

# Loire

## LE DÉPARTEMENT

**Pôle Aménagement et Développement Durable  
Direction des Services Territoriaux et de  
l'Environnement**

### RAPPORT FINAL

Recherche pathologique sur les populations  
d'écrevisses à pieds blancs dans le département  
de la Loire  
Campagne 2019



Dispositif de soutien aux actions en faveur des espèces  
faunistiques prioritaires du département de la Loire

(42)

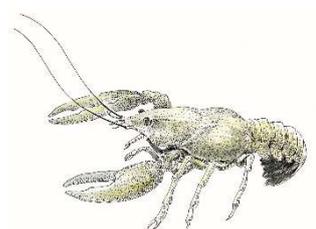


MARS 2020

# Sommaire :

## Table des matières

1	Préambule :.....	5
2	Objectifs de l'étude :.....	5
3	Les maladies des écrevisses :.....	6
3.1	Mycoses :.....	6
3.2	Bactérioses :.....	7
3.3	Parasitoses :.....	7
3.4	Infections virales et diverses : .....	8
4	Protocole :.....	9
4.1	Identification des sites à analyser : .....	9
4.2	Prestataire d'analyse :.....	11
4.3	Méthodes d'analyses suivant les sites :.....	11
4.3.1	Suspicion clinique par méthode PCR :.....	12
4.3.2	Recherche de portage sain par méthode PCR : .....	12
4.3.3	Analyses complètes de recherche d'agents pathogènes :.....	12
5	Résultats :.....	13
5.1	Résultats globaux :.....	13
5.2	Discussions des résultats par sites :.....	14
5.2.1	Bassin versant de l'Aix :.....	14
5.2.2	Bassin versant de l'Ance du Nord : .....	16
5.2.3	Bassin versant du Gier :.....	17
5.2.4	Bassin versant du Lignon :.....	18
5.2.5	Bassin versant de la Loire : .....	22
5.2.6	Bassin versant de la Mare :.....	23
6	Perspectives :.....	26
6.1	Futures analyses :.....	26
6.2	Moyens de lutte :.....	26
6.3	Evolution future des populations :.....	26
7	Quelques références :.....	27
8	Annexe 1 : Peste des écrevisses (maladie fongique) :.....	29
9	Annexe 2 : Maladies virales des écrevisses : .....	38
10	Annexe 3 : Fiches de résultats du laboratoire du Jura.....	43



### Identification du porteur de l'étude

<b>Nom de la structure</b>	FEDERATION DES ASSOCIATIONS AGREEES POUR LA PECHE ET LA PROTECTION DES MILIEUX AQUATIQUES DE LA LOIRE (FDAAPPMA42)		
<b>Adresse</b>	ZA LE BAS ROLLET, 6, allée de l'Europe		
<b>Code Postal</b>	42480	<b>Commune</b>	LA FOUILLOUSE
<b>Téléphone</b>	04 77 02 20 00	<b>Télécopie</b>	04 77 02 20 09
<b>E-mail</b>	<a href="mailto:flppma@federationpeche42.fr">flppma@federationpeche42.fr</a>		
<b>N° SIRET</b>	776 358 251 00028 097 code APE 9319Z		

### Rédacteurs

<b>Nom :</b>	SCARAMUZZI	<b>Prénom :</b>	Mathieu
<b>Fonction</b>	Technicien hautement qualifié Milieu aquatique		
<b>Téléphone</b>	04 77 02 20 07	<b>E-mail</b>	<a href="mailto:mathieu.scaramuzzi@federationpeche42.fr">mathieu.scaramuzzi@federationpeche42.fr</a>

<b>Relecture et validation</b>	GRES Pierre		
<b>Fonction</b>	Responsable du service technique		
<b>Téléphone</b>	04 77 02 20 04	<b>E-mail</b>	<a href="mailto:pierre.gres@federationpeche42.fr">pierre.gres@federationpeche42.fr</a>

### Descriptif du projet

Recherche pathologique sur les populations d'écrevisses à pieds blancs dans le département de la Loire Campagne 2019

### Lien avec la stratégie départementale

<b>Espèce(s) concernée(s)</b>	<b>Objectif général de la stratégie</b>
Ecrevisse à pieds blancs	D - Amélioration des connaissances

## 1 PREAMBULE :

La FEDERATION DES ASSOCIATIONS AGREEES POUR LA PECHE ET LA PROTECTION DES MILIEUX AQUATIQUES DE LA LOIRE est en charge du suivi de l'évolution des populations d'écrevisses à pieds blancs du département de la Loire. Depuis les premières investigations datant des années 1990 à 2000 avec l'appui du Conseil Supérieur de la Pêche, une forte régression des populations et de nombreuses disparitions sont à déplorer. En effet, en 2000, 80 sites à écrevisses pour 165 km de cours d'eau colonisés étaient enregistrés dans nos bases de données<sup>1</sup> contre environ 55 sites et 90 km en 2018.

Cette diminution tend à s'expliquer par la modification des milieux et des pressions (urbanisation, voirie, drainage, pollutions organiques domestiques et agricoles et par les produits phytosanitaires...) ; **mais aussi et surtout par l'arrivée des populations exogènes** telles les écrevisses américaines (surtout l'écrevisse californienne : *Pacifastacus leniusculus*) qui ont supplanté les populations locales sur de nombreux secteurs. Parallèlement, des disparitions totales ou partielles de certains sites n'ont pas pu être élucidées même si de nombreuses suppositions ont été émises (pathologie, sécheresse, pollution...).

A l'échelle départementale, notre service technique n'est pas en mesure d'assurer plus d'un suivi tous les 3 à 5 ans pour chaque site. Il est donc difficile d'identifier les causes de raréfaction avec des fréquences si faibles.

L'épisode caniculaire de l'été 2015 avait mis en avant des mortalités massives sur 3 populations majeures du département (Curraize, Mornante, Aigue-blanche). Des analyses en laboratoire avait permis de déterminer la cause : un agent pathogène très connu et surtout très redouté : *Aphanomyces astaci*, champignon plus communément appelé la « peste de l'écrevisse ».

Depuis cette épizootie, les 3 populations ont évolué de façons différentes :

La population de la Curraize a régressé de façon radicale en perdant 80% de son linéaire avant de se stabiliser depuis 2017 ;

La Mornante a très fortement régressé en 2 années (perte de 2,5km) et reste stable depuis 2016 sur un linéaire inférieur à 1km ;

L'Aigue blanche aurait complètement disparu, mais aucune prospection récente de terrain ne peut le confirmer.

## 2 OBJECTIFS DE L'ETUDE :

L'objectif premier était d'avoir des données sur les populations les plus menacées où sont identifiées des anomalies (régression, mortalité...) avec suspicion de la présence d'agents pathogènes.

Les analyses bactériologiques, parasitologiques et mycologiques en laboratoire devaient permettre de confirmer ou d'exclure la présence d'agents pathogènes. Cela renforce le choix des mesures de gestion les mieux adaptées.

L'objectifs second était de voir si d'autres populations, apparemment saines, pourraient être infectées.

---

<sup>1</sup> Voir *ATLAS des sites à écrevisses dans le département de la Loire mise à jour février 2004 - Rapport FDPPMA/CSP PG n°01/2004, 219 pages*

### 3 LES MALADIES DES ÉCREVISSES :

Les écrevisses à pieds blancs, mais également les autres écrevisses autochtones européennes, sont particulièrement sensibles aux maladies et la qualité des eaux. Globalement, il existe peu d'études et de rendus sur les maladies sur ces crustacés. Seule la peste *Aphanomyces Astaci* a été étudiée finement par de nombreux chercheurs en Europe, car cette dernière, très virulente, a impacté l'économie gravitant autour des espèces locales. Il est présenté ici une synthèse de ce qui est rencontré communément en France et principalement dans le Massif Central.

