~~

ET

- a) ~~l'agent étiologique a été identifié et son identification confirmée, conformément à l'article X.X.5.;~~

ET

- e) ~~il existe des preuves de l'*infection* par l'agent étiologique chez les espèces suspectées d'être sensibles, conformément à l'article X.X.6. Les preuves permettant de satisfaire au critère A sont suffisantes pour conclure à l'*infection*. En l'absence de preuves permettant de satisfaire au critère A, il est requis de satisfaire au moins à deux des trois critères B, C et D pour conclure à l'*infection*.~~

Article X.X.8.

**Relation taxonomique entre les espèces sensibles**

~~Dans le cas d'agents étiologiques affectant un grand nombre d'hôtes, il est possible de présumer de la sensibilité d'une espèce donnée dès lors qu'une relation taxonomique avec une espèce reconnue sensible est établie. Les espèces peuvent être classées dans la catégorie « espèces possiblement sensibles » si elles appartiennent à un genre comprenant au moins deux espèces sensibles et pour lequel il n'existe pas de preuve tangible de résistance à l'*infection*.~~

~~Définir des espèces comme « possiblement sensibles » sur la base de l'existence de relation taxonomique à un niveau supérieur à celui du genre requiert la preuve indubitable que l'agent pathogène affecte un grand nombre d'hôtes.~~

~~La résistance à l'*infection* doit être mise en évidence par les éléments probants suivants :~~

- ~~1) les résultats des tests appropriés pratiqués sur des animaux exposés, dans des conditions naturelles, à un agent pathogène reconnu présent et responsable de la maladie chez des espèces sensibles, ne révèlent pas la présence de l'*infection*;~~
- ~~2) les résultats des tests appropriés pratiqués sur des animaux exposés à l'agent pathogène, dans des conditions expérimentales proches des conditions naturelles, ne révèlent pas la présence de l'*infection*.~~

— Texte supprimé





## CHAPITRE 10.X.

# INFECTION PAR L'ALPHAVIRUS DES SALMONIDÉS

### Article 10.X.1.

Aux fins de l'application du *Code aquatique*, l'infection par l'alphavirus des Salmonidés désigne l'*infection* causée par n'importe quel sous-type d'alphavirus des salmonidés appartenant au genre Alphavirus au sein de la famille des togaviridés.

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

### Article 10.X.2.

#### Champ d'application

Les recommandations du présent chapitre s'appliquent au saumon atlantique (*Salmo salar*), à la truite brune (*S. trutta*) et à la truite arc-en-ciel (*Onchorynchus mykiss*). Ces recommandations concernent également toutes les autres espèces sensibles visées dans le *Manuel aquatique* lorsqu'elles font l'objet d'échanges internationaux.

### Article 10.X.3.

**Importation ou transit d'animaux aquatiques et de produits issus d'animaux aquatiques indépendamment de l'usage auquel ils sont destinés, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré(e) indemne d'infection par l'alphavirus des salmonidés**

- 1) Quel que soit le statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'alphavirus des salmonidés, les *Autorités compétentes* ne doivent imposer aucune condition liée à l'infection par l'alphavirus des salmonidés quand elles autorisent, pour quelque usage que ce soit, l'importation ou le transit par leur territoire des animaux aquatiques ou des produits issus d'animaux aquatiques énumérés ci-dessous lorsqu'il s'agit d'une espèce visée à l'article 10.X.2. et que ces animaux ou ces produits satisfont aux conditions requises à l'article 5.4.1. :
  - a) produits à base de poisson stérilisés par la chaleur (c'est-à-dire exposés à une température de 121 °C pendant au moins 3,6 minutes ou à une combinaison de température et de temps équivalente au traitement précité) et présentés en conditionnement hermétique ;
  - b) produits pasteurisés à base de poisson ayant subi un traitement thermique à 90 °C pendant au moins 10 minutes ou à une autre combinaison de température et de temps dont l'équivalence a été démontrée en termes d'inactivation de l'alphavirus des salmonidés ;
  - c) poissons éviscérés et séchés par un procédé mécanique (c'est-à-dire ayant subi un traitement thermique à 100 °C pendant au moins 30 minutes ou à une autre combinaison de température et de temps dont l'équivalence a été démontrée en termes d'inactivation de l'alphavirus des salmonidés ;
  - d) huile de poisson ;
  - e) farines de poisson, et
  - f) cuir de peau de poisson]. À l'étude.
- 2) Les *Autorités compétentes*, 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 10.X.2. autres que ceux énumérés au point 1 de l'article 10.X.3., doivent imposer le respect des conditions requises aux articles 10.X.7. à 10.X.12. en fonction du statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'alphavirus des salmonidés.

Annexe 10 (suite)

- 3) Conformément aux recommandations figurant dans le *Code aquatique*, les *Autorités compétentes* doivent procéder à une *analyse des risques* lorsqu'elles envisagent l'importation ou le transit par leur *territoire d'animaux aquatiques* ou de *produits issus d'animaux aquatiques* appartenant à une espèce non visée à l'article 10.X.2. mais dont on peut raisonnablement s'attendre qu'ils posent un *risque* en termes de transmission de l'alphavirus des salmonidés et que le pays, la *zone* ou le *compartiment* d'exportation n'est pas déclaré(e) indemne d'infection par l'alphavirus des salmonidés. Le *pays exportateur* doit être tenu informé du résultat de cette analyse.

Article 10.X.4.

**Pays indemne d'infection par l'alphavirus des salmonidés**

Un pays peut déposer une *auto-déclaration d'absence* d'infection par l'alphavirus des salmonidés s'il satisfait aux conditions requises aux points 1, 2, 3 ou 4 ci-après.

En cas de partage d'une *zone* avec un ou plusieurs autres pays, un pays ne peut déposer une *auto-déclaration d'absence* d'infection par l'alphavirus des salmonidés que si tous les secteurs couverts par les eaux partagées sont déclarés pays ou *zones* indemnes de cette *infection* (voir article 10.X.5.).

- 1) Un pays dans lequel aucune des *espèces sensibles* n'est présente peut déposer une *auto-déclaration d'absence* d'infection par l'alphavirus des salmonidés si les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer sur son *territoire* depuis au moins deux ans.

OU

- 2) Un pays dans lequel les espèces visées à l'article 10.X.2. sont présentes mais où aucune manifestation clinique connue d'infection par l'alphavirus des salmonidés n'a été enregistrée depuis au moins dix ans malgré l'existence de conditions propices à une manifestation clinique, comme indiqué au chapitre correspondant du *Manuel aquatique*, peut déposer une *auto-déclaration d'absence* d'infection par l'alphavirus des salmonidés si les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer sur son *territoire* depuis au moins dix ans.

OU

- 3) Un pays dont le statut sanitaire au regard de la *maladie* était inconnu avant la mise en place d'une *surveillance ciblée*, peut déposer une *auto-déclaration d'absence* d'infection par l'alphavirus des salmonidés, sous réserve :

- a) que les *conditions élémentaires de sécurité biologique* soient réunies sans discontinuer sur son *territoire* depuis au moins deux ans, et
- b) qu'une *surveillance ciblée*, telle que celle définie au chapitre 1.4., soit en place sur son *territoire* depuis au moins deux ans sans que la présence d'infection par l'alphavirus des salmonidés soit décelée.

OU

- 4) Un pays ayant déposé une *auto-déclaration d'absence* d'infection par l'alphavirus des salmonidés mais décelé la présence de la *maladie* à une date postérieure, peut de nouveau déposer une *auto-déclaration* d'infection par l'alphavirus des salmonidés s'il est satisfait aux conditions suivantes :

- a) dès la détection de l'alphavirus des salmonidés, le secteur touché doit avoir été déclaré *zone infectée* et une *zone de protection* doit avoir été établie, et
- b) les populations infectées doivent avoir été détruites ou éliminées de la *zone infectée* par un moyen réduisant autant que possible le *risque* de nouvelle propagation de la *maladie*, et les mesures de *désinfection* indiquées doivent avoir été exécutées (voir *Manuel aquatique*), et

- c) une *surveillance ciblée*, telle que celle définie au chapitre 1.4., doit avoir été mise en place depuis au moins deux ans et la présence de l'alphavirus des salmonidés ne doit pas avoir été décelée, et
- d) les *conditions* prévalant antérieurement doivent avoir été examinées et, si nécessaire, modifiées ; les *conditions élémentaires de sécurité biologique* devront être en place tel que stipulé depuis l'éradication de la *maladie*.

Entre-temps, une partie du secteur non touché peut être déclarée *zone* indemne, sous réserve qu'elle remplisse les conditions requises au point 3 de l'article 10.X.5.

#### Article 10.X.5.

#### Compartiment ou zone indemne d'infection par l'alphavirus des salmonidés

Les dispositions énoncées au présent chapitre impliquent que la zone ou le compartiment sont indemnes d'infection par l'alphavirus des salmonidés.

Un *compartiment* ou une *zone* situé(e) sur le *territoire* d'un pays, ou d'un ensemble de pays, non déclaré indemne d'infection par l'alphavirus des salmonidés peut être déclaré(e) indemne par l'*Autorité compétente* de ce pays, ou par les *Autorités compétentes* de cet ensemble de pays, si ce *compartiment* ou cette *zone* satisfait aux conditions requises aux points 1, 2, 3 ou 4 ci-après.

- 1) Un *compartiment* ou une *zone* où aucune des *espèces sensibles* n'est présente peut être déclaré(e) indemne d'infection par l'alphavirus des salmonidés si les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer sur son *territoire* depuis au moins deux ans.

OU

- 2) Un *compartiment* ou une *zone* où les espèces visées à l'article 10.X.2. sont présentes mais où aucune manifestation clinique connue d'infection par l'alphavirus des salmonidés n'a été enregistrée depuis au moins dix ans malgré l'existence de conditions propices à une manifestation clinique, comme indiqué au chapitre correspondant du *Manuel aquatique*, peut être déclaré(e) indemne d'infection par l'alphavirus des salmonidés si les *conditions élémentaires de sécurité biologique* sont réunies sans discontinuer depuis au moins dix ans.

OU

- 3) Un *compartiment* ou une *zone* dont le statut sanitaire au regard de la *maladie* était inconnu avant la mise en place d'une *surveillance ciblée*, peut être déclaré(e) indemne d'infection par l'alphavirus des salmonidés, sous réserve :
  - a) que les *conditions élémentaires de sécurité biologique* soient réunies sans discontinuer depuis au moins deux ans, et
  - b) qu'une *surveillance ciblée*, telle que celle définie au chapitre 1.4., soit en place depuis au moins deux ans sans que la présence d'infection par l'alphavirus des salmonidés soit décelée.

OU

- 4) Une *zone* déclarée indemne d'infection par l'alphavirus des salmonidés mais dans laquelle la présence de cette *infection* a été décelée à une date postérieure, peut de nouveau être déclarée indemne d'infection par l'alphavirus des salmonidés s'il est satisfait aux conditions suivantes :
  - a) dès la détection de l'infection par l'alphavirus des salmonidés, le secteur touché doit avoir été déclaré *zone infectée* et une *zone de protection* doit avoir été établie, et
  - b) les populations infectées doivent avoir été détruites ou éliminées de la *zone infectée* par un moyen réduisant autant que possible le *risque* de nouvelle propagation de la *maladie*, et les mesures de *désinfection* indiquées doivent avoir été exécutées (voir *Manuel aquatique*), et

Annexe 10 (suite)

- c) une *surveillance ciblée*, telle que celle définie au chapitre 1.4., doit avoir été mise en place depuis au moins deux ans et la présence d'infection par l'alphavirus des salmonidés ne doit pas avoir été décelée, et
- d) les *conditions* prévalant antérieurement doivent avoir été examinées et, si nécessaire, modifiées ; les *conditions élémentaires de sécurité biologique* devront être en place tel que stipulé depuis l'éradication de la *maladie*.

Article 10.X.6.

**Maintien du statut indemne d'infection par l'alphavirus des salmonidés**

Aux termes des dispositions prévues par le point 1 énoncé, suivant le cas, à l'article 10.X.4. ou à l'article 10.X.5., un pays, une *zone* ou un *compartiment* déclaré(e) indemne d'infection par l'alphavirus des salmonidés peut conserver son statut indemne au regard de cette *infection*, sous réserve que les *conditions élémentaires de sécurité biologique* soient constamment maintenues.

Aux termes des dispositions prévues par le point 3 énoncé, suivant le cas, à l'article 10.X.4. ou à l'article 10.X.5., un pays, une *zone* ou un *compartiment* déclaré(e) indemne d'infection par l'alphavirus des salmonidés peut interrompre la *surveillance ciblée* tout en conservant son statut indemne au regard de cette *infection*, sous réserve que les conditions propices à une manifestation clinique, comme indiqué au chapitre correspondant du *Manuel aquatique*, soient réunies et que les *conditions élémentaires de sécurité biologique* soient constamment maintenues.

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

Article 10.X.7.

**Importation d'animaux aquatiques vivants à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment déclaré(e) indemne d'infection par l'alphavirus des salmonidés**

Lors d'une importation d'*animaux aquatiques* vivants appartenant aux espèces visées à l'article 10.X.2. à partir d'un pays, d'une *zone* ou d'un *compartiment* déclaré(e) indemne d'infection par l'alphavirus des salmonidés, l'*Autorité compétente* du *pays importateur* doit exiger la présentation d'un *certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques* délivré par l'*Autorité compétente* du *pays exportateur* ou par un *agent certificateur* agréé par le *pays importateur*. Le *certificat* doit attester sur la base des procédures décrites aux articles 10.X.4. ou 10.X.5. (suivant le cas) et 10.X.6. que le lieu de production des *animaux aquatiques* est un pays, une *zone* ou un *compartiment* déclaré(e) indemne d'infection par l'alphavirus des salmonidés.

Ce *certificat* doit être conforme au modèle reproduit au chapitre 5.11.

Le présent article ne s'applique pas aux *marchandises* énumérées au point 1 de l'article 10.X.3.

Article 10.X.8.

**Importation d'animaux aquatiques vivants à des fins d'aquaculture, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré(e) indemne d'infection par l'alphavirus des salmonidés**

- 1) Lors de l'importation à des fins d'*aquaculture* d'*animaux aquatiques* vivants appartenant aux espèces visées à l'article 10.X.2. à partir d'un pays, d'une *zone* ou d'un *compartiment* non déclaré(e) indemne d'infection par l'alphavirus des salmonidés, l'*Autorité compétente* du *pays importateur* doit apprécier le *risque* associé au type de *marchandise* susvisé et, si la situation le justifie, appliquer les mesures ci-après afin de réduire ce *risque* :
  - a) la livraison directe du chargement et son maintien à vie dans des installations assurant la sécurité biologique en l'isolant du milieu environnant d'une manière permanente, et
  - b) le traitement de tous les effluents et de tous les déchets de manière à assurer l'inactivation d'infection par l'alphavirus des salmonidés.

Annexe 10 (suite)

- 2) Si l'opération d'importation a pour objet d'établir une nouvelle population, il convient d'appliquer les aspects pertinents du Code de conduite pour les introductions et les transferts d'organismes marins du Conseil international pour l'exploration de la mer (CIEM).
- 3) Aux fins de l'application du *Code aquatique*, les aspects pertinents du Code de conduite précité (dont le texte complet peut être consulté sur le site internet du CIEM à l'adresse suivante : <http://www.ices.dk/publications/our-publications/Pages/Miscellaneous.aspx>) peuvent se résumer comme suit :
  - a) identifier les populations d'intérêt (d'élevage ou sauvages) dans leur site d'origine ;
  - b) évaluer l'état sanitaire des populations et leurs antécédents pathologiques ;
  - c) prélever et analyser des échantillons afin de rechercher la présence d'alphavirus des salmonidés ou de parasites et d'évaluer l'état de santé et le statut sanitaire de la population ;
  - d) importer et mettre en *quarantaine* dans une installation sécurisée une population de géniteurs (F-0) ;
  - e) produire une génération F-1 à partir de la population F-0 mise en *quarantaine* ;
  - f) élever la population F-1 et, aux stades critiques du développement (cycle biologique), effectuer des prélèvements et les analyser pour mettre en évidence la présence d'alphavirus des salmonidés et étendre les investigations à la recherche de parasites afin de déterminer l'état de santé et le statut sanitaire de la population ;
  - g) si ni la présence de l'alphavirus des salmonidés ni celle de parasites ne sont décelées et s'il est considéré que l'état de santé et le statut sanitaire de la population répondent aux *conditions élémentaires de sécurité biologique* qui prévalent dans le pays, la *zone* ou le *compartiment* d'importation, la population F-1 pourra être reconnue indemne d'infection par l'alphavirus des salmonidés ou indemne de l'*agent pathogène* spécifique de cette *infection* ;
  - h) sortir de *quarantaine* la population F-1 indemne de l'*agent pathogène* spécifique et l'introduire à des fins d'*aquaculture* ou de repeuplement dans le pays, la *zone* ou le *compartiment*.
- 4) Concernant les dispositions énoncées à l'alinéa e) du point 3, les conditions de *quarantaine* doivent créer un milieu propice à la multiplication des *agents pathogènes* et éventuellement à l'expression de signes cliniques. Si les conditions de *quarantaine* ne servaient pas de milieu favorable à la multiplication et au développement des *agents pathogènes*, l'approche diagnostique, faisant l'objet de la présente recommandation, pourrait ne pas être suffisamment sensible pour détecter des *infections* de bas niveau.

Le présent article ne s'applique pas aux *animaux aquatiques* énumérés au point 1 de l'article 10.X.3.

## Article 10.X.9.

**Importation d'animaux aquatiques et de produits issus d'animaux aquatiques à des fins de transformation pour la consommation humaine, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré(e) indemne d'infection par l'alphavirus des salmonidés**

Lors de l'importation, à des fins de transformation pour la consommation humaine, d'*animaux aquatiques* ou de *produits issus d'animaux aquatiques* appartenant aux espèces visées à l'article 10.X.2. à partir d'un pays, d'une *zone* ou d'un *compartiment* non déclaré(e) indemne d'infection par l'alphavirus des salmonidés, l'*Autorité compétente* du *pays importateur* doit apprécier le *risque* associé à ce type de *marchandise* et, si la situation le justifie, exiger :

- 1) la livraison directe du chargement et son entreposage dans des installations de *quarantaine* ou biosécurisées jusqu'au moment de sa transformation, soit en l'un des produits énumérés au point 1 de l'article 10.X.3., soit en l'un des produits décrits au point 1 de l'article 10.X.12., soit en l'un des autres produits autorisés par l'*Autorité compétente*, et
- 2) le traitement de l'eau utilisée pour le transport et celui de tous les effluents et déchets résultant des opérations de transformation de manière à assurer l'inactivation de l'alphavirus des salmonidés ou leur élimination de manière à prévenir tout contact avec les *espèces sensibles*.

Lorsqu'ils l'estiment nécessaire, les Pays Membres peuvent prendre des mesures au niveau national, visant à limiter les *risques* associés à l'utilisation du type de *marchandise* susvisé à des fins autres que la consommation humaine.

Annexe 10 (suite)

## Article 10.X.10.

**Importation d'animaux aquatiques vivants appelés à entrer dans la composition d'aliments pour animaux ou destinés à des usages agricoles, industriels ou pharmaceutiques, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré(e) indemne d'infection par l'alphavirus des salmonidés**

Lors de l'importation à des fins d'alimentation animale, ou pour des usages agricoles, industriels ou pharmaceutiques, d'*animaux aquatiques* vivants appartenant aux espèces visées à l'article 10.X.2. à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré(e) indemne d'infection par l'alphavirus des salmonidés, l'*Autorité compétente* du pays importateur doit exiger :

- 1) la livraison directe du chargement et son maintien dans des installations de *quarantaine* en vue d'y être abattu et transformé en un des produits autorisés par l'*Autorité compétente*, et
- 2) le traitement de l'eau utilisée pour le transport et celui de tous les effluents et déchets résultant des opérations de transformation de manière à assurer l'inactivation de l'alphavirus des salmonidés.

Le présent article ne s'applique pas aux *marchandises* énumérées au point 1 de l'article 10.X.3.

## Article 10.X.11.

**Importation de produits issus d'animaux aquatiques à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment déclaré(e) indemne d'infection par l'alphavirus des salmonidés**

Lors d'une importation de *produits issus d'animaux aquatiques* appartenant aux espèces visées à l'article 10.X.2. à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment déclaré(e) indemne d'infection par l'alphavirus des salmonidés, l'*Autorité compétente* du pays importateur doit exiger la présentation d'un *certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques* délivré par l'*Autorité compétente* du pays exportateur ou par un *agent certificateur* agréé par le pays importateur. Le *certificat* doit attester sur la base des procédures décrites aux articles 10.X.4. ou 10.X.5. (suivant le cas) et 10.X.6. que le lieu de production de la *marchandise* est un pays, une zone ou un compartiment déclaré(e) indemne d'infection par l'alphavirus des salmonidés.

Ce *certificat* doit être conforme au modèle reproduit au chapitre 5.11.

Le présent article ne s'applique pas aux *marchandises* énumérées au point 1 de l'article 10.X.3.

## Article 10.X.12.

**Importation d'animaux aquatiques et de produits issus d'animaux aquatiques pour la vente au détail de marchandises destinées à la consommation humaine, à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré(e) indemne d'infection par l'alphavirus des salmonidés**

- 1) Quel que soit le statut sanitaire du pays, de la zone ou du compartiment d'exportation au regard de l'alphavirus des salmonidés, les *Autorités compétentes* ne doivent imposer aucune condition liée à l'infection par l'alphavirus des salmonidés quand elles autorisent l'importation ou le transit par leur territoire des *marchandises* suivantes qui ont été préparées et emballées pour la vente au détail lorsqu'elles satisfont aux conditions requises à l'article 5.4.2. :

[a) filets ou darnes / pavés de poisson (réfrigérés).] À l'étude.

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

Lorsqu'ils l'estiment nécessaire, les Pays Membres peuvent prendre des mesures au niveau national, visant à limiter les *risques* associés à l'utilisation du type de *marchandise* susvisé à des fins autres que la consommation humaine.

- 2) Lors d'une importation d'*animaux aquatiques* ou de *produits issus d'animaux aquatiques*, à l'exclusion de ceux énumérés au point 1 ci-dessus, appartenant aux espèces visées à l'article 10.X.2. à partir d'un pays, d'une zone ou d'un *compartiment* non déclaré(e) indemne d'infection par l'alphavirus des salmonidés, l'*Autorité compétente* du *pays importateur* doit apprécier le *risque* associé au type de *marchandise* susvisé et appliquer des mesures appropriées visant à réduire ce *risque*.

## Article 10.X.13.

**[Importation d'œufs désinfectés destinés à l'aquaculture à partir d'un pays, d'une zone ou d'un compartiment non déclaré(e) indemne d'infection par l'alphavirus des salmonidés**

- 1) L'*Autorité compétente* du *pays importateur*, lorsqu'elle autorise l'importation d'œufs désinfectés destinés à son *aquaculture* d'une des espèces visées à l'article 10.X.2., à partir d'un pays, d'une zone ou d'un *compartiment* non déclaré(e) indemne d'infection par l'alphavirus des salmonidés, doit au moins apprécier le *risque* associé :
- a) au statut sanitaire au regard de l'alphavirus des salmonidés de l'eau utilisée pour la *désinfection* des œufs ;
  - b) à la prévalence de l'infection par l'alphavirus des salmonidés chez les géniteurs (dans le liquide ovarien et la laitance), et
  - c) à la température et au pH de l'eau utilisée lors de l'opération de *désinfection*.
- 2) L'*Autorité compétente* du *pays importateur*, si elle arrive à la conclusion que l'importation peut être acceptée, doit alors appliquer les mesures ci-après afin de réduire les *risques* encourus :
- a) les œufs doivent être désinfectés préalablement à leur importation selon les méthodes décrites dans le chapitre 1.1.3. du *Manuel aquatique* (à l'étude) ou celles requises par l'*Autorité compétente* du *pays importateur*, et
  - b) il est nécessaire que les œufs désinfectés et destinés à l'importation n'entrent pas en contact avec du matériel susceptible de détériorer leur statut sanitaire.

Lorsqu'ils l'estiment nécessaire, les Pays Membres peuvent prendre des mesures au niveau national, telles que le renouvellement de l'opération de *désinfection* des œufs dès l'arrivée dans le *pays importateur*.

- 3) L'*Autorité compétente* du *pays importateur*, lorsqu'elle autorise l'importation d'œufs désinfectés destinés à son *aquaculture* d'une des espèces visées à l'article 10.X.2., à partir d'un pays, d'une zone ou d'un *compartiment* non déclaré(e) indemne d'infection par l'alphavirus des salmonidés, doit exiger qu'ils soient accompagnés d'un *certificat sanitaire international applicable aux animaux aquatiques* délivré par l'*Autorité compétente* du *pays exportateur* ou par un *agent certificateur* agréé par le *pays importateur*, attestant que les mesures désignées au point 2 du présent article ont été appliquées.] A l'étude.

---

— Texte supprimé





## CHAPTER 2.3.5.

# INFECTION WITH INFECTIOUS SALMON ANAEMIA VIRUS

---

### 1. Scope

For the purpose of this chapter, infection with infectious salmon anaemia virus (ISAV) means infection with highly polymorphic region (HPR)-deleted ISAV or HPR0 ISAV (with a non-deleted HPR) of the genus *Isavirus* of the family *Orthomyxoviridae*.

Infection with HPR-deleted ISAV may cause infectious salmon anaemia (ISA) in Atlantic salmon (*Salmo salar*), which is a generalised and lethal condition characterised by severe anaemia, and variable haemorrhages and necrosis in several organs. The disease course is prolonged with low daily mortality (0.05–0.1%) typically only in a few cages. Cumulative mortality may become very high for a period lasting several months if nothing is done to limit disease dissemination (Rimstad *et al.*, 2011).

Detection of HPR0 ISAV has never been associated with ISA in Atlantic salmon. This virus genotype is known to cause transient subclinical infection and has mainly been detected localised to the gills. There is evidence of a link between non-pathogenic HPR0 ISAV and pathogenic HPR-deleted ISAV, with some outbreaks potentially occurring as a result of the emergence of HPR-deleted ISAV from HPR0 ISAV.

### 2. Disease information

#### 2.1. Agent factors

##### 2.1.1. Aetiological agent, agent strains

ISAV is an enveloped virus, 100–130 nm in diameter, with a genome consisting of eight single-stranded RNA segments with negative polarity. The virus has haemagglutinating, receptor-destroying and fusion activity (Falk *et al.*, 1997; Mjaaland *et al.*, 1997; Rimstad *et al.*, 2011).

The morphological, physiochemical and genetic properties of ISAV are consistent with those of the *Orthomyxoviridae*, and ISAV has been classified as the type species of the genus *Isavirus* (Kawaoka *et al.*, 2005) within this virus family. The nucleotide sequences of all eight genome segments, encoding at least ten proteins, have been described (Cottet *et al.*, 2011; Rimstad *et al.*, 2011), including the 3' and 5' non-coding sequences (Kulshreshtha *et al.*, 2010). Four major structural proteins have been identified, including a 68 kDa nucleoprotein, a 22 kDa matrix protein, a 42 kDa haemagglutinin-esterase (HE) protein responsible for receptor-binding and receptor-destroying activity, and a 50 kDa surface glycoprotein with putative fusion (F) activity, encoded by genome segments 3, 8, 6 and 5, respectively. Segment 1, 2, and 4 encode the viral polymerases PB2, PB1 and PA. The two smallest genomic segments, segments 7 and 8, each contain two open reading frames (ORF). The ORF1 of segment 7 encodes a protein with type I interferon antagonistic properties, while ORF2 has been suggested to encode for a nuclear export protein (NEP). Whether the ORF1 gene product is nonstructural or a structural component of the virion remains to be determined. The smaller ORF1 of segment 8 encodes the matrix protein, while the larger ORF2 encodes an RNA-binding structural protein also with type I interferon antagonistic properties.

## Annexe 11 (suite)

Sequence analysis of various gene segments has revealed differences between isolates both within and between defined geographical areas. According to sequence differences in the 5'-region of the HE gene, ISAV isolates have been divided into two major groups, one European and one North American group. In the HE gene, a small HPR near the transmembrane domain has been identified. This region is characterised by the presence of gaps rather than single-nucleotide substitutions (Cunningham *et al.*, 2002; Mjaaland *et al.*, 2002). A full-length gene (HPR0) has been suggested to represent a precursor from which all ISAV HPR-deleted (pathogenic) variants of ISAV originate. The presence of non-pathogenic HPR0 ISAV has been reported in both apparently healthy wild and farmed Atlantic salmon, but has not been detected in diseased fish with clinical disease and pathological signs consistent with ISA (Christiansen *et al.*, 2011; Cunningham *et al.*, 2002; Lyngstad *et al.*, 2012; Markussen *et al.*, 2008; McBeath *et al.*, 2009; Nylund *et al.*, 2007). A mixed infection of HPR-deleted and HPR0 ISAV variants has been reported (Kibenge *et al.*, 2009). Recent studies show that HPR0 ISAV variants occur frequently in sea-reared Atlantic salmon. The HPR0 ISAV strain seems to be more seasonal and transient in nature and displays a tissue tropism with high prevalence in gills (Christiansen *et al.*, 2011; Lyngstad *et al.*, 2011). To date there has been no direct evidence linking the presence of HPR0 ISAV to a subsequent clinical ISA outbreak. The risk of emergence of pathogenic HPR-deleted ISAV variants from a reservoir of HPR0 ISAV is considered to be low but not negligible (Christiansen *et al.*, 2011; EFSA, 2012; Lyngstad *et al.*, 2012).

In addition to the variations seen in the HPR of the HE gene, other gene segments may also be of importance for development of ISA. A putative virulence marker has been identified in the fusion (F) protein. Here, a single amino acid substitution, or a sequence insertion, near the protein's putative cleavage site has been found to be a prerequisite for virulence (Kibenge *et al.*, 2007; Markussen *et al.*, 2008). Aside from insertion/recombination, ISAV also uses gene segment reassortment in its evolution, with potential links to virulence (Devold *et al.*, 2006; Markussen *et al.*, 2008; Mjaaland *et al.*, 2005).

### 2.1.2. Survival outside the host

ISAV has been detected by reverse-transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) in seawater sampled at farming sites with ISAV-positive Atlantic salmon (Kibenge *et al.*, 2004). It is difficult to estimate exactly how long the virus may remain infectious in the natural environment because of a number of factors, such as the presence of particles or substances that may bind or inactivate the virus. Exposing cell culture-propagated ISAV to 15°C for 10 days or to 4°C for 14 days had no effect on virus infectivity (Falk *et al.*, 1997).

### 2.1.3. Stability of the agent (effective inactivation methods)

ISAV is sensitive to UV irradiation (UVC) and ozone. A 3-log reduction in infectivity in sterile fresh water and seawater was obtained with a UVC dose of approximately 35 Jm<sup>-2</sup> and 50 Jm<sup>-2</sup>, respectively, while the corresponding value for ISAV in wastewater from a fish-processing plant was approximately 72 Jm<sup>-2</sup>. Ozonated seawater (4 minutes with 8 mg ml<sup>-1</sup>, 600–750 mV redox potential) may inactivate ISAV completely. Incubation of tissue homogenate from diseased fish at pH 4 or pH 12 for 24 hours inactivated ISAV infectivity. Incubation in the presence of chlorine (100 mg ml<sup>-1</sup>) for 15 minutes also inactivated virus infectivity (Rimstad *et al.*, 2011). Cell culture-isolated ISAV may survive for weeks at low temperatures, but virus infectivity is lost within 30 minutes of exposure at 56°C (Falk *et al.*, 1997).

### 2.1.4. Life cycle

The main infection route is most likely through the gills for both HPR0 and HPR-deleted ISAV, but infection via the intestine or skin cannot be excluded. HPR-deleted ISAV has been used in the studies referred to below. Endothelial cells lining blood vessels seem to be the primary target cells for ISAV as demonstrated by electron microscopy immunohistochemistry and *in-situ* hybridisation. Virus replication has also been demonstrated in leukocytes, and sinusoidal macrophages in kidney tissue stain positive for ISAV using immunohistochemistry (IHC). As endothelial cells are the target cells (see Section 2.2.4), virus replication may occur in any organ (Aamelfot *et al.*, 2012; Rimstad *et al.*, 2011).

The haemagglutinin-esterase (HE) molecule of ISAV, like the haemagglutinin (HA) of other orthomyxoviruses (influenza A, B and C viruses), is essential for binding of the virus to sialic acid residues on the cell surface. In the case of ISAV, the viral particle binds to glycoprotein receptors containing 4-O-acetylated sialic acid residues, which also functions as a substrate for the receptor-destroying enzyme. Further uptake and replication seem to follow the pathway described for influenza A viruses, indicated by demonstration of low pH-dependent fusion, inhibition of replication by actinomycin D and  $\alpha$ -amanitin, early accumulation of nucleoprotein followed by matrix protein in the nucleus and budding of progeny virions from the cell surface (Cottet *et al.*, 2011; Rimstad *et al.*, 2011).

The route of shedding of ISAV from infected fish may be through natural excretions/secretions.

The HPR0 variant has hitherto not been isolated in cell culture, which hampers *in-vivo* and *in-vitro* studies of characteristics and the life cycle of this virus variant.

## 2.2. Host factors

### 2.2.1. Susceptible host species

Natural outbreaks of ISA have only been recorded in farmed Atlantic salmon, and in Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) in Chile (Kibenge *et al.*, 2001). Subclinically infected feral Atlantic salmon, brown trout and sea trout (*S. trutta*) have been identified by RT-PCR (Kibenge *et al.*, 2004; Plarre *et al.*, 2005). In marine fish, detection of ISAV by RT-PCR has been reported in tissues of pollock (*Pollachius virens*) and cod (*Gadus morhua*), but only in fish collected from cages with Atlantic salmon exhibiting ISA (reviewed in Kibenge *et al.*, 2004). Following experimental infection by bath immersion, ISAV has been detected by RT-PCR in herring (*Clupea harengus*) and a subsequent transmission to Atlantic salmon. Attempts have been made to induce infection or disease in pollock, *Pollachius virens*, but with negative results. Replication of ISAV has also been demonstrated in several salmonid species but only after intraperitoneal injection of ISAV-infected material (reviewed in Rimstad *et al.*, 2011).

### 2.2.2. Susceptible stages of the host

In Atlantic salmon, disease outbreaks are mainly reported in seawater cages, and only a few cases have been reported in the freshwater stage, including one case in yolk sac fry (Rimstad *et al.*, 2011). ISA has been experimentally induced in both Atlantic salmon fry and parr kept in freshwater. Genetics may also play an important role in the susceptibility of Atlantic salmon to ISA, as differences in susceptibility among different family groups have been observed.