#### 3.1 Mycoses :

**L'Aphanomyose** (*Aphanomyces Astaci*), est un champignon (Oomycète) qui parasite uniquement les écrevisses. Il est classé parmi les 100 espèces exotiques envahissantes parmi les plus néfastes au monde selon l'UICN (voir bibliographie en **Annexe 1**).

**Règne : Chromistes**

**Phylum : Oomycota**

**Classe : Oomycètes**

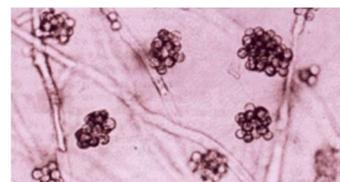
**Sous Classe : Saprolegniomycetidae**

**Ordre : Saprolegniales**

**Famille : Saprolegniaceae**

**Genre : *Aphanomyces***

**Espèce : *Aphanomyces astaci*, Schikora, 1906**



De grandes mortalités d'écrevisses ont été observées dans les années 1860 en Italie en lien avec *Aphanomyces Astaci*. Puis la maladie s'est propagée au travers de l'Europe s'étalant des Balkans à la Scandinavie. L'origine de la souche de ces infections du 19<sup>ème</sup> siècle n'a jamais été formellement établie mais est probablement en lien avec l'introduction de l'écrevisse d'eau douce américaine dans le système hydrographique local. C'est à partir de ce moment que la maladie s'est répandue à travers l'Europe (Alderman, 1996). Dans les années 1960, les premiers foyers en Espagne ont été signalés, et dans les années 1980, de nouvelles extensions d'infection aux îles Britanniques, la Turquie. Cette seconde vague de contamination et d'infection est surtout liée à l'arrivée de l'astaciculture avec des espèces nord-américaines (*Pacifastacus leniusculus*, *Orconectes limosus* et *Procambarus clarkii*). Actuellement, ces espèces sont en pleine expansion et largement présentes dans de nombreuses régions d'Europe et propagent différentes souches d'*Aphanomyces Astaci* plus ou moins virulentes.

*Aphanomyces Astaci* attaque par les zones tendres de la carapaces (membranes articulaires et intersegmentaires). Puis il se propage dans le corps et envahi tous les tissus (principalement les tissus conjonctifs). Les écrevisses autochtones qui sont atteintes par cette pathologie peuvent être décimées très rapidement (quelques semaines). Les écrevisses exotiques sont souvent vectrices de ce champignon et sont porteuses saines, même si dans certain cas il est observé des mortalités mais de faible ampleur.

Il s'agit d'un Oomycète très résistant capable de survivre pendant 2 mois sans hôte et il supporte des gammes de température importante. Sa sporulation est la plus effective entre 4 et 20°C, ce qui lui laisse une gamme thermique importante et notamment pour nos cours d'eau du département où la majorité des données se trouve dans cette gamme. Il est aussi constaté que la vitesse d'une épizootie est renforcée par des températures d'eau plus élevées que nous observons depuis de nombreuses années. A basse température de l'eau, l'épizootie peut être très lente et la période de mortalité peut durer plusieurs mois.

L'origine de la contamination des populations par le champignon est multiple. En effet sa résistance fait que les spores du champignon peuvent être transportées par tout support entrant en contact avec lui, mucus du poisson, botte de pêcheurs, mammifères, oiseaux....

Il n'existe aucun vaccin ou traitement pour traitement des individus ; seule une mise en garde est efficace. Pour la lutte de sa propagation, une désinfection efficace est recommandée ou un séchage complet d'au moins 24h.



**La Fusariose** est un champignon qui parasite majoritairement les branchies des écrevisses, provoquant les mêmes symptômes visuels (taches de rouille) que la Psorospermiose. Les *Fusarium sp* sont aptes à attaquer les écrevisses en se développant dans la carapace et provoquant l'apparition de taches tégumentaires brunes qui peuvent couvrir la moitié de l'abdomen. Cette invasion de la cuticule, qui touche aussi bien les zones membranaires que les parties calcifiées les plus épaisses, s'accompagne d'une croissance mycélienne interne se traduisant par l'apparition d'un amas volumineux de filaments et de cellules sanguines incluant certaines masses musculaires. La localisation des attaques, qui ne touchent que faiblement les organes vitaux, explique l'évolution lente de ce type de maladie.

### 3.2 Bactérioses :

**Les Pseudomonas** (bactéries Bacilliforme) regroupe nombreuses souches. Il s'agit d'une bactériose septicémique. Cette dernière développe des microorganismes dans le sang surtout le cœur et les branchies.

Impact sur les hôtes : Léthargie, réactions lentes, tremblement des membres jusqu'à la mort. L'infection se transmet généralement par les blessures et probablement par voie orale.

Techniques de diagnostic : Peu de signes cliniques macroscopiques jusqu'à ce que l'infection se développe parfaitement, puis suivent une léthargie, des réactions lentes et un tremblement des membres.

### 3.3 Parasitoses :

Des protozoaires et métazoaires divers ont été considérés comme responsables de mortalité des écrevisses. Ils peuvent être internes comme la Thélohaniose ou externes au travers des Branchiobdellidae.

**La Thélohaniose** (ou maladie de la porcelaine) est très commune et souvent diagnostiquée dans les



populations d'APP du département. Elle est liée à un protozoaire (*Thelohania contejeani*), qui attaque et détruit les tissus et la fibrille musculaire et aussi la masse cérébrale. Cette pathologie se traduit par une coloration blanchâtre des muscles de l'abdomen (diagnostic très facile sur le terrain). Cette maladie est couramment observée sur les populations d'écrevisses et apparaît plus souvent sur les populations denses où elle jouerait un rôle régulateur. Le taux d'individus touchés par cette maladie au sein d'une population varie entre 1% et 30 %. Elle ne provoque pas d'épizootie brutale et ne peut pas à elle seule entraîner la disparition d'une population. Ce protozoaire est dans la plupart des cas transmis par ingestion des cadavres infectés.

**Les Branchiobdellidae** ressemblent à de petites sangsues se fixant sur la cuticule de toutes les espèces d'écrevisses. Ce métazoaire ectoparasite est globalement peu nocif et ne provoque pas de mortalité sur les populations. Si les écrevisses peuvent parfois être parasitées par de très nombreux spécimens, il n'est pas constaté d'affaiblissement des écrevisses par les Branchiobdellidae, seule une nuisance importante peut être constatée en cas fixation importante au niveau des branchies.



**La Psorospermiose** : maladie appelée plus communément de type rouille, elle se caractérise par l'apparition de taches orangées sur la carapace. Cette dernière peut être très attaquée (ulcération, trou, perte de membre...). Elle ne cause pas de fortes mortalités au sein des populations de manière générale. Sur le terrain, il est souvent observé qu'il s'agit des gros individus (vieux sujets) qui sont atteints.

**Psorospermium haeckeli** est un endoparasite qui attaque toutes les espèces d'écrevisses (européennes et américaines) il attaque les tissus conjonctifs et arrive à provoquer la mort des sujets après plusieurs mois. La mort des sujets est souvent reliée au moment de la mue des individus. On ne sait pas s'il peut être responsable d'épizooties importantes.

### 3.4 Infections virales et diverses :

Virus à ARN tache de dépigmentation brunâtre circulaire (nouveau 2019) sur la Bonneil dans le Doubs (voir éléments sur les maladies virales en **Annexe 2**).

#### **Impact sur les hôtes :**

La relation entre l'infection et la maladie reste obscure pour ce qui est de la majorité des virus des écrevisses. En fonction du virus impliqué et de sa possible synergie avec d'autres virus ou pathogènes, les effets sur l'hôte peuvent être mortels, relativement bénins, ou même inconnus. Certaines infections virales peuvent ne se déclarer que lorsque les écrevisses sont exposées à des facteurs de stress comme la captivité, la surpopulation ou un environnement dégradé.