### 2.2.3. Species or subpopulation predilection (probability of detection)

ISA is primarily a disease of Atlantic salmon.

### 2.2.4. Target organs and infected tissue

For fish that have developed ISA: endothelial cells in all organs (gills, heart, liver, kidney, spleen and others) (Aamelfot *et al.*, 2012). HPR0 ISAV variants seem primarily to target the gills, but this variant has also been detected in kidney and heart (Christiansen *et al.*, 2011; Lyngstad *et al.*, 2011).

### 2.2.5. Persistent infection with lifelong carriers

Persistent infection in lifelong carriers has not been documented in Atlantic salmon, but at the farm level, infection may persist in the population by continuous infection of new individuals that do not develop clinical signs of disease. This may include infection with the HPR0 ISAV variants, which seems to be only transient in nature (Christiansen *et al.*, 2011; Lyngstad *et al.*, 2011). Experimental infection of rainbow trout and brown trout with ISAV indicate that persistent infection in these species could be possible (Rimstad *et al.*, 2011).

## Annexe 11 (suite)

### 2.2.6. Vectors

Passive transfer of ISAV by salmon lice (*Lepeophtheirus salmonis*) has been demonstrated under experimental conditions. Although natural vectors have not been identified, several different vector groups could be possible vectors under certain defined conditions (reviewed in Rimstad *et al.*, 2011).

### 2.2.7. Known or suspected wild aquatic animal carriers

Wild Atlantic salmon, brown trout and sea trout (*S. trutta*) may be carriers of ISAV (Rimstad *et al.*, 2011). The importance of wild marine fish (see Section 2.2.1) as virus carriers needs to be clarified. The results from a study from the Faroe Islands point to the potential presence of an unknown marine reservoir for this virus (Christiansen *et al.*, 2011).

## 2.3. Disease pattern

### 2.3.1. Transmission mechanisms

Studies of recurrent epidemics of ISA in different salmon-producing areas conclude that the virus spreads locally between adjoining sites. Proximity to sites with ISA outbreaks is a risk of primary importance, and the risk for a susceptible farm increases the nearer it is to an infected farm. Sequence analysis of ISAV from ISA outbreaks in Norway shows a high degree of similarity between viruses isolated from neighbouring ISA affected sites, further supporting ISAV transmission between proximate sites. The risk of transmission of ISAV is dependent on the level of biosecurity measures in place. Suggested pathways for ISAV transmission are through sea water, shipment of live fish, transmission through sea lice, and via infected wild salmonids (Aldrin *et al.*, 2011; Gustafson *et al.*, 2007; Lyngstad *et al.*, 2011; Mardones *et al.*, 2011; Rimstad *et al.*, 2011).

Many ISA outbreaks in Norway appear to be isolated in space and time from other outbreaks with unknown sources of infection (Aldrin *et al.*, 2011). A suggested hypothesis for disease emergence is occasional transition of HPR0 ISAV into HPR-deleted ISAV variants causing solitary outbreaks or local epidemics through local transmission (Lyngstad *et al.*, 2011; 2012). The risk of emergence of HPR-deleted ISAV variants from a reservoir of HPR0 ISAV is considered to be low but not negligible (EFSA, 2012). A direct link between HPR0 variants and HPR-deleted ISAV remains to be demonstrated.

As ISA has also been reported from smolt-producing sites with Atlantic salmon, transmission of ISAV from parent to progeny cannot be excluded. Even though there is no evidence of true vertical transmission, eggs and embryos could be a risk of transmission if ISAV biosecurity measures are not adequate (Rimstad *et al.*, 2011).

### 2.3.2. Prevalence

In a net pen containing diseased fish, the prevalence of HPR-deleted ISAV may vary widely, while in adjacent net pens ISAV may be difficult to detect, even by the most sensitive methods. Therefore, for diagnostic investigations it is important to sample from net pens containing diseased fish.

There is increasing evidence that the prevalence of the non-pathogenic HPR0 ISAV genotype may be high in Atlantic salmon production areas. HPR0 variants in Atlantic salmon appear to be a seasonal and transient infection (Christiansen *et al.*, 2011). HPR0 variants of ISAV have also been detected in wild salmonids (reviewed in Rimstad *et al.*, 2011).

### 2.3.3. Geographical distribution

Initially reported in Norway in the mid-1980s (Thorud & Djupvik, 1988), ISA in Atlantic salmon has since then been reported in Canada (New Brunswick in 1996; Mullins *et al.*, 1998), the United Kingdom (Scotland in 1998), the Faroe Islands (2000), the USA (Maine in 2001) and in Chile (2007) (Cottet *et al.*, 2011; Rimstad *et al.*, 2011). The presence of the HPR0 ISAV variant has been reported in all countries where ISA has occurred.

#### 2.3.4. Mortality and morbidity

During ISA outbreaks, morbidity and mortality may vary greatly within and between different net pens in a seawater fish farm, and between different fish farms. Morbidity and mortality within a net pen may start at very low levels. Typically, daily mortality ranges from 0.5 to 1% in affected cages. Without intervention, mortality increases and seems to peak in early summer and winter. The range of cumulative mortality during an outbreak is from insignificant to moderate, but in severe cases, cumulative mortality exceeding 90% may be recorded during several months. Initially, an outbreak of ISA may be limited to one or two net pens over a long time period. In such cases, if net pens with clinical ISA are slaughtered immediately, further development of clinical ISA at the site may be prevented. In outbreaks where smolts have been infected in well boats during transport, simultaneous outbreaks may occur.

HPR0 ISAV has not been associated with ISA in Atlantic salmon.

#### 2.3.5. Environmental factors

Generally, outbreaks of ISA tend to be seasonal with most outbreaks in late spring and late autumn. Handling of fish (e.g. sorting or treatment, splitting or moving of cages) may initiate disease outbreaks on infected farms, especially if long-term undiagnosed problems have been experienced in advance (Lyngstad *et al.*, 2008).

### 2.4. Control and prevention

#### 2.4.1. Vaccination

Vaccination against ISA has been carried out in North America since 1999 and the Faroe Islands since 2005. In Norway vaccination against ISA was carried out for the first time in 2009 in a region with a high rate of ISA outbreaks. Chile started vaccinating against ISA in 2010. However, the currently available vaccines do not seem to offer complete protection in Atlantic salmon.

#### 2.4.2. Chemotherapy

Most recently, it has been demonstrated that the broad-spectrum antiviral drug Ribavirin (1- $\beta$ -D-ribofuranosyl-1,2,4-triazole-3-carboxamide) is effective in inhibiting ISAV replication both *in vitro* and *in vivo* (Rivas-Aravena *et al.*, 2011).

#### 2.4.3. Immunostimulation

Not applicable.

#### 2.4.4. Resistance breeding

Differences in susceptibility among different family groups of Atlantic salmon in fresh water have been observed in challenge experiments and in field tests, indicating the potential for resistance breeding.

#### 2.4.5. Restocking with resistant species

Not applicable.

#### 2.4.6. Blocking agents

Not applicable.

#### 2.4.7. Disinfection of eggs and larvae

Disinfection of eggs according to standard procedures is suggested as an important control measure.

Annexe 11 (suite)**2.4.8. General husbandry practices**

The incidence of ISA may be greatly reduced by implementation of legislative measures or husbandry practices regarding the movement of fish, mandatory health control, transport and slaughterhouse regulations. Specific measures including restrictions on affected, suspected and neighbouring farms, enforced sanitary slaughtering, generation segregation ('all in/all out') as well as disinfection of offal and wastewater from fish slaughterhouses and fish processing plants may also contribute to reducing the incidence of the disease. The experience from the Faroe Islands, where the prevalence of HPR0 is high, demonstrates that the combination of good biosecurity and husbandry reduces the risk of ISA outbreaks substantially.

**3. Sampling****3.1. Selection of individual specimens**

The following is primarily for verification of suspected cases based on clinical signs and gross pathology or positive RT-PCR for HPR-deleted ISAV.

For detection of HPR0 ISAV, gill tissue should be sampled in randomly selected individuals at different points of time through the production cycle. Only detection using RT-PCR is possible for this genotype.

**3.2. Preservation of samples for submission**

Haematology:	Heparin or EDTA (ethylene diamine tetra-acetic acid)
Cell culture:	Virus transport medium
Histology and immunohistochemistry:	Fixation in neutral phosphate-buffered 10% formalin
Immunofluorescence (smears):	Either submitted dried, or dried and fixed in 100% acetone
Molecular biology (RT-PCR and sequencing):	Appropriate medium for preservation of RNA

**3.3. Pooling of samples**

Pooling of samples may be acceptable under some circumstances, however, the impact on sensitivity and design prevalence must be considered is not recommended for verification of ISAV as it is usually of interest to compare results from the various examinations for each individual. For surveillance purposes, pooling of samples for virological examination (PCR and/or cell culture) may be accepted. However, the number of fish to be pooled may depend on the suggested prevalence of ISAV in the population and of the method used.

**3.4. Best organs or tissues****3.4.1. Detection of HPR-deleted ISAV**

Blood is preferred for non-lethal sampling. Generally, as ISA is a generalised infection, internal organs not exposed to the environment should be used for diagnostic testing.

Virological examination (cell culture and PCR): heart (should always be included) and mid-kidney;

Histology (prioritised): mid-kidney, liver, heart, pancreas/intestine, spleen;

Immunofluorescence (smears): mid-kidney;

Immunohistochemistry: mid-kidney, heart (including valves and bulbus arteriosus).

### 3.4.2. Detection of HPR0 ISAV

Gills should be tested by RT-PCR

## 4. Diagnostic methods

### 4.1. Field diagnostic methods

#### 4.1.1. Clinical signs

The most prominent external signs of ISA are pale gills (except in the case of blood stasis in the gills), exophthalmia, distended abdomen, blood in the anterior eye chamber, and sometimes skin haemorrhages especially of the abdomen, as well as scale pocket oedema.

Generally, naturally infected Atlantic salmon with HPR-deleted ISAV appear lethargic and may keep close to the wall of the net pen.

Nutritional status is usually quite normal, but diseased fish have no feed in the digestive tract.

### 4.2. Pathological evaluation

#### 4.2.1. Gross pathology

Fish infected with HPR-deleted ISAV may show a range of pathological changes, from none to severe, depending on factors such as infective dose, virus strain, temperature, age and immune status of the fish. No lesions are pathognomonic to ISA, but anemia and circulatory disturbances are always present. The following findings have been described to be consistent with ISA, though all changes are seldom observed in one single fish.

- Yellowish or blood-tinged fluid in peritoneal and pericardial cavities.
- Oedema of the swim bladder.
- Small haemorrhages of the visceral and parietal peritoneum.
- Focal or diffusely dark red liver. A thin fibrin layer may be present on the surface.
- Swollen, dark red spleen with rounded margins.
- Dark redness of the intestinal wall mucosa in the blind sacs, mid- and hind-gut, without blood in the gut lumen of fresh specimens.
- Swollen, dark red kidney with blood and liquid effusing from cut surfaces.
- Pinpoint haemorrhages of the skeletal muscle.

#### 4.2.2. Clinical chemistry

- Haematocrit <10 in end stages (25–30 often seen in less advanced cases). Haematocrit <10 should always be followed up by investigation for ISA in sea-water reared Atlantic salmon.
- Blood smears with degenerate and vacuolised erythrocytes and the presence of erythroblasts with irregular nuclear shape. Differential counts show a reduction in the proportion of leucocytes relative to erythrocytes, with the largest reduction being among lymphocytes and thrombocytes.

Liver pathology will lead to increased levels of liver enzymes in the blood.

## Annexe 11 (suite)

### 4.2.3. Microscopic pathology

Histological changes in clinically diseased Atlantic salmon are variable, but can include the following:

- Numerous erythrocytes in the central venous sinus and lamellar capillaries where erythrocyte thrombi also form in the gills.
- Multifocal to confluent haemorrhages and/or hepatocyte necrosis at some distance from larger vessels in the liver. Focal accumulations of erythrocytes in dilated hepatic sinusoids.
- Accumulation of erythrocytes in blood vessels of the intestinal lamina propria and eventually haemorrhage into the lamina propria.
- Spleen stroma distended by erythrocyte accumulation.
- Slight multifocal to extensive diffuse interstitial haemorrhage with tubular necrosis in the haemorrhagic areas, erythrocyte accumulation in the glomeruli in the kidney.
- Erythrophagocytosis in the spleen and secondary haemorrhages in liver and kidney.

### 4.2.4. Wet mounts

Not applicable.

### 4.2.5. Smears

See Section 4.3.1.1.2

### 4.2.6 Fixed sections

See Section 4.3.1.1.3

### 4.2.7. Electron microscopy/cytopathology

Virus has been observed in endothelial cells and leukocytes by electron microscopy of tissue preparations, but this method has not been used for diagnostic purposes.

### 4.2.8. Differential diagnoses

Other anaemic and haemorrhagic conditions, including erythrocytic inclusion body syndrome, winter ulcer and septicaemias caused by infections with *Moritella viscosa*. Disease cases in Atlantic salmon with haematocrit values below 10 is not a unique finding for ISA, however cases with such low haematocrit values without any obvious explanation should always be tested for the presence of ISAV.

## 4.3. Agent detection and identification methods

### 4.3.1. Direct detection methods

With the exception of molecular techniques (see 4.3.1.2.3), these direct detection methods are only recommended for fish with clinical signs of infection with HPR-deleted ISAV.

#### 4.3.1.1. Microscopic methods

##### 4.3.1.1.1. Wet mounts

Not applicable.



#### 4.3.1.1.2. Smears

##### 4.3.1.1.2.1 Indirect fluorescent antibody test

An indirect fluorescent antibody test (IFAT) using validated monoclonal antibodies (MAbs) against ISAV haemagglutinin-esterase (HE) on kidney smears (imprints) or on frozen tissue sections of kidney, heart and liver has given positive reactions in both experimentally and naturally infected Atlantic salmon. Suspected cases (see Section 7.1) may be confirmed with a positive IFAT.

##### i) Preparations of tissue smears (imprints)

A small piece of the mid-kidney is briefly blotted against absorbent paper to remove excess fluid, and several imprints in a thumbnail-sized area are fixed on poly-L-lysine-coated microscope slides. The imprints are air-dried, fixed in chilled 100% acetone for 10 minutes and stored either at 4°C for a few days or at -80°C until use.

##### ii) Staining procedure

After blocking with 5% non-fat dry milk in phosphate-buffered saline (PBS) for 30 minutes, the preparations are incubated for 1 hour with an appropriate dilution of anti-ISAV MAb, followed by three washes. For the detection of bound antibodies, the preparations are incubated with fluorescein isothiocyanate (FITC)-conjugated anti-mouse Ig for 1 hour. PBS with 0.1% Tween 20 is used for washing. All incubations are performed at room temperature.

#### 4.3.1.1.2. Fixed sections

##### 4.3.1.1.3.1 Immunohistochemistry (IHC)

Polyclonal antibody against ISAV nucleoprotein is used on paraffin sections from formalin-fixed tissue. This IHC staining has given positive reactions in both experimentally and naturally infected Atlantic salmon. Preferred organs are mid-kidney and heart (transitional area including all three chambers and valves). Suspected cases due to pathological signs are verified with a positive IHC. Histological sections are prepared according to standard methods.

##### i) Preparation of tissue sections

The tissues are fixed in neutral phosphate-buffered 10% formalin for at least 1 day, dehydrated in graded ethanol, cleared in xylene and embedded in paraffin, according to standard protocols. Approximately 5 µm thick sections (for IHC sampled on poly-L-lysine-coated slides) are heated at 56–58°C (maximum 60°C) for 20 minutes, dewaxed in xylene, rehydrated through graded ethanol, and stained with haematoxylin and eosin for pathomorphology and IHC as described below.

##### ii) Staining procedure for IHC

All incubations are carried out at room temperature on a rocking platform, unless otherwise stated.

- a) Antigen retrieval is done by boiling sections in 0.1 M citrate buffer pH 6.0 for 2 × 6 minutes followed by blocking with 5% non-fat dry milk and 2% goat serum in 50 mM TBS (TBS; Tris/HCl 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7.6) for 20 minutes.
- b) Sections are then incubated overnight with primary antibody (monospecific rabbit antibody against ISAV nucleoprotein) diluted in TBS with 1% non-fat dry milk, followed by three washes in TBS with 0.1% Tween 20.

Annexe 11 (suite)

- c) For detection of bound antibodies, sections are incubated with Alkaline phosphatase-conjugated antibodies to rabbit IgG for 60 minutes. Following a final wash, Fast Red (1 mg ml<sup>-1</sup>) and Naphthol AS-MX phosphate (0.2 mg ml<sup>-1</sup>) with 1 mM Levamisole in 0.1 M TBS (pH 8.2) is added to develop for 20 minutes. Sections are then washed in tap water before counterstaining with Harris haematoxylin and mounted in aqueous mounting medium. ISAV positive and ISAV negative tissue sections are included as controls in every setup.

## iii) Interpretation

Negative control sections should not have any significant colour reactions. Positive control sections should have clearly visible red-coloured cytoplasmic and intranuclear staining of endothelial cells in blood vessels or heart endocardium. A test sample section should only be regarded as positive if clear, intranuclear red staining of endothelial cells is found. The intranuclear localisation is particular to the orthomyxovirus nucleoprotein during a stage of virus replication. Concurrent cytoplasmic staining is often dominant. Cytoplasmic and other staining patterns without intranuclear localisation must be considered as nonspecific or inconclusive.

The strongest positive staining reactions are usually obtained in endothelial cells of heart and kidney. Endothelial staining reactions within very extensive haemorrhagic lesions can be slight or absent, possibly because of lysis of infected endothelial cells.

**4.3.1.2. Agent isolation and identification**

## 4.3.1.2.1. Cell culture

ASK cells (Devold *et al.*, 2000) are recommended for primary ISAV isolation, but other susceptible cell lines, such as SHK-1 (Dannevig *et al.*, 1995), may be used. However, strain variability and the ability to replicate in different cell lines should be taken into consideration. The ASK cells seem to support isolation and growth of the hitherto known virus isolates. A more distinct cytopathic effect (CPE) may appear in ASK cells. Both the SHK-1 and ASK cell lines appear to lose susceptibility for ISAV with increasing passage level.

The SHK-1 and ASK cells are grown at 20°C in Leibovitz's L-15 cell culture medium supplemented with fetal bovine serum (5% or 10%), L-glutamine (4 mM), gentamicin (50 µg ml<sup>-1</sup>) and 2-mercapto-ethanol (40 µM) (this latter may be omitted).

For virus isolation, cells grown in 25 cm<sup>2</sup> tissue culture flasks or multi-well cell culture plates, which may be sealed with parafilm or a plate sealer to stabilise the pH of the medium, may be used. Cells grown in 24-well plates may not grow very well into monolayers, but this trait may vary between laboratories and according to the type of cell culture plates used. Serially diluted ISAV-positive controls should be inoculated in parallel with the tissue samples as a test for cell susceptibility to ISAV (this should be performed in a separate location from that of the test samples).

## i) Inoculation of cell monolayers

Prepare a 2% suspension of tissue homogenate using L-15 medium without serum or other medium with documented suitability. Remove growth medium from actively growing monolayers (1–3 day old cultures or cultures of 70–80 % confluency) grown in 25 cm<sup>2</sup> tissue culture flasks or multi-well cell culture plates (see above). Inoculate monolayers (25 cm<sup>2</sup> tissue culture flasks) with 1.5 ml of the 2% tissue homogenate. Adjust volume to the respective surface area in use. Allow 3–4 hours incubation at 15°C followed by removal of the inoculum, and addition of fresh, L-15 medium supplemented with 2–5% FCS. Alternatively, a 1/1000 dilution and direct inoculation without medium replacement can be used.

When fish samples come from production sites where infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) is regarded as endemic, the tissue homogenate supernatant should be incubated (for a minimum of 1 hour at 15°C) with a pool of antisera to the indigenous serotypes of IPNV prior to inoculation.

## ii) Monitoring incubation

Inoculated cell cultures (kept at 15°C) are examined at regular intervals (at least every 7 days) for the occurrence of CPE. Typical CPE due to ISAV appears as vacuolated cells that subsequently round up and loosen from the growth surface. If CPE consistent with that described for ISAV or IPNV appears, an aliquot of the medium for virus identification, as described below, must be collected. In the case of an IPNV infection, re-inoculate cells with tissue homogenate supernatant that has been incubated with a lower dilution of IPNV antisera. If no CPE has developed after 14 days, subculture to fresh cell cultures.

## iii) Subcultivation procedure

Aliquots of medium (supernatant) from the primary cultures are collected 14 days (or earlier when obvious CPE appears) after inoculation. Supernatants from wells inoculated with different dilutions of identical samples may be pooled for surveillance purposes.

Supernatants are inoculated into fresh cell cultures as described for the primary inoculation: remove growth medium, inoculate monolayers with a small volume of diluted supernatant (1/5 and higher dilutions) for 3–4 hours before addition of fresh medium. Alternatively, add supernatants (final dilutions 1/10 and higher) directly to cell cultures with growth medium.

Inoculated cell cultures are incubated for at least 14 days and examined at regular intervals, as described for the primary inoculation. At the end of the incubation period, or earlier if obvious CPE appears, the medium is collected for virus identification, as described below. Cell cultures with no CPE should always be examined for the presence of ISAV by immunofluorescence (IFAT), haemadsorption or by PCR because virus replication may occur without development of apparent CPE.

The procedure described below has been successful for isolation of HPR-deleted ISAV from fish with clinical signs or from suspected cases. HPR0 has hitherto not been isolated in cell culture.

#### 4.3.1.2.2. Antibody-based antigen detection methods

##### 4.3.1.2.2.1 Virus identification by IFAT

All incubations are carried out at room temperature unless otherwise stated.

- i) Prepare monolayers of cells in appropriate tissue culture plates (e.g. 96-well or 24-well plates), in slide flasks or on cover-slips dependent on the type of microscope available (an inverted microscope equipped with UV light is necessary for monolayers grown on tissue culture plates). SHK-1 cells grow rather poorly on glass cover-slips. The necessary monolayers for negative and positive controls must be included.
- ii) Inoculate the monolayers with the virus suspensions to be identified in tenfold dilutions, two monolayers for each dilution. Add positive virus control in dilutions known to give a good staining reaction. Incubate inoculated cell cultures at 15°C for 7 days or, if CPE appears, for a shorter time.
- iii) Fix in 80% acetone for 20 minutes after removing cell culture medium and rinsing once with 80% acetone. Remove the fixative and air dry for 1 hour. The fixed cell cultures may be stored dry for less than 1 week at 4°C or at –20°C for longer storage.
- iv) Incubate the cell monolayers with anti- ISAV MAb in an appropriate dilution in PBS for 1 hour. and rinse twice with PBS/0.05% Tween 20. If unspecific binding is observed, incubate with PBS containing 0.5% dry skimmed milk.

## Annexe 11 (suite)

- v) Incubate with FITC-conjugated goat anti-mouse immunoglobulin for 1 hour (or if antibody raised in rabbits is used as the primary antibody, use FITC-conjugated antibody against rabbit immunoglobulin), according to the instructions of the supplier. To increase the sensitivity, FITC-conjugated goat anti-mouse Ig may be replaced with biotin-labelled anti-mouse Ig and FITC-labelled streptavidin with the described rinsing in between the additional step. Rinse once with PBS/0.05% Tween 20, as described above. The nuclei can be stained with propidiumiodid ( $100 \mu\text{g ml}^{-1}$  in sterile distilled water). Add PBS (without Tween 20) and examine under UV light. To avoid fading, the stained plates should be kept in dark until examination. For long periods of storage (more than 2–3 weeks) a solution of 1,4-diazabicyclooctane (DABCO 2.5% in PBS, pH 8.2) or similar reagent may be added as an anti-fade solution. .

## 4.3.1.2.3. Molecular techniques

## 4.3.1.2.3.1 Reverse-transcription polymerase chain reaction (RT-PCR)

The primers described below for RT-PCR and real-time RT-PCR will detect both European and North-American HPR-deleted ISAV, and also HPR0 ISAV.

RT-PCR may be used for detection of ISAV from total RNA (or total nucleic acid) extracted from recommended organs/tissues (see Section 3.4). The real-time RT-PCR for the detection of ISAV is recommended as it increases the specificity and, probably, also the sensitivity of the test. Though several primer sets for ISAV real-time RT-PCR have been reported, recommended primer sets are presented in the table below. The primer sets derived from genomic segment 8 and segment 7 have been used by several laboratories and have been found suitable for detection of ISAV during disease outbreaks and in apparently healthy carrier fish

With the widespread occurrence of HPR0 ISAV variants, it is essential to follow up any positive PCR results based on segment 7 or 8 primer sets by sequencing the HPR of segment 6 in order to determine the ISAV HPR variant present (HPR-deleted or HPR0 or both). Adequate primers, designed and validated by the OIE Reference Laboratory are given in the table below. Validation of the HPR primer set for the North American isolates is restricted by the limited sequence data available in the Genbank for the 3' end of ISAV segment 6.

The primers for segment 7 and 8 as well as sequencing primers for segment 6 HPR, are listed below and may also be used for conventional RT-PCR if necessary.

Real-time RT-PCR: Primer and probe sequences	Named	Genomic segment	Product size	Reference
5'-CAG-GGT-TGT-ATC-CAT-GGT-TGA-AAT-G-3' 5'-GTC-CAG-CCC-TAA-GCT-CAA-CTC-3' 5'-6FAM-CTC-TCT-CAT-TGT-GAT-CCC-MGBNFQ-3'	forward primer reverse primer Taqman@probe	7	155 nt	Snow <i>et al.</i> , 2006
5'-CTA-CAC-AGC-AGG-ATG-CAG-ATG-T-3' 5'-CAG-GAT-GCC-GGA-AGT-CGA-T-3' 5'-6FAM-CAT-CGT-CGC-TGC-AGT-TC-MGBNFQ-3'	forward primer reverse primer Taqman@probe	8	104 nt	Snow <i>et al.</i> , 2006
5'-GAC-CAG-ACA-AGC-TTA-GGT-AAC-ACA-GA-3' 5'-GAT-GGT-GGA-ATT-CTA-CCT-CTA-GAC-TTG-TA-3'	forward primer reverse primer	6 (HPR)	304 nt if HPR0	Designed by OIE Ref. Lab.

## 4.3.1.2.4. Agent purification

ISAV propagated in cell culture can be purified by sucrose gradient centrifugation (Falk *et al.*, 1997) or by affinity purification using immunomagnetic beads coated with anti-ISAV MAb.

### 4.3.2. Serological methods

Both Atlantic salmon and rainbow trout develop a humoral immune response to the ISAV infection. Enzyme-linked immunosorbent assays (ELISAs) with either purified virus or lysates from ISAV-infected cell cultures have been established for detection of ISAV-specific antibodies. ELISA titres can be very high and appear to be quite specific for the nucleoprotein in Western blots (K. Falk, pers. comm.). The test is not standardised for surveillance or diagnostic use, but may be used as a supplement to direct virus detection and pathology in obscure cases. Furthermore, the level and distribution of seroconversion in an ISAV-infected population may give some information about the spread of infection, particularly in cases where vaccination is not practised, and in wild fish.

## 5. Rating of tests against purpose of use

As an example, the methods currently available for targeted surveillance for infection with HPR-deleted ISAV and diagnosis of ISA are listed in Table 5.1. For surveillance of infection with HPR0 ISAV, real-time RT-PCR followed by sequencing is the only recommended method (not included in the table). The designations used in the Table indicate: a = the method is the recommended method for reasons of availability, utility, and diagnostic specificity and sensitivity; b = the method is a standard method with good diagnostic sensitivity and specificity; c = the method has application in some situations, but cost, accuracy, or other factors severely limits its application; and d = the method is presently not recommended for this purpose. These are somewhat subjective as suitability involves issues of reliability, sensitivity, specificity and utility. Although not all of the tests listed as category a or b have undergone formal standardisation and validation, their routine nature and the fact that they have been used widely without dubious results, makes them acceptable.

*Table 5.1. Methods for targeted surveillance and diagnosis\**

Method	Targeted surveillance for infection with HPR-deleted ISAV				Presumptive diagnosis	Confirmatory diagnosis
	Larvae	PLs	Juveniles	Adults		
Gross signs	d	d	d	d	c	b
Histopathology	d	d	d	b	b	b
IFAT on kidney imprints	d	d	d	d	b	a
Immunohistochemistry	d	d	d	d	b	a
Isolation in cell culture with virus identification	a	a	a	a	a	a
RT-PCR or real-time RT-PCR followed by sequencing	a	a	a	a	b	a

\*As the diagnosis of ISA is not based on the results of a single method, the information in this Table should be used with care. See Section 7 for the criteria for ISA diagnosis.

PLs = postlarvae; IFAT = indirect fluorescent antibody test; EM = electron microscopy; RT-PCR = reverse-transcription polymerase chain reaction.

Annexe 11 (suite)**6. Test(s) recommended for targeted surveillance to declare freedom from infectious salmon anaemia virus**

Regular health inspections combined with investigation for ISA when increased mortality is associated with one of the given clinical signs and/or pathological changes consistent with ISA is an efficient way of obtaining data on the occurrence of ISA in farmed populations. In addition to regular health inspections, testing for HPR-deleted ISAV, preferentially by PCR-based methodology, at certain intervals may be carried out. However, due to the uneven spread of infection within a farm, large numbers of samples need to be tested. The significance of positive findings of ISAV by PCR alone for the risk of developing ISA disease is not clear, and therefore any positive findings would have to be followed up by either further testing and/or surveillance of the production site.

Because of the transient nature of HPR0 ISAV, large sample sizes need to be tested at time points through the production cycle to be able to document freedom of this infection.

**7. Corroborative diagnostic criteria**

Reasonable grounds to suspect fish of being infected with ISAV (HPR-deleted or HPR0) are outlined below. The Competent Authority should ensure that, following the suspicion of fish infected with ISAV on a farm, an official investigation to confirm or rule out the presence of the disease will be carried out as quickly as possible, applying inspection and clinical examination, as well as collection and selection of samples and using the methods for laboratory examination as described in Section 4.

**7.1. Definition of suspect case (HPR-deleted ISAV)**

ISA or infection with HPR-deleted ISAV would be suspected if at least one of the following criteria is met:

- i) Clinical signs consistent with ISA or pathological changes consistent with ISA (Section 4.2) whether or not the pathological changes are associated with clinical signs of disease;
- ii) Isolation and identification of ISAV in cell culture from a single sample (targeted or routine) from any fish on the farm, as described in Section 4.3.1.2.1;
- iii) Evidence for the presence of ISAV from two independent laboratory tests such as RT-PCR (Section 4.3.1.2.3) and IFAT on tissue imprints (Section 4.3.1.1.2.1) or IHC (Section 4.3.1.1.3.1)

**7.2. Definition of confirmed case (HPR-deleted ISAV)****7.2.1. Definition of confirmed ISA**

The following criteria should be met for confirmation of ISA: Mortality, clinical signs and pathological changes consistent with ISA (Section 4.2), and detection of ISAV in tissue preparations by means of specific antibodies against ISAV (IHC on fixed sections [Section 4.3.1.1.3.1] or IFAT on tissue imprints [Section 4.3.1.1.2] or fixed sections as described in Section 4.3.1.1.3) in addition to either:

- i) Isolation and identification of ISAV in cell culture from at least one sample from any fish on the farm, as described in Section 4.3.1.2.1
- or
- ii) Detection of ISAV by RT-PCR by the methods described in Section 4.3.1.2.3;

## 7.2.2 Definition of confirmed HPR-deleted ISAV infection

The criteria given in i) or ii) should be met for the confirmation of infection with HPR-deleted ISAV.

- i) Isolation and identification of ISAV in cell culture from at least two independent samples (targeted or routine) from any fish on the farm tested on separate occasions as described in Section 4.3.1.2.1.
- ii) Isolation and identification of ISAV in cell culture from at least one sample from any fish on the farm with corroborating evidence of ISAV in tissue preparations using either RT-PCR (Section 4.3.1.2.3) or IFAT/IHC (Sections 4.3.1.1.2 and 4.3.1.1.3).

## 7.3. Definition of confirmed infection with HPR0 ISAV

### 7.3.1. Definition of confirmed infection with HPR0 ISAV

The criteria given in i) and ii) should be met for the confirmation of HPR0 ISAV infection.

- i) An absence of clinical signs consistent with ISA disease or mortality (= apparently healthy fish).
- ii) Detection of ISAV by RT-PCR followed by independent amplification and sequencing of the HPR region of segment 6 to confirm the presence of HPR0 only.

## 8. References

- AAMELFOT M., DALE O.B., WELI S., KOPPANG E.O. & FALK K. (2012). Expression of 4-O-acetylated sialic acids on Atlantic salmon endothelial cells correlates with cell tropism of Infectious salmon anemia virus. *J. Virol.*, **86**, 10571–10578.
- ALDRIN M., LYGSTAD T.M., KRISTOFFERSEN A.B., STORVIK B., BORGAN O. & JANSEN P.A. (2011). Modelling the spread of infectious salmon anaemia among salmon farms based on seaway distances between farms and genetic relationships between infectious salmon anaemia virus isolates. *J.R. Soc. Interface*, **8**, 1346–1356.
- CHRISTIANSEN D.H., ØSTERGAARD P.S., SNOW M., DALE O.B. & FALK K. (2011). A low-pathogenic variant of infectious salmon anemia virus (ISAV1 - HPR0) is highly prevalent and causes a non-clinical transient infection in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in the Faroe Islands. *J. Gen. Virol.*, **92**, 909–918.
- COTTET L., RIVAS-ARAVENA A., CORTEZ-SAN MARTIN M., SANDINO A.M. & SPENCER E. (2011) Infectious salmon anemia virus – genetics and pathogenesis. *Virus Res.*, **155**, 10-19.
- CUNNINGHAM C.O., GREGORY A., BLACK J., SIMPSON I. & RAYNARD R.S. (2002). A novel variant of the infectious salmon anaemia virus (ISAV) haemagglutinin gene suggests mechanisms for virus diversity. *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.*, **22**, 366–374.
- DANNEVIG, B.H., FALK, K. & NAMORK E. (1995). Isolation of the causal virus of infectious salmon anemia (ISA) in a long-term cell line from Atlantic salmon head kidney. *J. Gen. Virol.*, **76**, 1353–1359.
- DEVOLD M., KARLSEN M. & NYLUND A. (2006). Sequence analysis of the fusion protein gene from infectious salmon anemia virus isolates: evidence of recombination and reassortment. *J. Gen. Virol.*, **87**, 2031–2040.
- DEVOLD M., KROSSOY B., ASPEHAUG V. & NYLUND A. (2000). Use of RT-PCR for diagnosis of infectious salmon anaemia virus (ISAV) in carrier sea trout *Salmo trutta* after experimental infection. *Dis. Aquat. Org.*, **40**, 9–18.
- EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY (EFSA) (2012) EFSA Panel on Animal Health and Welfare (AHAW); Scientific Opinion on infectious salmon anaemia. *EFSA Journal*, **10** (11), 2971.