## 4 PROTOCOLE :

### 4.1 Identification des sites à analyser :

Sur la cinquantaine de sites à écrevisses à pattes blanches (APP) répertoriés dans le département en 2019, une première liste de 25 points de prélèvement a été établie.

Les populations identifiées étaient essentiellement des écrevisses à pieds blancs (APP), mais certains sites à écrevisses de Californie (PFL) présentaient aussi un intérêt d'analyse en raison de leurs proximités avec des populations autochtones. Nous savons que les PFL sont d'excellentes compétitrices et supplantent facilement une population native par compétition directe, mais aussi et surtout elles sont porteuses saines d'*Aphanomyces astaci*.

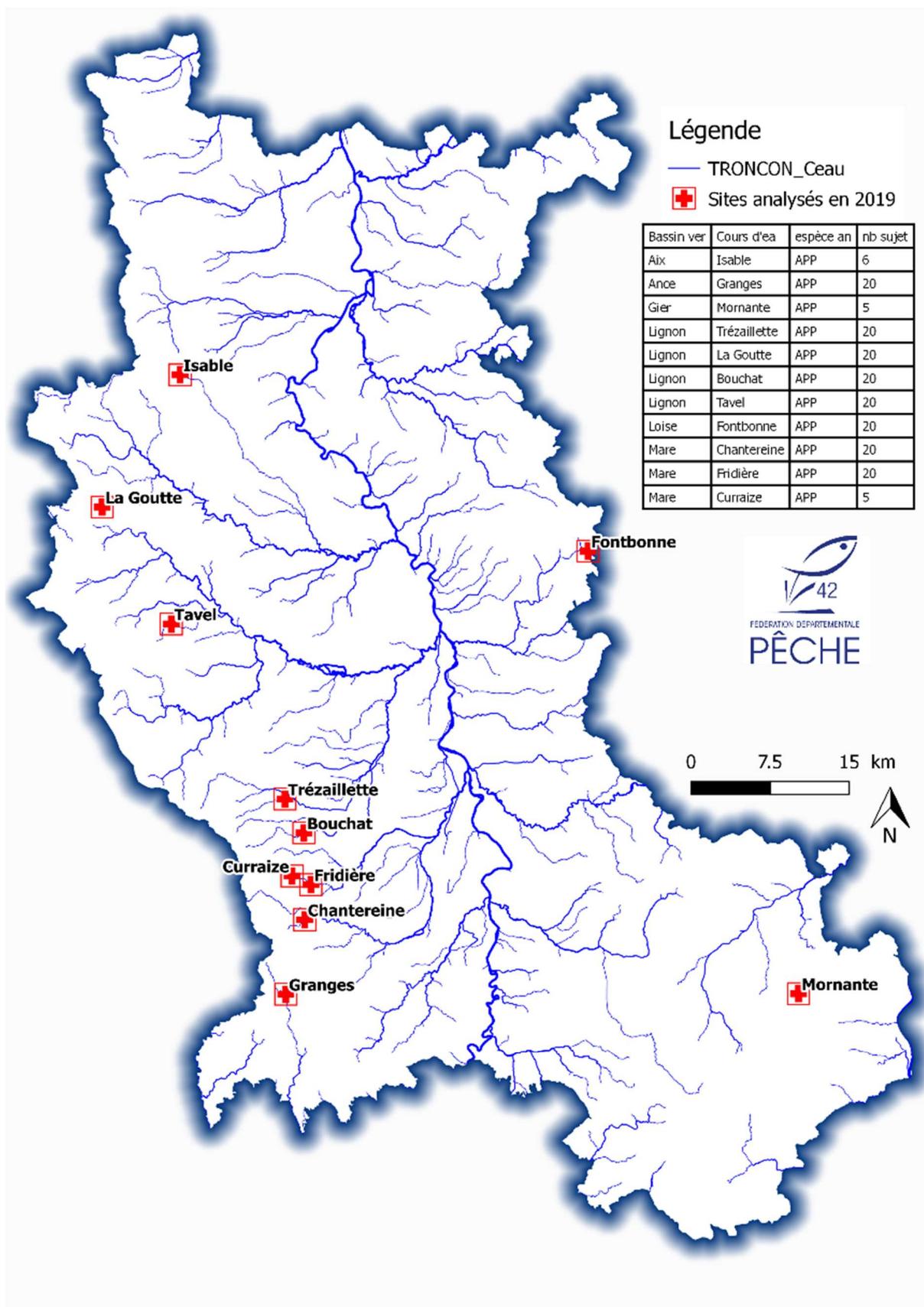
Il s'agit du pathogène qui sera le plus ciblé dans cette étude. Il est clairement mis en évidence que ce champignon peut être véhiculé par d'autres organisme et acteurs du milieu comme les oiseaux, poissons, mammifères, et les pêcheurs. Pour cela, le fait de savoir la présence du germe à proximité permet d'avoir connaissance et de mettre en place des mesures d'action visant à limiter le risque de contamination.

Pour 2019, il été fait le choix de faire ressortir 10 sites (Carte 1 et Tableau 1) pour des raisons de coûts d'analyses et du caractère expérimental de la démarche. Il a donc été mis en avant les 10 populations ayant le plus grand intérêt et où les soupçons de maladies étaient les plus sérieux. Il s'agissait également de refaire un point sur les populations déjà infectées afin de savoir l'état sanitaire de la population principale et des populations des affluents.

Tableau 1 : Sites à écrevisses pieds blancs prévus pour recherches pathologiques en 2019 auprès du LDA26.

Numéro client	12386
Organisme	Fédération Départementale de
Personne Référente	Mathieu Scaramuzzi
Mail	mathieu.scaramuzzi@federationpéc
Tel	0663434290

Grand BV	Bassin versant	Cours d'eau	Cas de la population	Examens demandés	nb_sujet	type_envoi
Loire	Lignon	Trézaillette	régression du site par l'aval et mortalité observée en 2017 et 2018 (régression cantonné en aval d'une cascade)	analyses complètes de recherche d'agents pathogènes	20	vivants
Loire	Lignon	La Goutte	régression légère et régulière du site par l'aval	analyses complètes de recherche d'agents pathogènes	20	vivants
Loire	Mare	Chantereine	mortalité et individus moribonds observés en 2013 sur l'aval de la population	analyses complètes de recherche d'agents pathogènes	20	vivants
Loire	Ance	Granges	mortalité constaté en 2018 (AFB42), et proximité de PFL (arrivée 2013-2014)	analyses complètes de recherche d'agents pathogènes	20	vivants
Loire	Lignon	Bouchat	disparition d'un site APP à proximité	recherche de portage sain par méthode PCR	20	alcool 80
Loire	Mare	Fridière	cas avéré de la peste à proximité (affluent de la Curraize)	recherche de portage sain par méthode PCR	20	alcool 80
Loire	Lignon	Tavel	proximité avec site à PFL (<à 20m, infranchissable, cascade), risque pathologique important	recherche de portage sain par méthode PCR	20	alcool 80
Loire	Loise	Fontbonne	proximité avec site à PFL (<à 20m, infranchissable, busage), risque pathologique important	recherche de portage sain par méthode PCR	20	alcool 80
Loire	Mare	Curraize	cas avéré de la peste sur ce site en 2014 (dossier LDA 140904 020925 01)	suspicion clinique par méthode PCR	5 à 10	alcool 80
Rhône	Gier	Mornante	cas avéré de la peste sur ce site en 2015 (dossier LDA 150804 018485 01)	suspicion clinique par méthode PCR	5 à 10	alcool 80



Carte 1 : Localisation des sites à écrevisses analysés en 2019

## 4.2 Prestataire d'analyse :

Aujourd'hui seul un laboratoire fait des analyses vétérinaires sur les astacidés, il s'agit du laboratoire départemental de Jura. Ce laboratoire est la référence en matière de recherche pathologique sur les populations d'écrevisses en France.