Annexe 11 (suite)

FALK K., NAMORK E., RIMSTAD E., MJAALAND S. & DANNEVIG B.H. (1997). Characterization of infectious salmon anemia virus, an orthomyxo-like virus isolated from Atlantic salmon (*Salmo salar* L). *J. Virol.*, **71**, 9016–9023.

GUSTAFSON L.L., ELLIS S.K., BEATTIE M.J., CHANG B.D., DICKEY D.A., ROBINSON T.L., MARENGHI F.P., MOFFETT P.J. & PAGE F.H. (2007). Hydrographics and the timing of infectious salmon anemia outbreaks among Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) farms in the Quoddy region of Maine, USA and New Brunswick, Canada. *Prev. Vet. Med.*, **78**, 35–56.

KAWAOKA Y., COX N.J., HALLER O., HONGO S., KAVERIN N., KLENK H.D., LAMB R.A., MCCAULEY J., PALESE P., RIMSTAD E. & WEBSTER R.G. (2005). Infectious Salmon Anaemia Virus. *In: Virus Taxonomy – Eight Report of the International Committee on Taxonomy Viruses*, Fauquet C.M., Mayo M.A., Maniloff J., Desselberger U., Ball L.A., eds. Elsevier Academic Press, New York, USA, pp 681–693.

KIBENGE F.S.B., GARATE O.N. JOHNSON G., ARRIAGADA K., KIBENGE M.J.T. & WADOWAKA D. (2001). Isolation and identification of infectious salmon anaemia virus (ISAV) from Coho salmon in Chile. *Dis. Aquat. Org.*, **45**, 9–18.

KIBENGE F.S.B., GODOY M.G., WANG Y., KIBENGE M.J.T., GHERARDELLI V., MANSILLA S., LISPERGER A., JARPA M., LARROQUETE G., AVENDAÑO F., LARA M. & GALLARDO A. (2009). Infectious salmon anaemia virus (ISAV) isolated from the ISA disease outbreaks in Chile diverged from ISAV isolates from Norway around 1996 and was disseminated around 2005, based on surface glycoprotein gene sequences. *Viol. J.*, **6**, 88.

KIBENGE F.S.B., KIBENGE M.J.T., WANG Y., QIAN B., HARIHARAN S. & MCGEACHY S. (2007). Mapping of putative virulence motifs on infectious salmon anaemia virus surface glycoprotein genes. *J. Gen. Virol.*, **88**, 3100–3111.

KIBENGE F.S.B., MUNIR K., KIBENGE M.J.T., MONEKE T.J. & MONEKE E. (2004). Infectious salmon anemia virus: causative agent, pathogenesis and immunity. *Anim. Health Res. Rev.*, **5**, 65–78.

KULSHRESHTHA V., KIBENGE M., SALONIUS K., SIMARD N., RIVEROLL A. & KIBENGE F. (2010). Identification of the 3' and 5' terminal sequences of the 8 RNA genome segments of European and North American genotypes of infectious salmon anaemia virus (an orthomyxovirus) and evidence for quasispecies based on the non-coding sequences of transcripts. *Viol. J.*, **7**, 338.

LYNGSTAD T.M., HJORTAAS M.J., KRISTOFFERSEN A.B., MARKUSSEN T., KARLSEN E.T., JONASSEN C.M. & JANSEN P.A. (2011). Use of molecular epidemiology to trace transmission pathways for infectious salmon anaemia virus (ISAV) in Norwegian salmon farming. *Epidemics*, **3**, 1–11.

LYNGSTAD T.M., KRISTOFFERSEN A. B., HJORTAAS M. J., DEVOLD, M., ASPEHAUG, V., LARSEN, R. B. & JANSEN, P. A. (2012). Low virulent infectious salmon anaemia virus (ISAV-HPR0) is prevalent and geographically structured in Norwegian salmon farming. *Dis. Aquat. Org.*, **101**, 197–206.

LYNGSTAD T.M., JANSEN P.A., SINDRE H., JONASSEN C.M., HJORTAAS M.J., JOHNSEN S. & BRUN E. (2008). Epidemiological investigation of infectious salmon anaemia (ISA) outbreaks in Norway 2003–2005. *Prev. Vet. Med.*, **84**, 213–227.

MARDONES F.O., PEREZ A.M., VALDES-DONOSO P. & CARPENTER T.E. (2011). Farm-level reproduction number during an epidemic of infectious salmon anaemia virus in southern Chile in 2007–2009. *Prev. Vet. Med.*, **102** (3), 175–184.

MARKUSSEN T., JONASSEN C.M., NUMANOVIC S., BRAAEN S., HJORTAAS M., NILSEN H. & MJAALAND S. (2008). Evolutionary mechanisms involved in the virulence of infectious salmon anaemia virus (ISAV), a piscine orthomyxovirus. *Virology*, **374**, 515–527.

MCBEATH A. J., BAIN N. & SNOW M. (2009). Surveillance for infectious salmon anaemia virus HPR0 in marine Atlantic salmon farms across Scotland. *Dis. Aquat. Org.*, **87**, 161–169.



MJAALAND S., HUNGNES O., TEIG A., DANNEVIG B.H., THORUD K. & RIMSTAD E. (2002). Polymorphism in the infectious salmon anemia virus hemagglutinin gene; importance and possible implications for evolution and ecology of infectious salmon anemia disease. *Virology*, **302**, 379–391.

MJAALAND S., MARKUSSEN T., SINDRE H., KJOGLUM S., DANNEVIG B.H., LARSEN S. & GRIMHOLT U. (2005). Susceptibility and immune responses following experimental infection of MHC compatible Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) with different infectious salmon anaemia virus isolates. *Arch. Virol.*, **150**, 2195–2216.

MJAALAND S., RIMSTAD E., FALK K. & DANNEVIG B.H. (1997). Genomic characterisation of the virus causing infectious salmon anemia in Atlantic salmon (*Salmo salar* L): an orthomyxo-like virus in a teleost. *J. Virol.*, **71**, 7681–7686.

MULLINS J.E, GROMAN D.B & WADOWSKA D (1998) Infectious salmon anaemia in salt water Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in New Brunswick, Canada. *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.*, **18**, 110–114.

NYLUND A., PLARRE H., KARLSEN M., FRIDELL F., OTTEM K.F., BRATLAND A., & SAETHER P.A. (2007). Transmission of infectious salmon anaemia virus (ISAV) in farmed populations of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Arch. Virol.*, **152**, 151–179.

PLARRE H., DEVOLD M., SNOW M. & NYLUND A. (2005). Prevalence of infectious salmon anaemia virus (ISAV) in wild salmonids in western Norway. *Dis. Aquat. Org.*, **66**, 71–79.

RIMSTAD E., DALE O.B., DANNEVIG B.H. & FALK K. (2011). Infectious Salmon Anaemia. *In: Fish Diseases and Disorders, Volume 3: Viral, Bacterial and Fungal Infections*, Woo P.T.K. & Bruno D., eds. CAB International, Oxfordshire, UK, 143–165.

RIVAS-Aravena A., VALLEJOS-VIDAL E., MARTIN M.C., REYES-LOPEZ F., TELLO M., MORA P., SANDINO A.M., SPENCER E. (2011). Inhibitory effect of a nucleotide analog on ISAV infection. *J. Virol.*, **85**, 8037–8045.

SNOW M., MCKAY P., McBEATH A. J. A., BLACK J., DOIG F., KERR R., CUNNINGHAM C. O., NYLUND A. & DEVOLD M. (2006). Development, application and validation of a taqman® real-time RT-PCR assay for the detection of infectious salmon anaemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (*Salmo salar*), Vannier P. & Espeseth D., eds. *New Diagnostic Technology: Applications in Animal Health and Biologics Controls*. Dev. Biol., Basel, Karger. **126**, 133–145.

THORUD K.E. & DJUPVIK H.O. (1988). Infectious salmon anaemia in Atlantic salmon (*Salmo salar* L). *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.*, **8**, 109–111.

\*  
\* \*

**NB:** There is an OIE Reference Laboratory for Infection with infectious salmon anaemia virus (see Table at the end of this *Aquatic Manual* or consult the OIE Web site for the most up-to-date list: <http://www.oie.int/en/our-scientific-expertise/reference-laboratories/list-of-laboratories/> ). Please contact the OIE Reference Laboratory for any further information on Infection with infectious salmon anaemia virus



## CHAPTER 2.4.9

## INFECTION WITH OSTREID HERPESVIRUS 1 MICROVARIANTS

---

### 1. Scope

For the purpose of this chapter, infection with ostreid herpesvirus 1 microvariants is considered a viral infection of bivalve molluscs caused by ostreid herpesvirus 1 microvariants, variants of OsHV-1 (ostreid herpesvirus 1) defined by a deletion in a microsatellite locus upstream from ORF4 (Renault *et al.*, 2012; Segarra *et al.*, 2010) when compared with the reference type OsHV-1.  $\mu$ Var is a microvariant Ostreid herpesvirus 1  $\mu$ Var is strictly defined by a 12 bp deletion in a microsatellite locus upstream of the ORF4 and additional mutations in ORF4 and ORF2/43; however, the scope of this chapter includes related variants with a deletion of around 12 base pairs in ~~this the microsatellite locus~~ region. The term OsHV-1 microvariants is used in this chapter to refer to the OsHV-1  $\mu$ Var microvariant and these related variants. Until now, mortality associated with OsHV-1 microvariants has only been reported in the Pacific cupped oyster *Crassostrea gigas* and in the Portuguese cupped oyster *C. angulata*. Infection with OsHV-1 microvariant mainly affects the Pacific cupped oyster, *Crassostrea gigas*.

### 2. Disease information

#### 2.1. Agent factors

OsHV-1 is the aetiological agent of a contagious viral disease of Pacific cupped oysters, *Crassostrea gigas*, also affecting other bivalve species. The genome of the virus was sequenced from infected Pacific oyster larvae collected in France in 1995 (Davison *et al.*, 2005). As this specimen was the first to be described (through complete genome sequencing), it can be considered as the reference type.

##### 2.1.1. Aetiological agent, agent strains

OsHV-1 particles have been purified from French *C. gigas* larvae (Le Deuff & Renault, 1999) and were observed by transmission electron microscopy to be enveloped icosahedral with electron dense cores and a diameter around 120 nm. The intranuclear location of the virus particles, their size and ultrastructure are characteristic of members of the *Herpesvirales*.

The genome structure and sequence, and the capsid morphology (Davison *et al.*, 2005) have been further studied in order to assess OsHV-1 phylogenetic status in relation to vertebrate herpesviruses. The entire virus DNA was sequenced (GenBank accession number AY509253) and OsHV-1 capsids appear structurally similar to those of other herpes viruses that have been studied (Davison *et al.*, 2005). The virus was classified under the name *Ostreid herpesvirus 1* (OsHV-1) as the first known species in the family *Malacoherpesviridae* (Davison *et al.*, 2009).

A variant of OsHV-1 has been identified in France (Arzul *et al.*, 2001b) in *C. gigas*, *Ruditapes philippinarum* and *Pecten maximus*. Friedman *et al.* (2005) and Moss *et al.* (2007) also described differences in the sequences of OsHV-1 from California and Asia, respectively. Moss *et al.* (2007) suggested that there are at least two strains in Japan, one in South Korea and two in China (the People's Rep. of). One of the strains that occurred in China and South Korea was similar in sequence to the OsHV-1 strain from California described by Friedman *et al.* (2005), and the other strain from China was similar to OsHV-1 from France.

## Annexe 12 (suite)

More recently, polymerase chain reactions (PCRs) using different primer sets and PCR product sequencing enabled the detection of ~~a variant called  $\mu$ Var and other related~~ variants in association with high mortality events reported in Europe, Australia and New Zealand (Lynch *et al.*, 2012; Martenot *et al.*, 2011; Peeler *et al.*, 2012; Renault *et al.*, 2012; Segarra *et al.*, 2010). The term microvariant is used to define a single variant presenting all the mutations reported by Segarra *et al.* (2010) in two different virus genome areas. The term OsHV-1 microvariants is used to refer to OsHV-1 microvariant and these related variants.

Although the aetiological agent is represented by all specimens or variants of OsHV-1 (Arzul *et al.*, 2001b; Davison *et al.*, 2005; Martenot *et al.*, 2011; Moss *et al.*, 2007; Renault *et al.*, 2012; Segarra *et al.*, 2010; Shimahara *et al.*, 2012), increased mortality outbreaks recently reported in Europe, Australia and New Zealand among *C. gigas* spat in association with the variant OsHV-1 microvariant or related viral variants suggested differences in terms of virulence among OsHV-1 variants. However, the detection of the ~~variant~~ microvariant or related variants have also been reported in absence of mortality events (Dundon *et al.*, 2011; EFSA, 2010; Shimahara *et al.*, 2012) suggesting that viral infection is influenced by both host and environmental factors.

### 2.1.2. Survival outside the host

Maximum survival time outside the host is unknown.

Schikorski *et al.* (2011a; 2011b) presented data on detection by real-time PCR of OsHV-1  $\mu$ Var DNA in seawater following cohabitation experiments. The copy numbers of virus DNA in the water in the first 48 hours after injecting spat with virus reached  $1 \times 10^5 \text{ ml}^{-1}$ , and reached a maximum of  $1 \times 10^6 \text{ ml}^{-1}$  following infection of cohabiting oysters. The amount of infectious virus is unknown.

### 2.1.3. Stability of the agent (effective inactivation methods)

The lack of cell cultures for OsHV-1 has meant that *in-vitro* studies on the stability of the virus with regard to infectivity have not been done. ~~As an alternative, extracted viral DNA was seeded into seawater and  $10 \text{ pg } \mu\text{l}^{-1}$  was detected for 16, 9 and 1 day at 4, 11 and  $20^\circ\text{C}$  respectively, and in a second experiment,  $100 \text{ pg } \mu\text{l}^{-1}$  was detected after 51 days at each temperature.~~

The longest time for DNA detection in OsHV-1 released from macerated larvae and seeded into seawater was 22 days at  $4^\circ\text{C}$  and 12 days at  $20^\circ\text{C}$  (Vigneron *et al.*, 2004). However, the relationship between detection of DNA in the PCR and infectivity of the virus is unknown. As a general rule, the survival of many aquatic animal viruses outside the host is greatest at lower temperatures.

### 2.1.4. Life cycle

Transmission ~~The life cycle~~ is direct from host to host (Le Deuff *et al.*, 1994; Schikorski *et al.*, 2011a; 2011b).

## 2.2. Host factors

### 2.2.1. Susceptible host species

~~OsHV-1 has been reported from the Pacific oyster, *C. gigas*, Portuguese oyster, *C. angulata*, suminee oyster, *C. ariakensis*, European flat oyster, *O. edulis*, Manila clam, *R. philippinarum*, carpet shell clam, *R. decussatus*, and scallops, *P. maximus* (Arzul *et al.*, 2001a; 2001b; Renault *et al.*, 2000). Until now, mortality attributable to OsHV-1 microvariants Ostroid herpesvirus 1  $\mu$ Var (Segarra *et al.*, 2010; Renault *et al.*, 2012) has been mainly reported as affecting in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* and in the Portuguese cupped oyster *Crassostrea angulata* (Batista *et al.*, pers. comm.).~~

### 2.2.2. Susceptible stages of the host

Although OsHV-1 microvariants can be detected in all oyster stages, mortality due to OsHV-1 microvariants only concern spat and juveniles in a lesser extent.

~~OsHV-1 infection may cause mortality in larvae and juveniles of several bivalve species. The virus can be found in adult bivalves most often in absence of mortality.~~

### 2.2.3. Species or subpopulation predilection (probability of detection)

*Crassostrea gigas* and *O. edulis*, *R. philippinarum*, *R. decussates* and *P. maximus* *C. angulata* are naturally infected by OsHV-1 microvariants. Young stages including larvae, spat and juveniles seem to be more susceptible to the infection. The virus is easier to detect in moribund animals than in healthy ones.

### 2.2.4. Target organs and infected tissue

The infection-associated lesions in juveniles are mainly observed in connective tissues of all organs in which fibroblastic-like cells exhibit enlarged nuclei with perinuclear chromatin (Arzul *et al.*, 2002; Lipart & Renault, 2002; Renault *et al.*; 1995; Schikorski *et al.*, 2011a).

### 2.2.5. Persistent infection with lifelong carriers

Apparently healthy oysters, including adults, have been shown to be PCR-positive for OsHV-1 (Arzul *et al.*, 2002; Moss *et al.*, 2007; Sauvage *et al.*, 2009). Pépin *et al.* (2008) showed that DNA copy numbers  $\text{mg}^{-1}$  tissue were high (up to  $10^7$ ) in oysters from populations with abnormal mortalities and low (lowest number detected  $10^1$ ) in populations with no abnormal mortalities. Determining the levels of viral DNA in oysters by quantitative PCR (qPCR) might be a summation means to differentiate between mechanical carriage of virus and low level of infection.