Le contact au sein du laboratoire est :

Docteur Vétérinaire Mme Françoise POZET  
 Laboratoire Départemental d'Analyses du Jura (LDA39)  
 59 rue du Vieil Hôpital - BP 40135  
 39802 POLIGNY Cedex 2  
 Téléphone : 03 84 73 73 40



Il s'agit du laboratoire ayant réalisé les analyses sur les populations de la Mornante et de la Curraize en 2014 et 2015.

## 4.3 Méthodes d'analyses suivant les sites :

Le Laboratoire propose différents types d'analyses en fonction de ce qui a pu être identifié sur la population et de l'agent pathogène recherché (**Tableau 2**).

Tableau 2 - tarifs des analyses spécifiques aux écrevisses (LDA39)

Ecrevisses	
<b>Autopsie, parasitologie, bactérioscopie</b>	
Analyses pour un lot de 1 à 10 sujets d'une même espèce	
<b>Autopsie, parasitologie, bactérioscopie</b>	
	<b>Unités</b>
Sur milieu ordinaire et identification de germe simple	lot de 1 à 10 sujets
Sur milieu spécifique des flavobactéries	
<b>Mycologie par ensemencement</b>	
	<b>Unités</b>
Sur milieu ordinaire et identification de germe simple	lot de 1 à 10 sujets
Identification de fusariose	
Aphanomycose (agent de la Peste) suspicion clinique par méthode PCR	lot de 1 à 5 sujets
Aphanomycose (agent de la Peste) recherche de portage sain par méthode PCR	lot de 20 sujets

Dans la plupart des sites la méthode par PRC<sup>2</sup> sera employée car elle reste la plus fiable. Certains sites seront complétés par une autopsie complète des sujets analysés.

<sup>2</sup> \* **La PCR** : L'amplification en chaîne par polymérase (ACP) ou réaction en chaîne par polymérase (La PCR est l'abréviation anglaise de polymerase chain reaction, le sigle français ACP étant très rarement employé) est une méthode de biologie moléculaire d'amplification génique in vitro. Elle permet de dupliquer en grand nombre (avec un facteur de multiplication de l'ordre du milliard) une séquence d'ADN (Acide désoxyribonucléique) ou d'ARN (Acide ribonucléique) connue, à partir d'une faible quantité (de l'ordre de quelques picogrammes) d'acide nucléique (séquence spécifique d'ADN - l'Amplicon) et d'amorces spécifiques constituées d'oligonucléotides de synthèse de 20 à 25 nucléotides.

## 4.3.1 Suspicion clinique par méthode PCR :

Cela concerne les 2 sites ayant déjà été analysés en 2014 et 2015. La peste (*Aphanomyces astaci*) a été avérée dans les 2 cas et nous voulions savoir si le pathogène était encore présent dans la population.

Bassin versant	Cours d'eau	Espèce analysée	Cas de la population
Mare	La Curraize	APP	Cas avéré de la peste sur ce site en 2014 (dossier LDA 140904 020925 01) – Population stable et en cours de recolonisation en 2018
Gier	La Mornante	APP	Cas avéré de la peste sur ce site en 2015 (dossier LDA 150804 018485 01) - population stable depuis 2016

## 4.3.2 Recherche de portage sain par méthode PCR :

Il s'agit de secteurs ayant de très forts risques avec la peste (*Aphanomyces astaci*) car des disparitions de sites voisins ont été constatés et les risques d'infections sont aussi importants.

Bassin versant	Cours d'eau	Espèce analysée	Cas de la population
Lignon	Le Bouchat	APP	Disparition d'un site APP à proximité
Lignon	Le Tavel	APP	Proximité avec site à PFL (<à 20m, infranchissable, cascade), risque pathologique important
Loise	Le Fontbonne	APP	Proximité avec site à PFL (<à 20m, infranchissable, busage), risque pathologique important
Mare	Le Fridière	APP	Cas avéré de la peste à proximité (affluent de la Curraize)

## 4.3.3 Analyses complètes de recherche d'agents pathogènes :

Il s'agit de secteurs à fort enjeu subissant des régressions de linéaire et de densité peu explicables car les milieux n'ont pas subi de perturbations quelconques.

Bassin versant	Cours d'eau	Espèce analysée	Cas de la population
Ance	Les Granges	APP	Mortalité constatée en 2018 (AFB42), et proximité de PFL (arrivée 2013-2014)
Lignon	La Trézaillette	APP	Régression du site par l'aval et mortalité observée en 2017 et 2018 (régression cantonnée en aval d'une cascade)
Lignon	La Goutte	APP	Régression légère et régulière du site par l'aval depuis 2011
Mare	Le Chantereine	APP	Mortalité et individus moribonds observés en 2013 sur l'aval de la population

## 5 RESULTATS :

### 5.1 Résultats globaux :

On observe une faible part de populations affectées par des agents pathogènes provoquant des épizooties (Tableau 3 et voir aussi en annexe 3 les fiches de résultats du laboratoire Erreur ! Source du renvoi introuvable.).

Seul le cas de l'Isable, sur le bassin versant de l'Aix, confirme les mortalités observées sur le terrain au cours de la fin d'été 2019, par la présence du champignon *Aphanomyces Astaci*. Il s'agit pour le moment d'une mortalité massive qui semble avoir débuté à l'été 2018 et s'est poursuivie fortement en fin d'été 2019, à la faveur de contraintes hydrologiques majeures et de périodes caniculaires.

Les examens cliniques sur l'ensemble des autres sites semblent fort heureusement bénins pour les populations, elle témoigne cependant d'une certaine compétition entre congénères (absence d'appendice et de pince) :

Tableau 3 - Tableau des résultats des analyses pathologiques sur les écrevisses à pieds blancs - été 2019 (analyses LDA29)

Grand BV	Bassin versant	Cours d'eau	nb sujet	type envoi	Examens clinique			Parasitologie interne et externe	Examen hémolympgique	Branchies	PCR	remarques	
					effectif	Taches de rouille (nb sujets)	abs pinces (nb sujets)						abs appendices (nb sujets)
Loire	Aix	Isable	6	alcool 80	6						Détecté	Secteur non prévu à l'origine mais réalisé en remplacement du rau des Gouttes dont la PCR avait été oubliée par le laboratoire	
	Ance	Granges	20	vivants	20	2	non mais 3 sujets avec 1 pince plus petite	oui (quelques sujets)	Nématode (parasitologie tube digestif)	RAS	RAS	non détecté	
Rhône	Gier	Mornante	5	alcool 80	5		2					non détecté	
Loire	Lignon	Trézaillette	20	vivants	20	2	non mais 2 sujets avec une pince plus petite	1	RAS	Germe aérobic : Erwinia Billingiae	RAS	non détecté mais douteux	ADN présentant l'Aphanomyces mais en faible répliquat de la séquence d'ADN. L'analyse complémentaire du labo de Poitiers n'a pas pu mettre en évidence la présence de la peste.
	Lignon	La Goutte	20	vivants	20	RAS	3	0	RAS	Germe aérobic : Pseudomonas	RAS	non réalisée	PCR non réalisée
	Lignon	Bouchat	20	alcool 80	20		1					non détecté	
	Lignon	Tavel	20	alcool 80			3					non détecté	
	Loise	Fontbonne	20	alcool 80	20		5					non détecté mais douteux	ADN présentant l'Aphanomyces mais en faible répliquat de la séquence d'ADN sur 1 lot. L'analyse complémentaire du labo de Poitiers n'a pas pu mettre en évidence la présence de la peste.
	Mare	Chantereine	20	vivants	20	3	2	0	RAS	Germe aérobic : Chryseobacterium indologenes -	RAS	non détecté	
	Mare	Fridière	20	alcool 80	20		4					non détecté	
Mare	Curraize	5	alcool 80	5		2					non détecté		

## 5.2 Discussions des résultats par sites :

### 5.2.1 Bassin versant de l'Aix :

#### 5.2.1.1 L'Isable : population contaminée par *Aphanomyces astaci* :

Non prévu initialement, ce site a été rajouté pour l'analyse PCR suite aux constats de mortalités avérées en fin d'été 2019. C'est le seul cas clairement identifié par cette méthode de contamination des individus analysés par *Aphanomyces astaci*.