As the virus (DNA, protein or particles) has been detected in tissues of adult oysters, including the gonad (Arzul *et al.*, 2002; Lipart & Renault, 2002), adults may be a source of infection for larvae or spat, particularly under stressful conditions, e.g. from high temperature (Le Deuff *et al.*, 1996). However, what is not certain is whether true vertical transmission (transmission within the gametes) occurs or whether transmission is horizontal (Barbosa-Solomieu *et al.*, 2005).

### 2.2.6. Vectors

No vectors are required: the life cycle is direct (Schikorski *et al.*, 2011a; 2011b).

### 2.2.7. Known or suspected wild aquatic animal carriers

Several bivalve species may act as subclinical and healthy carriers (see Section 2.2.3).

OsHV-1 microvariant DNA has been recently detected in France and in Ireland in blue mussel, *Mytilus edulis*, and in *Donax trunculus* (Renault *et al.*, comm. pers.). However, in these cases, it remains unknown if these bivalve species are susceptible, resistant or may act as vector species.

## 2.3. Disease pattern

### 2.3.1. Transmission mechanisms

~~OsHV-1 DNA has been detected by qPCR in the water around diseased Pacific oysters (Sauvage *et al.*, 2009) and the disease induced by the variant OsHV-1 microvariant can be experimentally transmitted horizontally via the water (Schikorski *et al.*, 2011a), which presumably is the main natural mode of OsHV-1 transmission.~~

## Annexe 12 (suite)

The first published report (Le Deuff *et al.*, 1994) described rapid transmission of the virus from an extract of diseased larvae to axenic larvae of *C. gigas*. Inter species transmission from infected axenic larvae of *C. gigas* to axenic larvae of *C. rivularis* and *Ostrea edulis* was demonstrated experimentally (Arzul *et al.*, 2001b). A suspension of OsHV-1 from *R. philippinarum* was shown to infect axenic larvae of *C. gigas*, and a virus suspension from *C. gigas* was shown to infect axenic larvae of *C. angulata* (Arzul *et al.*, 2001b).

Experimental transmission of OsHV-1  $\mu$ Var has been described by Schikorski *et al.* (2011a; 2011b). The disease can be transmitted to spat at 22°C following intramuscular injection of an extract of naturally infected oysters, and also by cohabiting injected oysters with healthy oysters. Based on qPCR detection, results suggest that the virus may enter the digestive gland and haemolymphatic system, following which the virus was disseminated to other organs.

### 2.3.2. Prevalence

Reported mortality rates and OsHV-1 microvariants prevalence vary considerably between sites and countries and depend on the age of affected stocks (Lynch *et al.*, 2012; Martenot *et al.*, 2011; Peeler *et al.*, 2012; Renault *et al.*, 2012; Segarra *et al.*, 2010). To better understand the implication of OsHV-1 in *C. gigas* spat mortality outbreaks regularly reported both in the field and in nurseries in France, samples were collected yearly through the French National Network for Surveillance of Mollusc Health between 1997 and 2006 (Garcia *et al.*, 2011). Analyses were carried out by PCR for OsHV-1 detection. Virus DNA was frequently detected in samples collected during mortality events with OsHV-1 detection frequency varying from 9 to 65% depending on the year. Data also demonstrated a particular seasonality and topography of spat oyster mortalities associated with OsHV-1 detection. In the field, mortality outbreaks appeared in summer, preferentially in sheltered environments.

More recently, increased mortality notifications (from 40 to 100%) were reported in 2008–2011 in Europe affecting Pacific oysters. These increased mortalities were associated with the detection of OsHV-1 microvariant or related variants depending of geographical locations (Lynch *et al.*, 2012; Martenot *et al.*, 2011; Peeler *et al.*, 2012; Renault *et al.*, 2012; Segarra *et al.*, 2010).

### 2.3.3. Geographical distribution

OsHV-1 has been reported from Europe (France, Ireland, Italy, Netherlands, Portugal, Spain, Sweden, United Kingdom), Australia, Brazil, China (People's Rep. of), Korea, Japan, Morocco, Tunisia, Mexico, New Zealand and United States of America. OsHV-1 microvariants have been reported associated with Pacific oyster mass mortalities in Europe, Australia, New Zealand, and Korea, but is known to occur elsewhere in the absence of oyster mortalities.

### 2.3.4. Mortality and morbidity

Infection by all strains is often lethal for *C. gigas* spat and juveniles. Death usually occurs 1 week after infection, during or shortly after the warmest annual water temperatures (Friedman *et al.*, 2005; Garcia *et al.*, 2011; Renault *et al.*, 1994b).

Infected larvae show a reduction in feeding and swimming activities, and mortality can reach 100% in a few days.

### 2.3.5. Environmental factors

Mortality outbreaks associated with the detection of OsHV-1 microvariants are more frequent during summer, which might suggest a link between seawater temperature and OsHV-1 microvariants infection. The temperature influence on OsHV-1 detection and virus expression was demonstrated for *C. gigas* larvae (Le Deuff *et al.*, 1996) and strongly suspected for *C. gigas* spat (Burge *et al.*, 2007; Friedman *et al.*, 2005; Renault *et al.*, 1995; Sauvage *et al.*, 2009). A temperature threshold related to enhanced OsHV-1 expression or mortality appears difficult to define precisely. In the literature, according to the site, the temperature threshold was variable: 22°C to 25°C on the west coast of the USA (Friedman *et al.*, 2005; Burge *et al.*, 2007) and 18 to 20°C in France (Samain *et al.*, 2007; Soletchnik *et al.*, 1999). High seawater temperatures appear to be one of the potential factors influencing OsHV-1 infection.

Moreover, stressful conditions particularly rearing techniques seem to favour OsHV-1 infection. In France, during summer, many oyster transfers occur and might also amplify OsHV-1 transmission.

Spat mortality outbreaks associated with OsHV-1 detection generally presented a patchy distribution in the field (Garcia *et al.*, 2011). This particular pattern could be partly explained by the nature of the virus. Herpes viruses are enveloped and are assumed to be relatively labile in their environment. Thus, their transmission relies generally on direct contact. These data suggest that when OsHV-1 is excreted by oysters, it would mainly infect nearby oysters. The probable limited dissemination of OsHV-1 in seawater could partly explain the observation of the patchy mortality distribution rather than a uniform distribution as observed in nurseries. In nurseries, oysters are reared at high densities, are very close together and the seawater is often sequentially renewed.

## 2.4. Control and prevention

### 2.4.1. Vaccination

Not applicable

### 2.4.2. Chemotherapy

None

### 2.4.3. Immunostimulation

Not applicable

### 2.4.4. Resistance breeding

Based on recent data, it has been demonstrated that Pacific cupped oyster families less susceptible to OsHV-1 including the variant OsHV-1 microvariants µVar can be obtained (Degremont, 2011; Sauvage *et al.*, 2009).

### 2.4.5. Restocking with resistant species

In France, a project of restocking with selected Pacific oysters is ongoing.

Annexe 12 (suite)**2.4.6. Blocking agents**

None

**2.4.7. Disinfection of eggs and larvae**

None

**2.4.8. General husbandry practices**

Biosecurity may be successfully applied in confined and controlled facilities such as hatcheries and nurseries in order to protect the facility and the surrounding environment from the introduction of the virus.

As a herpesvirus, OsHV-1 may be assumed to be fragile outside its hosts. High temperature, chemicals or sunlight (UV) may destroy its lipid-containing envelope, capsid or DNA. However, it has been demonstrated that individual herpesvirus species may have different levels of stability to inactivation treatment. Inorganic salts such as Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> present in seawater may stabilise herpesviruses (Wallis & Melnick, 1965).

In controlled rearing conditions (mollusc hatchery/nursery), OsHV-1 outbreaks may therefore be controlled through quarantine and hygienic measures including virus inactivation through adapted treatments such as ultraviolet irradiation of the recirculating water and water filtration technologies. However, it is necessary to keep in mind that reduction of virus load depends on the initial titre and the virus reduction capacity of the techniques used for inactivation. ~~If there was an initial concentration of 1 million viruses per litre and the inactivation method used allowed inactivation of 100,000 viruses per litre, there would still be numerous infective particles in the treated product.~~

Moribund and dead oysters should be removed and destroyed whenever feasible. Equipment used in an infected zone should not be sent and used in a non-affected zone without adequate cleaning and disinfection.

**3. Sampling****3.1. Selection of individual specimens**

Live or moribund individuals should be sampled.

**3.2. Preservation of samples for submission**

For histology, the best preservative is Davidson's AFA, but 10% buffered formalin or other standard histology fixatives are also acceptable. For PCR assays, samples must be preserved in 95–100% ethanol or kept frozen (–80°C).

**3.3. Pooling of samples**

~~Pooling of small spat is acceptable for PCR/qPCR analyses. However, the effect of pooling samples on PCR/qPCR sensitivity has not been evaluated.~~ samples may be acceptable under some circumstances, however, the impact on sensitivity and design prevalence must be considered.

**3.4. Best organs or tissues**

For histology, ~~a 2-µm thick~~ sections through the visceral mass that include digestive gland, gill and mantle are used. For PCR, mantle tissue is best.



### 3.5. *Samples/tissues that are not suitable*

Gonad tissues may be not reliable for PCR assays because of the presence of inhibitors.

## 4. Diagnostic methods

### 4.1. *Field diagnostic methods*

#### 4.1.1. Clinical signs

Infection by OsHV-1 microvariants may cause an acute disease. Animals are likely to die within a few days of manifesting clinical signs of the disease. Clinical signs may be dead or gaping bivalves but these are not specific to infection with OsHV-1 microvariants.

#### 4.1.2. Behavioural changes

Infected hosts may be slow to close their valves when disturbed but these behavioural changes are not specific to infection with OsHV-1.

### 4.2. *Clinical methods*

#### 4.2.1. Gross pathology

Clinical signs may be dead or gaping bivalves but these clinical signs are not specific to infection with OsHV-1.

#### 4.2.2. Clinical chemistry

None

#### 4.2.3. Microscopic pathology

See Section 4.2.6. Fixed sections

#### 4.2.4. Wet mounts

Not applicable

#### 4.2.5. Smears

Not applicable

#### 4.2.6. Fixed sections

The most consistent features of infection with OsHV-1 are nuclear changes including hypertrophy, nuclear margination and pycnosis. The infection-associated lesions in spat are mainly observed in connective tissues in which fibroblastic-like cells exhibit enlarged nuclei with perinuclear chromatin. Highly condensed nuclei (apoptosis features) were also reported in other cells interpreted as haemocytes. These cellular abnormalities are not associated with massive haemocyte infiltration.

## Annexe 12 (suite)

Histological examination of the animal is not sufficient to identify infection with herpesvirus. Whilst Cowdry type A inclusions (eosinophilic intranuclear inclusions with perinuclear chromatin) are typical of many herpesvirus infections they are not a diagnostic feature of herpesvirus infections of oysters (Arzul *et al.*, 2002). Cowdry type A inclusions have never been reported following histological examination of infected Pacific cupped oysters in France (Renault *et al.*, 1994a; 1994b). Moreover, intranuclear inclusion bodies were not observed, although there was other cellular/nuclear pathology, in association with OsHV-1 infections in oysters in Mexico (Vásquez-Yeomans *et al.*, 2010) or USA (California) (Friedman *et al.*, 2005).

### 4.2.7. Electron microscopy/cytopathology

See Section 4.3.1.1.4.

## 4.3. Agent detection and identification methods

### 4.3.1. Direct detection methods

#### 4.3.1.1. Microscopic methods

##### 4.3.1.1.1. Wet mounts

Not applicable

##### 4.3.1.1.2. Smears

Not applicable

##### 4.3.1.1.3. Fixed sections

*Samples to be taken:* live or moribund oysters.

*Technical procedure:* Sections of tissue that include mantle, digestive gland, gills and adductor muscle should be fixed for 24 hours in 10% formaldehyde fixatives such as Davidson's AFA or other suitable fixative followed by normal processing for paraffin histology and staining with haematoxylin and eosin. Observations are made at increasing magnifications up to  $\times 400$ .

*Positive controls:* These are recommended and are available from the Genetics and Pathology Laboratory, Ifremer, La Tremblade, France. Positive controls are tissue sections from any *OsHV-1* infected mollusc.

*Levels of validation:*

- *Specificity and sensitivity:* Specificity is very low, and sensitivity is good for moderate- to high-intensity infections, but low for low-intensity infections.
- *Gold standard:* None

*Interpretation of results:*

- A positive result is the occurrence of cell abnormalities in tissue sections: Fibroblastic-like cells exhibiting enlarged nuclei with perinuclear chromatin. Highly condensed nuclei are also reported in other cells interpreted as haemocytes. These cellular abnormalities are not associated with massive haemocyte infiltration.
- In susceptible host species, within the known range for *OsHV-1*, a positive result is presumptive evidence of *OsHV-1* infection only and should be confirmed by species-specific PCR, *in-situ* hybridisation (ISH) and/or DNA sequencing.

*Availability of commercial tests:* No commercially available tests

#### 4.3.1.1.4. Electron microscopy/cytopathology

Transmission electron microscopy can be used to confirm the presence of viral particles in infected animals.

Tissue samples (containing connective tissue such as mantle) for examination by electron microscopy should be fixed using 2.5% (v/v) glutaraldehyde in 0.1 M cacodylate buffer and post-fixed in 1% (w/v) osmium tetroxide, washed in 0.1 M cacodylate buffer (3 × 10 minutes), dehydrated in a graded series of ethanol (70%, 1 × 10 minutes; 95%, 2 × 15 minutes; 100%, 3 × 20 minutes), washed in propylene oxide (2 × 15 minutes), pre-infiltrated in 50% propylene oxide/50% Epon resin (1 hour), infiltrated in 100% Epon resin (1 hour) and then embedded in Epon resin.

Virus replication mainly takes place in fibroblastic-like cells throughout connective tissues especially in mantle, labial palps, gills and digestive gland (Renault *et al.*, 1994b; 1995; Schikorski *et al.*, 2011a). Virogenesis begins in the nucleus of infected cells where capsids and nucleocapsids are observed. Viral particles then pass through the nuclear membrane into the cytoplasm and enveloped particles are released at the cell surface. Intranuclear and cytoplasmic capsids present a variety of morphological types including electron lucent capsids, toroidal core-containing capsids, and brick-shaped core-containing capsids.

#### 4.3.1.2. Agent isolation and identification

##### 4.3.1.2.1. Cell culture/artificial media

To date, attempts to culture the virus in both vertebrate and invertebrate cell lines and in primary oyster cell cultures have been unsuccessful.

##### 4.3.1.2.2. Antibody-based antigen detection methods

Specific antibodies have been developed (Arzul *et al.*, 2002). However, they are not currently available for diagnostic purposes.

##### 4.3.1.2.3. Molecular techniques

At present there are a number of different PCR methods available for the detection of OsHV-1. These include both conventional and real-time PCRs (Martenot *et al.*, 2010; Pépin *et al.*, 2008; Renault *et al.*, 2000).

A protocol for quantifying OsHV-1 in Pacific oysters based on a Sybr<sup>®</sup> Green real-time PCR was first developed (Pépin *et al.*, 2008). Martenot *et al.* (2010) developed an alternative protocol based on TaqMan<sup>®</sup> chemistry. The quantitation limits were 1000 and 18 UG mg<sup>-1</sup> of tissues for the Sybr<sup>®</sup> Green-based method and the TaqMan<sup>®</sup> method, respectively, and the latter protocol has a detection limit of 6 UG mg<sup>-1</sup> of tissues. Comparing the two protocols using DNA samples obtained from 210 spat, the kappa index (0.41) indicated a moderate concordance between the protocols, according to the measures of Landis and Koch. All samples that were positive by the reference protocol were also positive by the alternative protocol. Of the 76 samples that were negative by the reference protocol, 49 were positives by the alternative protocol. Although these results may suggest that the alternative protocol can be more sensitive than the reference protocol, formal validation is needed. A protocol based on TaqMan<sup>®</sup> chemistry is under development and validation for the detection of virus specimens or variants presenting the deletion reported in the microsatellite upstream from the ORF4 area (microsatellite) for OsHV-1 the variant microvariants (Pépin *et al.*, pers. comm.).

A loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay was also developed for OsHV-1 DNA detection (Ren *et al.*, 2010). A set of four primers was designed, based on the sequence of the ATPase subunit of the OsHV-1 DNA-packaging terminase gene. This LAMP technique can be used both in the laboratory and on farms.

## Annexe 12 (suite)

*Samples to be taken:* Live or moribund molluscs. Larvae (100–200 mg), spat (100–200 mg) or 2–3 mm<sup>2</sup> tissue pieces are excised aseptically from mantle, placed into 1.5 ml tubes, preserved in 95° alcohol or kept frozen (–80°C). Dissecting utensils should be flamed between samples to prevent cross-contamination.

### 4.3.1.2.3.1. Conventional PCR assays

Conventional PCR assays have been used successfully to detect OsHV-1 DNA in bivalves and different primer pairs have been designed (see Batista *et al.*, 2007 for a review).

Two pairs of primers (A3/A4 and A5/A6) were designed and used to detect virus DNA in Pacific oyster larvae and spat via nested PCR (Renault *et al.*, 2000). The specificity of these primer pairs was evaluated using DNA from *C. gigas* as well as DNA from vertebrate herpesviruses; 500 fg of virus DNA extracted from purified particles was routinely detected. The one-step PCR assay with the A3/A4 primer pair not only allowed amplification of OsHV-1 DNA but also the detection of a variant of this virus in *C. gigas* and *R. philippinarum* larvae (Arzul *et al.*, 2002).

Other primers were then designed including C2/C6. The combination of primer pairs A3/A4 and A5/A6 allowed less PCR amplification than C2/C6 (21.4% vs 32.4%) when the same larval samples were analysed (Renault & Arzul, 2001). C2/C6 primer pair systematically allowed the detection of 1 fg of purified viral DNA (Renault *et al.*, 2004). A detection limit of 10 fg of purified viral DNA for both primer pairs C13/C5 and Gp3/Gp4 has been reported (Vigneron *et al.*, 2004). As little as 1 pg and 10 pg allowed the C9/C10 and the OsHVDPFor/OsHVDPRev primer pairs, respectively, to detectably amplify a specific product (Webb *et al.*, 2007).

Although PCR specificity has been assessed for some of the primer pairs used to detect virus DNA (see above), this has not been done for all designed primer pairs. Moreover, the amplification conditions that have been used in PCR assays using different primer pairs were based on the conditions optimised for A3/A4 and A5/A6 (Renault *et al.*, 2000). An experimental procedure scheme used for the detection of OsHV-1 DNA by conventional PCR has been proposed by Bastista *et al.* (2007).

### 4.3.1.2.3.2. OsHV-1 specific Sybr® Green PCR assay (Pepin *et al.*, 2008)

Fifty mg of larvae/spat/mantle tissue are ground in 50 µl double-distilled water using a disposable piston. The crushed tissues are diluted six-fold and clarified at 10,000 **g** for 5 minutes. One hundred µl recovered supernatant are treated using a commercial DNA tissue kit (QIAGEN – QIamp tissue mini kit®) according to the manufacturer's protocol. Final elution of the DNA is performed with 100 µl TE buffer. The DNA is stored at –20°C. Prior to PCR, DNA concentrations can be measured by absorbance at 260 nm. According to total DNA concentration measured in samples, they are diluted in order to obtain 20 ng total DNA per PCR reaction.

Three sets of primers can be used targeting three regions of viral DNA: (ORF4, ORF88 and ORF99). Primer pairs B4/B3 (Arzul *et al.*, 2001b; ORF99 encoding a BIR protein) and C9/C10 (Barbosa-Solomieu *et al.*, 2004; ORF4) were previously designed for single PCR, whereas the Gp4/Gp7 primer pair (ORF88 encoding a class I membrane protein) was assessed for qPCR. The primer pairs B4/B3, C9/C10 and Gp4/Gp7 yield PCR products of 207, 197 and 85 bp, respectively.

B4: 5'-ACT-GGG-ATC-CGA-CTG-ACA-AC-3'

B3: 5'-GTG-GAG-GTG-GCT-GTT-GAA-AT-3'

C9: 5'-GAG-GGA-AAT-TTG-CGA-GAG-AA-3'

C10: 5'-ATC-ACC-GGC-AGA-CGT-AGG-3'

Gp4: 5'-GGC-GTC-CAA-ACT-CGA-TTA-AA-3'

Gp7: 5'-TTA-CAC-CTT-TGC-CGG-TGA-AT-3'

The C9/C10 primer pair yield reliable parameters for qPCR with OsHV-1 DNA, as well as the B3/B4 primer pair, which show closely similar parameters with a slightly lower  $E$  value (96.3%). The Gp4/Gp7 primer pair is less efficient ( $E = 91.3\%$ ) and less sensitive ( $\geq 50$  copies  $\mu\text{l}^{-1}$ ). The primer pair C9/C10 appears to be the most sensitive and efficient.

An additional primer pair DPFor/DPrev can be also used producing a 197 bp product (ORF100, DNA polymerase).

DPFor: 5'-ATT-GAT-GAT-GTG-GAT-AAT-CTG-TG-3'

DPrev: 5'-GGT-AAA-TAC-CAT-TGG-TCT-TGT-TCC-3'

Targeting different OsHV-1 DNA is important in order to define more precisely viral strains and isolates. Although ORF4 is an interesting candidate to describe diversity because virus polymorphism has been already reported in this area, ORF100 (DNA polymerase) appears to be less polymorphic.

All amplification reactions are performed in a total volume of 25  $\mu\text{l}$  with 96-microwell plates. Each well (25  $\mu\text{l}$ ) contains 5  $\mu\text{l}$  extracted DNA dilution (sample) or OsHV-1 genomic DNA (positive control), 12.5  $\mu\text{l}$  Brilliant® SYBR® Green I PCR Master Mix or FullVelocity® Master Mix (Stratagene), 2.5  $\mu\text{l}$  each diluted primer (final concentration 200 nM) and 2.5  $\mu\text{l}$  distilled water. Thermal cycle conditions are: 1 cycle of pre-incubation at 95°C for 10 minutes; 40 cycles of amplification at 95°C for 30 seconds (15 seconds with FullVelocity® Master Mix), 60°C for 45 seconds (30 seconds with FullVelocity® Master Mix) and 72°C for 45 seconds with Brilliant® Master Mix; and melting temperature curve analysis at 95°C for 60 seconds, 60°C for 30 seconds and 95°C for 30 seconds. Real time PCR analysis should be performed in triplicate with 5  $\mu\text{l}$  sample dilutions as DNA template or a viral DNA control.

Absolute quantitation of copies of OsHV-1 DNA (copies  $\mu\text{l}^{-1}$ ) is carried out by comparing CT (threshold cycle) values obtained with the standard curve, using the Thermocycler software. Each experiment includes a positive DNA control (OsHV-1 genomic DNA for absolute quantitation) and blank controls (NTC, no template control consisting of deionised sterile water). PCR efficiency ( $E$ ) is calculated from standard curves as the percentage of template molecules that is doubled during each cycle ( $[10^{(-1/\text{slope})} - 1] \times 100$ ), with requirements that it fell into the range 95–105% and that the coefficient of determination ( $R^2$ ) is  $>0.98$ . In order to allow detection of non-specific products, a dissociation protocol (melt curve) takes place after the amplification cycles. The temperature at which SYBR®Green fluorescence is generated by the double-stranded amplicon dissociation is recorded.

Regarding the test's sensitivity, it is considered that it can detect systematically 4 DNA copies  $\mu\text{l}^{-1}$ . The dynamic range for the qPCR was estimated from several standard curve assays, and a linear relationship was obtained between input copy number of the viral DNA template and CT value for over 5 log<sub>10</sub> dilutions. It was possible to quantitate OsHV-1 DNA copy numbers at least from 10 to  $5 \times 10^6$  copies  $\mu\text{l}^{-1}$ .

#### 4.3.1.2.3.3. OsHV-1 specific TaqMan® PCR assay (Martenot et al., 2010)

The target was the B region of the OsHV-1 genome, which encodes a putative apoptosis inhibitor (Arzul *et al.*, 2001b). Primer pairs and two TaqMan® probes were designed to detect simultaneously the target gene and an internal control (IC). The IC was a synthesised sequence containing at each end the forward OsHV1BF (5'-GTC-GCA-TCT-TTG-GAT-TTA-ACA-A-3') and reverse B4 (5'-ACT-GGG-ATC-CGA-CTG-ACA-AC-3') primers. The B4 primer used for the TaqMan PCR was the same as that published by Pepin *et al.* (2008).

The amplification of the targeted region and IC was performed by using the OsHV1BF and B4 primers. The B (5'-TGC-CCC-TGT-CAT-CTT-GAG-GTA-TAG-ACA-ATC-3') and the IC (5'-ATC-GGG-GGG-GGG-GGT-TTT-TTT-TTT-ATC-G-3') probes were labelled at the 5' end with the fluorescent reporter dyes TxR and FAM, respectively, and at the 3' end with an appropriate quencher (BHQI or BHQII).

## Annexe 12 (suite)

The reaction mixture contained 12.5 µl premix ExTaq<sup>®</sup> 2× Takara<sup>®</sup> (Lonza, Verviers, Belgium), 0.5 µl each primer (20 µM), 0.5 µl TaqMan<sup>®</sup> probes (10 µM) and 9 µl water. Two µl DNA sample was added to 23 µl reaction mixture. The amplification was performed in two stages under the following conditions: 1 cycle of 95°C for 10 seconds, followed by 40 cycles of amplification at 95°C for 5 seconds, 60°C for 20 seconds. The virus quantitation was carried out by comparison with standard curve values.

### 4.3.1.2.3.4. OshV-1 specific in-situ hybridisation

The *in-situ* hybridisation (ISH) procedure described here uses a digoxigenin (DIG)-labelled DNA probe to detect OshV-1 in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue (Arzul *et al.*, 2002; Lipart & Renault, 2002). This assay can detect the generic and emergent strains.

Sections of tissue that include mantle, digestive gland, gills and adductor muscle should be fixed for 24 hours in Davidson's AFA or other suitable fixative and processed using standard procedures for histological examination.

~~Seven µm thick~~ Tissue sections on silane-prep<sup>TM</sup> slides are dewaxed in xylene (2 × 5 minutes), treated in absolute ethanol (2 × 5 minutes) and air dried at room temperature (15 minutes). Sections are then permeabilised with proteinase K (100 µg ml<sup>-1</sup> in distilled water) for 30 minutes at 37°C in a humid chamber. Proteolysis is stopped by one 3-minute wash in 0.1 M Tris, 0.1 M NaCl buffer (pH 7.5) at room temperature. Sections are dehydrated in 95° ethanol for 1 minute, absolute ethanol for 1 minute and air dried (15 minutes).

A prehybridisation step is carried out with pre-hybridisation buffer (50% formamide, 10% dextran sulfate, 4 × SSC [0.06 M Na<sub>3</sub>citrate, 0.6 NaCl, pH 7], 250 µg ml<sup>-1</sup> yeast tRNA and 10% Denhart) for 30 minutes at 42°C in a humid chamber. The prehybridisation buffer solution is replaced with 100 µl hybridisation buffer solution containing 50 µl digoxigenin-labelled probe (5 ng µl<sup>-1</sup>) and 50 µl hybridisation buffer (50% formamide, 10% dextran sulfate, 4× SSC, 250 µg ml<sup>-1</sup> yeast tRNA and 10% Denhart). Slides are covered with plastic coverslips (Polylabo, France). DIG-labelled probes are synthesised from OshV-1 genomic DNA (100 pg per reaction) by incorporation of digoxigenin-11-UTP (Boehringer Mannheim, Germany) during conventional PCR. The primer pair C1/C6 is used:

C1: 5'- TTC-CCC-TCG-AGG-TAG-CTT-TT -3'

C6: 5'- GTG-CAC-GGC-TTA-CCA-TTT-TT -3'

Target DNA and digoxigenin-labelled probe are denatured at 95°C for 5 minutes and the hybridisation is carried out overnight at 42°C in a humid chamber.

After hybridisation, coverslips were removed carefully and slides were washed for 10 minutes in 1 × SSC (0.2% BSA) at 42°C. Specifically bound probe was detected using a peroxidase-conjugated mouse IgG antibody against digoxigenin (Boehringer Mannheim, Germany) diluted 1:250 in 1 × PBS (1 hour at room temperature). Unbound peroxidase-conjugated antibody was removed by six washes in 1 × PBS (5 minutes). Diaminobenzidine (DAB) tetrahydro-chloride was diluted in 1 × PBS (0.7 mg ml<sup>-1</sup>). The colour solution was added to tissue sections (500 µl) and incubated at room temperature in the dark for 20 minutes. The reaction was stopped with two 1 × PBS washes. Slides were stained for 20 seconds in Unna Blue (RAL, France) followed by ethanol dehydration and mounted in Eukitt via xylene.

Specific dark brown intra-cellular staining is indicative of the presence of viral DNA.

Thirty Pacific oyster adults have been analysed using three different techniques: PCR, ISH and immunochemistry, in order to detect OshV-1 in subclinical individuals (Arzul *et al.*, 2002). PCR and ISH allowed detection of oyster herpes virus DNA in 93.3% and 86.6%, respectively, of analysed oysters while polyclonal antibodies allowed detection of viral proteins in 76.6% of analysed adult oysters.

#### 4.3.1.2.4. Agent purification

OsHV-1 can be purified from infected animals using a previously developed technique (Le Deuff & Renault, 1999)

#### 4.3.2. Serological methods

None applicable.

### 5. Rating of tests against purpose of use

Should perinuclear chromatin be observed by histology, electron microscopy at least should be undertaken to identify any virus-like particles present and demonstrate their location within cells. Viruses observed by EM should be described as e.g. herpesvirus-like until further investigations are done to provide further evidence of the identity of the virus. As different herpesviruses are morphologically similar, a virus should only be described as OsHV-1 if it had been shown to have identity with the latter virus using OsHV-1 specific primers or probes.

For OsHV- 1, the presence of intracellular viral proteins, specific OsHV-1 messenger RNA, non-structural proteins and TEM demonstrating virions within cells constitute evidence for replication, but detection of viral presence by PCR alone does not. As many moribund/dead oysters from populations with abnormal mortalities had high copy numbers of viral DNA, it may be possible in some cases to extrapolate those data to infer that OsHV-1 has replicated in animals (from known or new host species) with such high levels of viral DNA. However, rigorous evaluation and validation is required before those data could be used in that way.

It may be possible to demonstrate viral infectivity by passage to a susceptible host with appropriate control animals (bioassay). Detection of mortality or characteristic changes associated with detection of the virus is an important consideration in the assessment but not conclusive evidence of host susceptibility. The anatomical location of the pathogen is important also to exclude potential passive contamination of the host. This information can be obtained by techniques such as TEM, immunohistochemistry or ISH.

As an example, the methods currently available for targeted surveillance and diagnosis are listed in Table 5.1. The designations used in the Table indicate: a = the method is the recommended method for reasons of availability, utility, and diagnostic specificity and sensitivity; b = the method is a standard method with good diagnostic sensitivity and specificity; c = the method has application in some situations, but cost, accuracy, or other factors severely limits its application; and d = the method is presently not recommended for this purpose.

Table 5.1. Methods for targeted surveillance and diagnosis

Method	Targeted surveillance			<u>Presumptive surveillance</u>			<u>Confirmatory diagnosis</u>		
	Larvae	Juveniles	Adults	<u>Larvae</u>	<u>Juveniles</u>	<u>Adults</u>	<u>Larvae</u>	<u>Juveniles</u>	<u>Adults</u>
Gross signs	d	d	d	<u>d</u>	<u>d</u>	<u>d</u>	<u>d</u>	<u>d</u>	<u>d</u>
Bioassay	d	d	d	<u>d</u>	<u>d</u>	<u>d</u>	<u>c</u>	<u>c</u>	<u>d</u>
Histopathology	d	d	d	<u>d</u>	<u>d</u>	<u>d</u>	<u>d</u>	<u>d</u>	<u>d</u>
Transmission EM	d	d	d	<u>d</u>	<u>d</u>	<u>d</u>	<u>b</u>	<u>b</u>	<u>b</u>
Antibody-based assays	d	d	d	<u>d</u>	<u>d</u>	<u>d</u>	<u>d</u>	<u>d</u>	<u>d</u>
DNA probes – <i>in situ</i>	c	c	c	<u>c</u>	<u>c</u>	<u>c</u>	<u>b</u>	<u>b</u>	<u>b</u>
PCR	a	a	a	<u>a</u>	<u>a</u>	<u>a</u>	<u>b</u>	<u>b</u>	<u>b</u>
qPCR	a	a	a	<u>a</u>	<u>a</u>	<u>a</u>	<u>b</u>	<u>b</u>	<u>b</u>
Sequence	d	d	d	<u>d</u>	<u>d</u>	<u>d</u>	<u>a</u>	<u>a</u>	<u>a</u>

EM = electron microscopy; PCR = polymerase chain reaction; qPCR = real-time PCR.

Annexe 12 (suite)**6. Test(s) recommended for targeted surveillance to declare freedom from OsHV-1 infection**

~~Not applicable. PCR and real-time PCR are recommended.~~

**7. Corroborative diagnostic criteria****7.1. Definition of suspect case**

A suspect case of infection with OsHV-1 microvariants is a case of mortality of susceptible species associated with detection of OsHV-1 by PCR, qPCR, or *in-situ* hybridisation.

**7.2. Definition of confirmed case**

A confirmed case is defined as a suspect case followed by sequencing of the microsatellite locus upstream the ORF4 (Segarra *et al.*, 2010) leading to sequences consistent with the definition of microvariants.