Petit cours d'eau des Monts de la Madeleine au sud ouest de Roanne, la population initiale couvrait le linéaire des zones de sources jusqu'en aval des Moulins-Chérier (moulin de la Pételière) dans les années 1990. Jusqu'en 2018, la population était suivie par pêche électrique sur le site de Blanchardon<sup>3</sup> et elle semblait bien se porter et en pleine expansion (Figure 1).

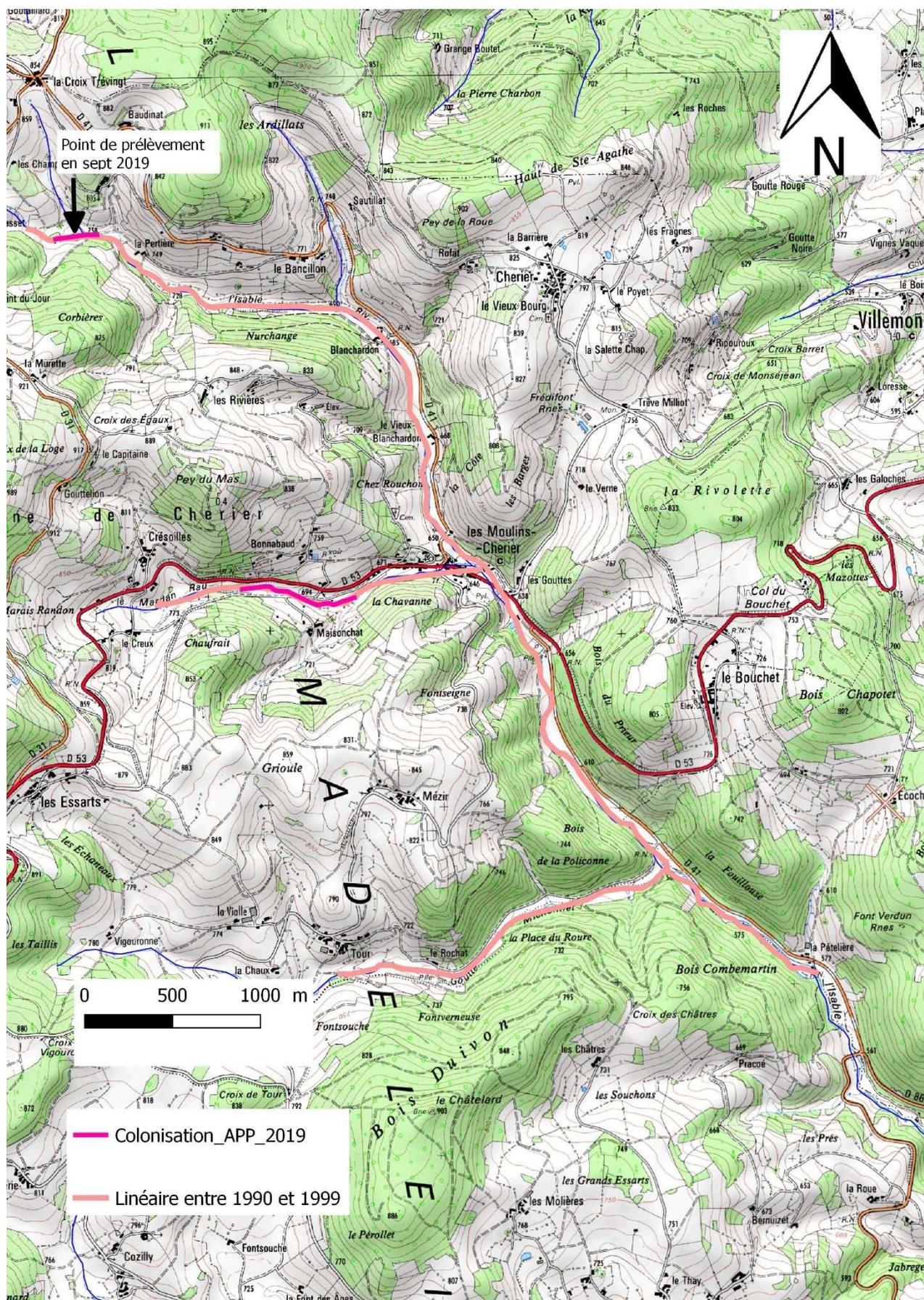


Figure 1 : Evolution des captures d'écrevisses à pieds blancs entre 2009 et 2019 sur l'Isable à Chérier (site de Blanchardon)

Lors de l'inventaire réalisé en juin 2019 (comme chaque année), aucun individu n'avait été capturé sur les 52 m de la station pour presque 175 individus en juin 2018. Nous avons émis l'hypothèse alors d'une mortalité possible par épizootie.

Le site en 2019 a donc régressé à plus de 95% par rapport à l'état initial. Des prospections doivent être menées en 2020 pour voir s'il reste des individus vivants sur le secteur amont de la Pertière (Carte 2).

<sup>3</sup> NB : Nous effectuons une désinfection minutieuse de tout le matériel (DESOGERM MICROCHOC) avant et après chaque opération d'inventaire sur des sites à écrevisses pieds blancs.



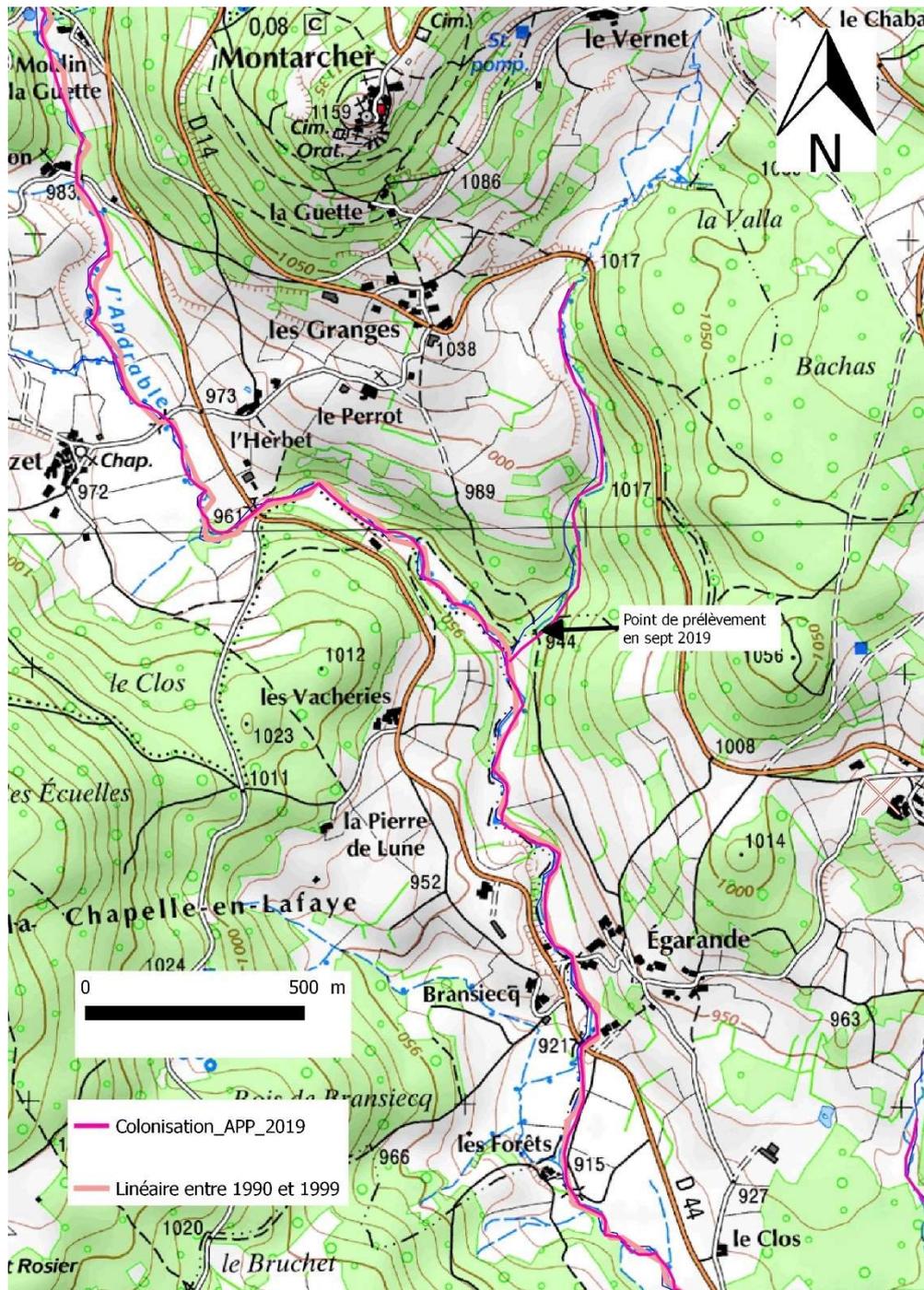
Carte 2 : Site à écrevisses pieds blancs de l'Isable : évolution entre la période 1990-1999 et 2019

## 5.2.2 Bassin versant de l'Ance du Nord :

### 5.2.2.1 Les Granges :

Le cours des Granges est un petit affluent rive gauche de l'Andrable (Carte 3). Sur ce secteur, il est noté la présence d'une très belle population d'APP. Cependant, progressivement les écrevisses exogènes se rapproche de cette population. Il a été constaté (FDAAPPMA42, 2015) la disparition de 2 sites à proximité (le Tortorel et le ruisseau du Clos). De plus, lors d'investigation de terrain de la part de l'AFB42 il avait été constaté la présence de cadavres au cours de l'été 2017.

Les analyses ont confirmé que la population était saine. Seule la présence de parasite de type nématode sur le système digestif a été constatée.



Carte 3 : Site à écrevisses pieds blancs du rau des Granges et Andrable : évolution entre la période 1990-1999 et 2019

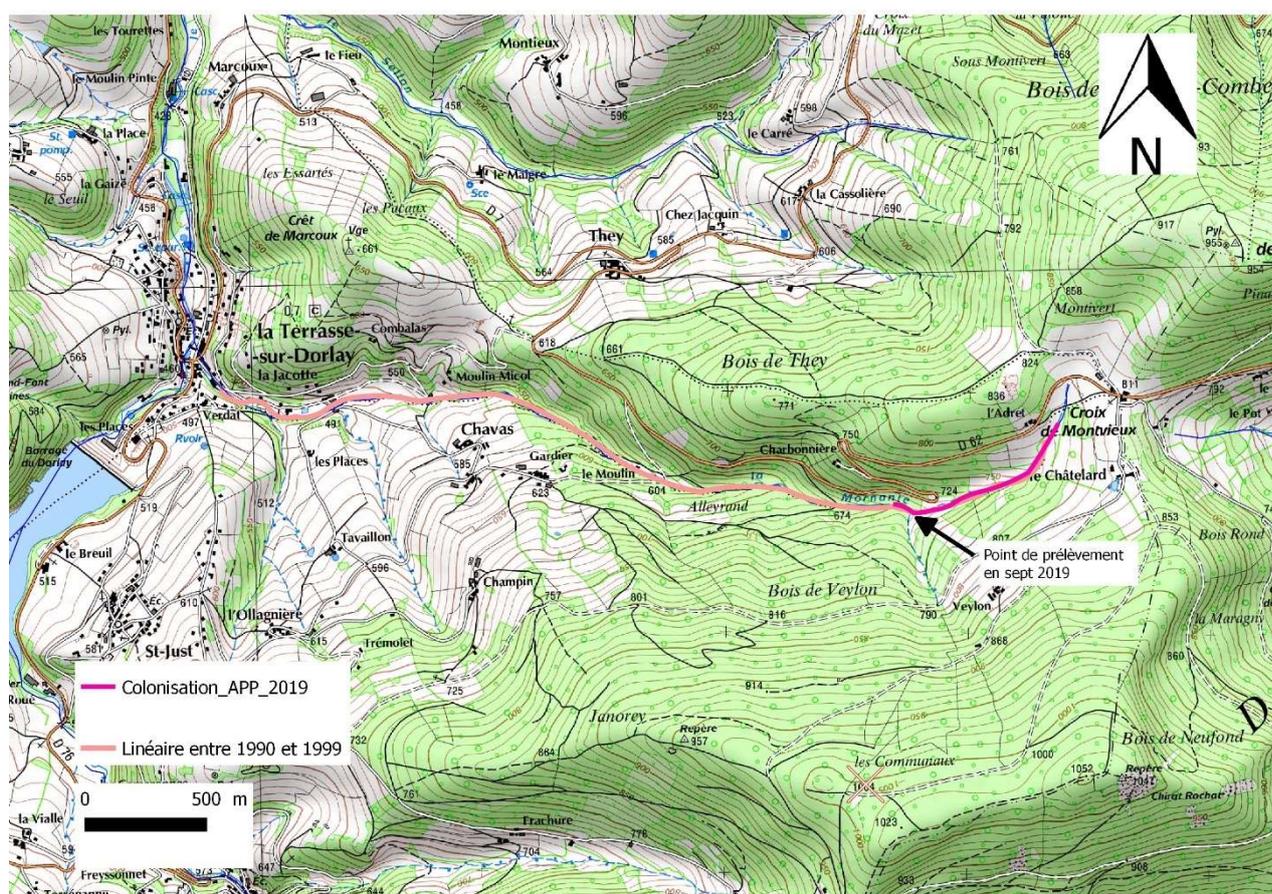
### 5.2.3 Bassin versant du Gier :

#### 5.2.3.1 La Mornante :

La Mornante est un affluent rive droite du Dorlay qui est connue pour abriter une population d'APP depuis très longtemps. A la fin des années 1990, la population d'APP colonisait en totalité son cours sur 4 km, puis a régressé et s'est stabilisé en sur les 2/3 amont du cours. En 2013, une prospection avait eu lieu suite à un chantier de renaturation au lieu-dit « d'Alleyrand ». Aucune APP n'avait été capturée avant la phase de chantier. Les suivis nocturnes réalisés dans la foulée avaient mis en évidence une forte régression du site sans explication apparente sur le terrain. La limite amont du site est restée stable entre 2013 et 2014. En 2015, il était observé un recul important de la population avec des mortalité massive d'écrevisses (voir linéaire encore colonisé sur la Carte 4). Des analyses de laboratoire (LDA39) avaient confirmé à l'époque par PCR la présence d'*Aphanomyces astaci* sous une forme virulente (rapport d'analyse en annexe).

Depuis l'automne 2015, le site de la Mornante est stable sur sa limite aval et ne présente pas de baisse de la densité. Une nouvelle analyse sanitaire de la population semblait donc pertinente au vu du passé du site.