**8. References**

- ARZUL I., RENAULT T. & LIPART C. (2001a). Experimental herpes-like viral infections in marine bivalves: demonstration of interspecies transmission. *Dis. Aquat. Org.*, **46**, 1–6.
- ARZUL I., RENAULT T., LIPART C. & DAVISON A.J. (2001b) Evidence for inter species transmission of oyster herpesvirus in marines bivalves. *J. Gen. Virol.*, **82**, 865–870.
- ARZUL I., RENAULT T., THEBAULT A. & GERARD A. (2002). Detection of oyster herpesvirus DNA and proteins in asymptomatic *Crassostrea gigas* adults. *Virus Res.*, **84**, 151–160.
- BARBOSA-SOLOMIEU V., DEGREMONT L., VAZQUEZ-JUAREZ R., ASCENCIO-VALLE F., BOUDRY P. & RENAULT T. (2005). Ostreid herpesvirus 1 (OsHV-1) detection among three successive generations of Pacific oysters (*Crassostrea gigas*). *Virus Res.*, **107**, 47–56.
- BARBOSA-SOLOMIEU V., MIOSSEC L., VAZQUEZ-JUAREZ R., ASCENCIO-VALLE F. & RENAULT T. (2004). Diagnosis of Ostreid herpesvirus 1 in fixed paraffin-embedded archival samples using PCR and *in situ* hybridisation. *J. Virol. Methods*, **119**, 65–72.
- BATISTA F.M., ARZUL I., PEPIN J.F., RUANO F., FREIDMAN C., BOUDRY P. & RENAULT T. (2007) Detection of ostreid herpesvirus-1 DNA in bivalve molluscs: a critical review. *J. Virol. Methods*, **139** (1), 1–11.
- ~~BURGE C.A., JUDAH L.R., CONQUEST L.L., GRIFFIN F.J., CHENEY D.P., SUHRBIER A., VADOPALAS B., OLIN P.C., RENAULT T. & FRIEDMAN C.S. (2007). Summer seed mortality of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* Thunberg grown in Tomales Bay, California, USA: The influence of oyster stock, planting time, pathogens, and environmental stressors. *J. Shellfish Res.*, **26**, 163–172.~~
- 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.
- DAVISON A.J., TRUS B.L., CHENG N., STEVEN A.C., WATSON M.S., CUNNINGHAM C., LE DEUFF R.M. & RENAULT T. (2005). A novel class of herpesvirus with bivalve hosts. *J. Gen. Virol.*, **86**, 41–53.
- DEGREMONT L. (2011). Evidence of herpesvirus (OsHV-1) resistance in juvenile *Crassostrea gigas* selected for high resistance to the summer mortality phenomenon. *Aquaculture*, **317** (1–4), 94–98.



DUNDON W.G., ARZUL I., OMNES E., ROBERT M., MAGNABOSCO C., ZAMBON M., GENNARI L., TOFFAN A., TERREGINO C., CAPUA I., & ARCANGELI G. (2011). Detection of Type 1 Ostreid Herpes variant (OsHV-1 mu var) with no associated mortality in French-origin Pacific cupped oyster *Crassostrea gigas* farmed in Italy. *Aquaculture*, **314**, (1–4), 49–52.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY (EFSA) (2010). Scientific opinion on the increased mortality events in Pacific oysters, *Crassostrea gigas*. *EFSA J.*, **8**, 1–59.

FRIEDMAN C.S., ESTES R.M., STOKES N.A., BURGE C.A., HARGOVE J.S., BARBER B.J., ELSTON R.A., BURRESON E.M. & REECE K.S. (2005). Herpes virus in juvenile Pacific oysters *Crassostrea gigas* from Tomales Bay, California, coincides with summer mortality episodes. *Dis. Aquat. Org.*, **63** (1), 33–41.

GARCIA C., THEBAULT A., DEGREMONT L., ARZUL I., MIOSSEC L., ROBERT M., CHOLLET B., FRANÇOIS C., JOLY J.-P., FERRAND S., KERDUDOU N. & RENAULT T. (2011). OsHV-1 detection and relationship with *C. gigas* spat mortality in France between 1998 and 2006. *Vet. Res.*, **42**, 73–84.

LE DEUFF R.M., NICOLAS J.L., RENAULT T. & COCHENNEC N. (1994) Experimental transmission of a herpes-like virus to axenic larvae of Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.*, **14**, 69–72.

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.

LE DEUFF R.-M., RENAULT T. & GERARD A. (1996). Effects of temperature on herpes-like virus detection among hatchery-reared larval Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Dis. Aquat. Org.*, **24**, 149–157.

LIPART C. & RENAULT T. (2002). Herpes-like virus detection in *Crassostrea gigas* spat using DIG-labelled probes. *J. Virol. Methods*, **101**, 1–10.

LYNCH S.A., CARLSON J., REILLY A.O., COTTER E. & CULLOTY S.C. (2012). A previously undescribed ostreid herpes virus 1 (OsHV-1) genotype detected in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, in Ireland. *Parasitol.*, **139**, 1526-1532.

MARTENOT C., ODEN E., TRAVAILLE E., MALAS J.P. & HOUSSIN M. (2010). Comparison of two real-time PCR methods for detection of ostreid herpesvirus 1 in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *J. Virol. Methods*, **70** (1–2), 86–99.

MARTENOT C., ODEN E., TRAVAILLE E., MALAS J.P. & HOUSSIN M. (2011). Detection of different variants of Ostreid Herpesvirus 1 in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Virus Res.*, **160**, 25-31.

MOSS J.A., BURRESON E.M., CORDES J.F., DUNGAN C.F., BROWN G.D., WANG A., WU X. & REECE K.S. (2007). Pathogens in *Crassostrea ariakensis* and other Asian oyster species: implications for non-native oyster introduction to Chesapeake Bay. *Dis. Aquat. Org.*, **77**, 207–223.

PEELER J.E., REESE R.A., CHESLETT D.L., GEOGHEGAN F., POWER A. & TRUSH M.A. (2012). Investigation of mortality in Pacific oysters associated with Ostreid herpesvirus-1  $\mu$ Var in the Republic of Ireland in 2009. *Preventive Vet. Med.*, **105**, 136-143.

PEPIN J. F., RIOU A. & RENAULT T. (2008). Rapid and sensitive detection of ostreid herpesvirus 1 in oyster samples by real-time PCR. *J. Virol. Methods*, **149**, 269–276.

REN W., RENAULT T., CAI Y. & WANG C. (2010) Development of a loop-mediated isothermal amplification assay for rapid and sensitive detection of ostreid herpesvirus 1 DNA. *J. Virol. Methods*, **170**, 30–36.

Annexe 12 (suite)

RENAULT T. & ARZUL I. (2001). Herpes-like virus infections in hatchery-reared bivalve larvae in Europe: specific viral DNA detection by PCR. *J. Fish Dis.*, **24** (3), 161.

RENAULT T., ARZUL I. & LIPART C. 2004. Development and use of an internal standard for oyster herpesvirus 1 detection by PCR. *J. Virol. Method*, **121**, 17–23.

RENAULT T., COCHENNEC N., LE DEUFF R.M. & CHOLLET B. (1994a) Herpes-like virus infecting Japanese oyster (*Crassostrea gigas*) spat. *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.*, **14**, 64–66.

RENAULT T., LE DEUFF R.M., COCHENNEC N., CHOLLET B. & MAFFART P. (1995). Herpes-like viruses associated with high mortality levels in larvae and spat of Pacific oysters, *Crassostrea gigas*: A comparative study, the thermal effects on virus detection in hatchery-reared larvae, reproduction of the disease in axenic larvae. *Vet. Res.*, **26**, 539–543.

RENAULT T., LE DEUFF R.-M., COCHENNEC N. & MAFFART P. (1994b). Herpesviruses associated with mortalities among Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, in France – comparative study. *Revue de Médecine Vétérinaire*, **145**, 735–742.

RENAULT T., LE DEUFF R.-M., LIPART C. & DELSERT C. (2000). Development of a PCR procedure for the detection of a herpes-like virus infecting oysters in France. *J. Virol. Methods*, **88**, 41–50.

RENAULT T., MOREAU P., FAURY N. PEPIN J.-F., SEGARRA A. & WEBB S. (2012). Analysis of Clinical Ostreid Herpesvirus 1 (*Malacoherpesviridae*) Specimens by Sequencing Amplified Fragments from Three Virus Genome Areas. *J. Virol.*, **86**(10), 5942-5947.

ROQUE A., CARRASCO N., ANDREE K.B., LAGUESTA B., ELANDALOUSSI L. GAIRIN I., RODGERS C.J. & FURONES M.D. (2012). First report of OsHV-1 microvar in Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) cultured in Spain. *Aquaculture*, **324–325**, 303–306.

SAMAIN J.F., DEGREMONT L., SOLECHNIK P., HAURE J., BEDIER E., ROPERT M., MOAL J., HUVET A., BACCA H., VAN WORMHOUDT A., DELAPORTE M., COSTIL K., POUVREAU S., LAMBERT C., BOULO V., SOUDANT P., NICOLAS J.L., LE ROUX F., RENAULT T., GAGNAIRE B., GERTET F., BOUTET I., BURGEOT T. & BOUDRY P. (2007). Genetically based resistance to summer mortality in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) and its relationship with physiological, immunological characteristics and infection processes. *Aquaculture*, **268** (1–4), 227–243.

SAUVAGE C., PEPIN J.F., LAPEGUE S., BOUDRY P. & RENAULT T. (2009). Ostreid herpes virus 1 infection in families of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, during a summer mortality outbreak: difference in viral DNA detection and quantification using real-time PCR. *Virus Res.*, **142**, 181–187.

SCHIKORSKI D., FAURY N., PEPIN J.F., SAULNIER D., TOURBIEZ D. & RENAULT T. (2011a). Experimental ostreid herpesvirus 1 infection of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*: kinetics of virus DNA detection by q-PCR in seawater and in oyster samples. *Virus Res.*, **155** (1), 28–34.

SCHIKORSKI D., RENAULT T., SAULNIER D., FAURY N., MOREAU P. & PEPIN J.F. (2011b). Experimental infection of Pacific oyster *Crassostrea gigas* spat by ostreid herpesvirus 1: demonstration of oyster spat susceptibility. *Vet. Res.*, **42**, 1–13.

SEGARRA A., PEPIN J.F., ARZUL I., MORGA B., FAURY N. & RENAULT T. (2010). Detection and description of a particular *Ostreid herpesvirus 1* genotype associated with massive mortality outbreaks of Pacific oysters, *Crassostrea gigas*, in France in 2008. *Virus Res.*, **153**, 92–95.

Annexe 12 (suite)

SHIMATA Y., KURITA J., KIRYU I., NISHIOKA T., YUASA K., KAWANA M., KAMAISHI T. & OSEKO N. (2012). Surveillance of Type 1 Ostreid Herpesvirus (OsHV-1) variants in Japan. *Fish Pathol.*, **47** (4), 129–136.

~~SOLETSCHNIK P., LE MOINE O., FAURY N., RAZET D., GEAIRON P. & GOULLETQUER P. (1999). Mortalité de l'huître *Crassostrea gigas* dans le bassin de Marennes-Oléon : étude de la variabilité spatiale de son environnement et de sa biologie par un système d'informations géographiques (SIG). *Aquatic Living Resources*, **12**, 131–143.~~

VASQUEZ-YEOMANS R., GARCIA-ORTEGA M. & CACERES-MARTINEZ J. (2010). Gill erosion and herpesvirus in *Crassostrea gigas* cultured in Baja California, Mexico. *Dis. Aquat. Org.*, **89**, 137–144.

VIGNERON V., SOLLIEC G., MONTANIE H. & RENAULT T. (2004). Detection of ostreid herpes virus 1 (OsHV-1) DNA in seawater by PCR: influence of water parameters in bioassays. *Dis. Aquat. Org.*, **62**, 35–44.

WALLIS C. & MELNICK J. (1965). Thermostabilization and thermosensitization of herpesvirus. *J. Bacteriol.*, **90**, 1632–1637.

WEBB S.C., FIDLER A. & RENAULT T. (2007). Primers for PCR-based detection of ostreid herpes virus-1 (OsHV-1): Application in a survey of New Zealand molluscs. *Aquaculture*, **272**, 126–139.

\*  
\* \*



**PLAN DE TRAVAIL 2013-2014 DE LA COMMISSION DES ANIMAUX**

**Code aquatique:**

TÂCHE	Octobre 2013	Février 2014	Mai 2014 SG	Septembre 2014
OsHV-1 $\mu$ var – inscrit sur la liste comme maladie émergente		Reconsidérer son statut de maladie émergente		
<b>Chapitre 10.X. – Infection par l'alphavirus des salmonidés</b>	La CAA a élaboré un nouveau chapitre du Code qu'elle a communiqué aux Membres pour qu'ils formulent leurs commentaires	Examiner les commentaires des Membres	Soumission du chapitre aux membres pour qu'ils l'adoptent	
<b>Chapitre 6.1. – Maîtrise des dangers associés aux aliments destinés aux animaux aquatiques</b>	La CAA s'est accordée sur la structure du chapitre à réviser. La CAA doit rédiger la nouvelle version du chapitre	Examiner le projet de chapitre de la CAA et le soumettre aux Membres pour qu'ils formulent leurs commentaires		Examiner les commentaires des Membres
<b>Chapitre 6.X. l'Analyse du risque de résistance aux antimicrobiens en aquaculture (nouveau)</b>	Demander au groupe <i>ad hoc</i> un rapport sur l'état d'avancement du chapitre	Examiner le rapport du groupe <i>ad hoc</i>		
<b>Chapitre X.X. – Critères d'inscription sur la liste des espèces sensibles (nouveau)</b>	Examiner les commentaires des Membres et leur communiquer la version révisée du texte afin qu'ils formulent de nouveaux commentaires	Examiner les commentaires des Membres	Soumission du chapitre révisé aux Membres pour qu'ils l'adoptent	
<b>Chapitre sur l'Évaluation des Services en charge de la santé des animaux aquatiques (SSAA) (nouveau)</b>				Envisager l'élaboration d'un nouveau chapitre
<b>Réviser le Titre 4 afin d'améliorer les lignes directrices relatives au contrôle des maladies</b>	Élaborer une note conceptuelle en faveur de la révision de ce titre	Examiner le nouveau chapitre d'introduction de ce titre (la CAA est en charge de sa rédaction).		
<b>Article 1.2.3. – Critères d'inscription des maladies et des maladies émergentes</b>	La suppression proposée par la CAA a été communiquée aux Membres pour qu'ils formulent leurs commentaires	Examiner les commentaires des Membres	Soumission du texte aux Membres pour qu'ils l'adoptent	
<b>Chapitre 1.1.</b>	La CAA a révisé le texte et l'a communiqué aux Membres pour qu'ils formulent leurs commentaires	Examiner les commentaires des Membres	Soumission du chapitre révisé aux Membres pour qu'ils l'adoptent	
<b>Glossaire</b>	La CAA a révisé les définitions de "maladie émergente", "espèces sensibles" et "vétérinaire" et les a communiquées aux Membres pour qu'ils formulent leurs commentaires	Examiner les commentaires des Membres	Soumission des définitions modifiées aux Membres pour qu'ils les adoptent	

## Annexe 13 (suite)

Manuel aquatique :

Tâches	Octobre 2013	Février 2014	Mai 2014 SG	Septembre 2014
<b>Chapitre 2.3.5. – Anémie infectieuse du saumon</b>	La CAA a révisé le texte et l'a communiqué aux Membres pour qu'ils formulent leurs commentaires	Examiner les commentaires des Membres	Soumission du chapitre révisé aux Membres pour qu'ils l'adoptent	
<b>Chapitre 2.4.9. – OsHV-1 µvar</b>	La CAA a révisé le texte et l'a communiqué aux Membres pour qu'ils formulent leurs commentaires	Examiner les commentaires des Membres	Soumission du chapitre révisé aux Membres pour qu'ils l'adoptent	
<b>Chapitre 1.1.3. – Désinfection</b>	<b>Novembre 2013:</b> Communication de la version révisée du texte aux Membres pour qu'ils formulent leurs commentaires	Examiner les commentaires des Membres	Soumission du chapitre révisé aux Membres pour qu'ils l'adoptent	
<b>Chapitre X.X.X. – Infection par l'alphavirus des salmonidés</b>	<b>Novembre 2013:</b> Communication du nouveau chapitre aux Membres pour qu'ils formulent leurs commentaires	Examiner les commentaires des Membres	Soumission du chapitre aux Membres pour qu'ils l'adoptent	

Autres points :

Tâches	Octobre 2013	Février 2014	Fin 2014	Début 2015
<b>Conférence mondiale de l'OIE sur la santé des animaux aquatiques (janvier 2015, à confirmer)</b>	Créer un Comité scientifique. Élaborer le programme.	Finaliser le programme		Conférence
<b>Conférence mondiale des Laboratoires de référence de l'OIE (7 - 9 octobre 2014)</b>	La CAA doit contribuer à l'élaboration du programme et la création du Comité scientifique.		Conférence (7 - 9 octobre 2014)	

---

© **Organisation mondiale de la santé animale (OIE), 2013**

Le présent document a été préparé par des spécialistes réunis par l'Organisation mondiale de la santé animale (OIE). En attendant son adoption par l'Assemblée mondiale des Délégués, les points de vue qui y sont exprimés traduisent exclusivement l'opinion de ces spécialistes.

Toutes les publications de l'OIE sont protégées par la législation internationale sur les droits d'auteur. Des extraits peuvent être copiés, reproduits, traduits, adaptés ou publiés dans des périodiques, documents, ouvrages, supports électroniques ou tout autre média destiné au public, dans un but informatif, éducatif ou commercial, sous réserve de l'autorisation écrite préalable de l'OIE.

Les désignations et dénominations employées ainsi que la présentation des données de cette publication ne reflètent aucune prise de position de l'OIE quant au statut de quelque pays, territoire, ville ou zone que ce soit, à leurs autorités, aux délimitations de leur territoire ou au tracé de leurs frontières.

Les points de vue exprimés dans les articles signés relèvent de la seule responsabilité de leurs auteurs. La mention de sociétés commerciales ou de produits fabriqués, brevetés ou non, n'implique pas que ces sociétés ou produits soient approuvés ou recommandés par l'OIE de préférence à d'autres, de nature similaire et non cités.