Les résultats ont caractérisé une population saine et l'absence de la peste dans l'échantillon. Cela reste encourageant pour une éventuelle recolonisation des secteurs aval par les écrevisses à pieds blancs.



Carte 4 : Site à écrevisses pieds blancs de la Mornante : évolution entre la période 1990-1999 et 2019

## 5.2.4 Bassin versant du Lignon :

### 5.2.4.1 La Trézaillette :

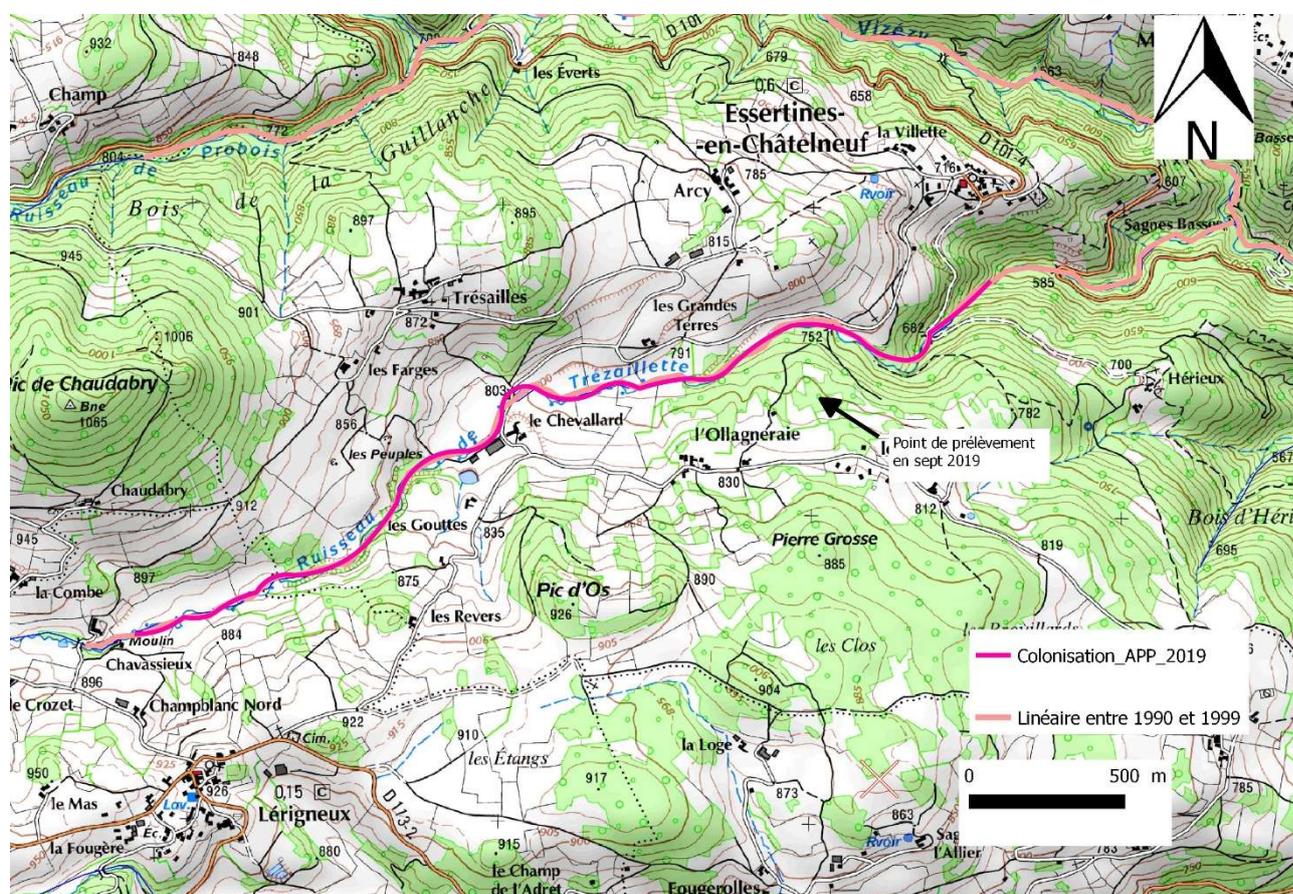
Le cours de la Trézaillette a régressé sur la partie aval au cours des années 2011-2012 (cf. Carte 5). Les APP sont cependant réparties en 2019 sur 4300 m linéaire avec des densités globalement très fortes. Au cours d'une prospection de l'été 2018, il a été observé la présence de 5 cadavres d'écrevisses (60 à 90mm) et 2 individus moribonds sur la limite aval existante depuis 2011. Il s'agit d'une zone de rupture de pente avec une petite cascade infranchissable (2,5 m) marquant la limite aval de la population un peu en aval du pont rejoignant Hérieux.

Deux hypothèses avaient été envisagées :

1. La première d'ordre physico-chimique avec une altération de la qualité d'eau ne permettant plus la survie des APP. Cependant, aucun indice visuel de terrain ne conforte cette option : il n'y a aucun rejet direct ou indirect du bourg d'Essertines-en-Châtelneuf ;
2. La seconde est d'ordre pathologique avec la présence d'une maladie cantonnée en aval des infranchissables naturels.

L'analyse de 2019, a seulement mis en évidence la présence d'un germe pathologique (*Erwinia billingiae* – bactérie) qui ne semble normalement avoir aucun impact sur l'écophysiologie de l'espèce.

Cependant, le laboratoire du Jura a détecté sur sa méthode d'analyses un répliquat d'ADN correspondant à la peste de l'écrevisses (*Aphanomyces Astaci*). Celui-ci pouvant être un artéfact lié à la méthode du laboratoire, ce dernier a donc confié le restant des échantillons au laboratoire universitaire de Poitiers (Professeur Grandjean) pour un complément d'analyse avec une méthode différente. Il n'a pas été détecté une seconde fois la présence d'*Aphanomyces Astaci*. La non confirmation par la seconde analyse ne veut pas dire que la population est parfaitement saine. Il reste donc encore un doute sur la présence potentielle de l'Aphanomycose dans la population de la Trézaillette. Il est possible que la mortalité observée en 2018, et la non recolonisation vers l'aval, soit en lien avec cette maladie.



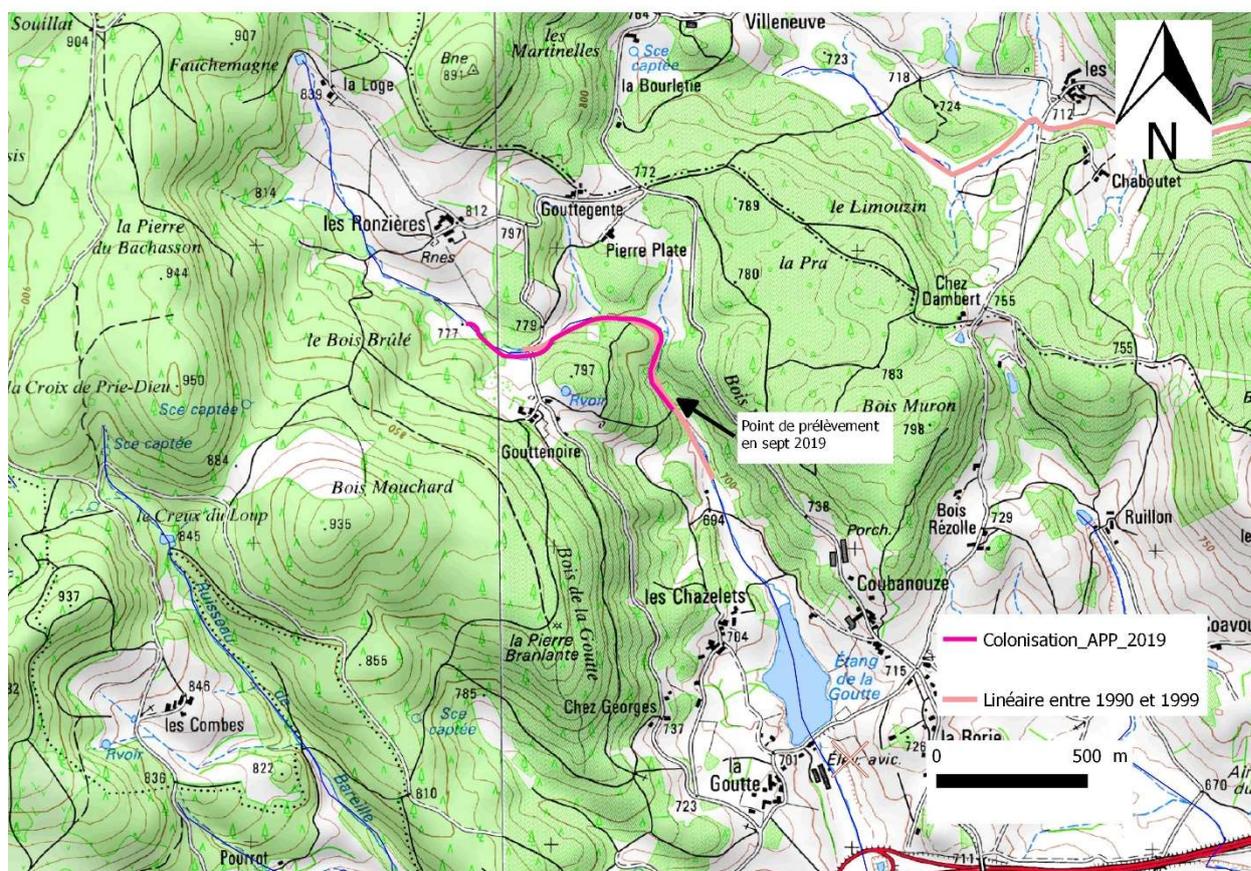
Carte 5 : Site à écrevisses pieds blancs de la Trézaillette : évolution entre la période 1990-1999 et 2019

#### 5.2.4.2 La Goutte :

Le ruisseau de la Goutte a été choisi car il est potentiellement en contact avec une espèce exotique qui est localisée quelques centaines de mètres en aval dans l'étang de la Goutte (écrevisse américaine : *Orconectes limosus*) et nous constatons une remontée lente de la limite aval depuis quelques années (dans la prairie située en amont lieu dit les Chazelets ; cf. Carte 6). Cependant cette partie est soumise à un fort piétinement bovin qui peut avoir un effet néfaste sur les écrevisses : colmatage des fonds, qualité d'eau dégradée par les fèces.

Il en ressort que la population n'est porteuse que de *Pseudomonas* (bactérie de la famille des Bacilles), cela peut, dans certains cas, créer des mortalités plus ou moins importantes, mais jamais d'épizootie majeure.

L'analyse de la peste au travers de la PCR n'a pas pu être réalisée en raison d'une mésentente avec le laboratoire (période de congés – interlocuteurs différents).



Carte 6 : Site à écrevisses pieds blancs de la Goutte : évolution entre la période 1990-1999 et 2019

### 5.2.4.3 Le Bouchat :

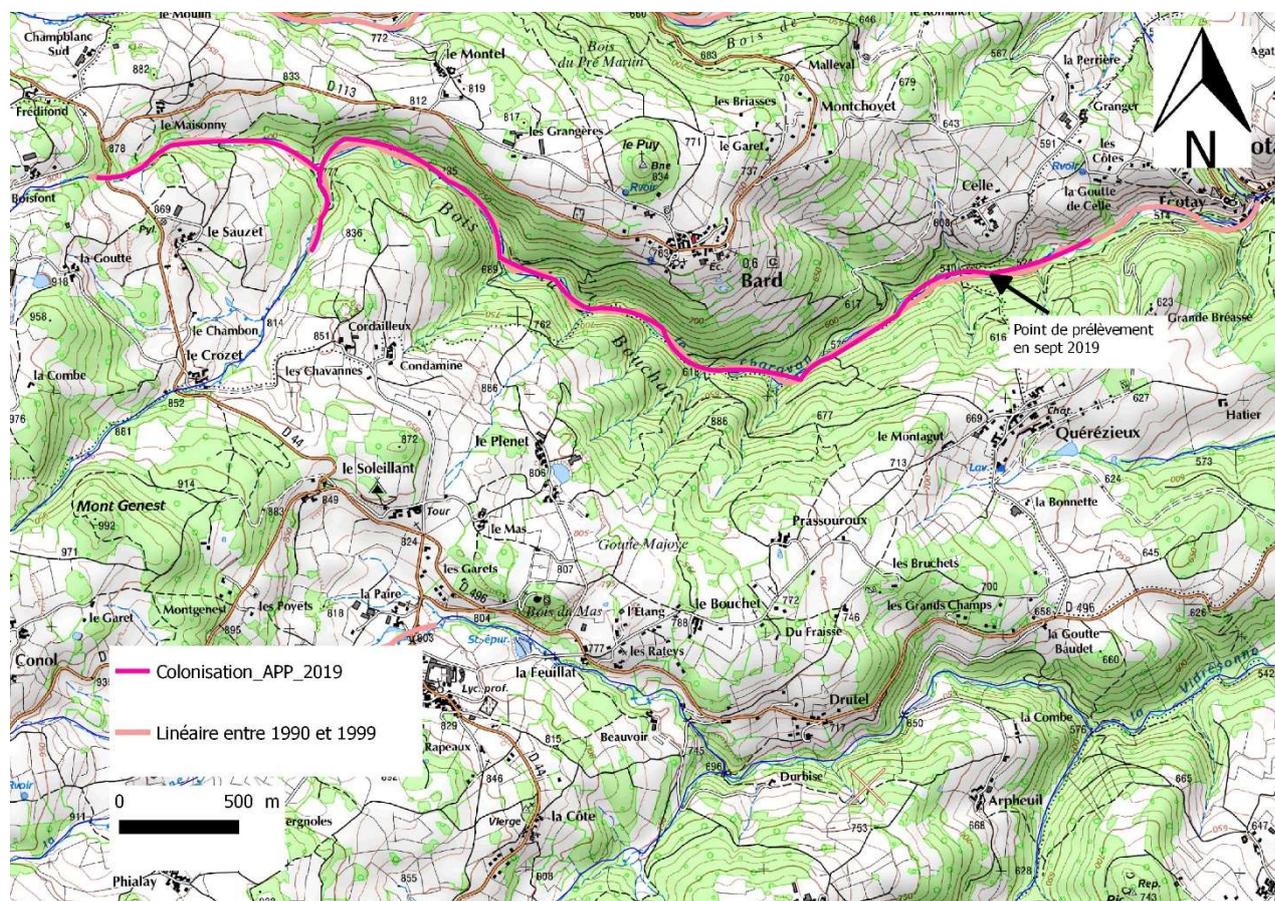
Le Bouchat est petit cours d'eau formant le cours du Moingt lors de sa confluence avec le Cotayet. Le Cotayet était colonisé entièrement (7,6km) par les APP mais cette population a disparu au cours des années 2012-2014.

Il semblerait que la peste soit à l'origine de cette disparition. Cependant aucune analyse n'a pu confirmer cela. En aval, le cours du Moingt est colonisé par les écrevisses de Californie.

Il était donc primordial d'avoir une indication sur l'état de santé de la population du Bouchat.

Les résultats d'analyses ont attesté l'absence de l'Aphanomycose au sein de la population du Bouchat qui a été échantillonnée sur sa partie terminale sous le hameau de Celle.

Le linéaire colonisé a un peu régressé sur l'aval par apport aux données des années 1990 mais ce site reste encore important (Carte 7).

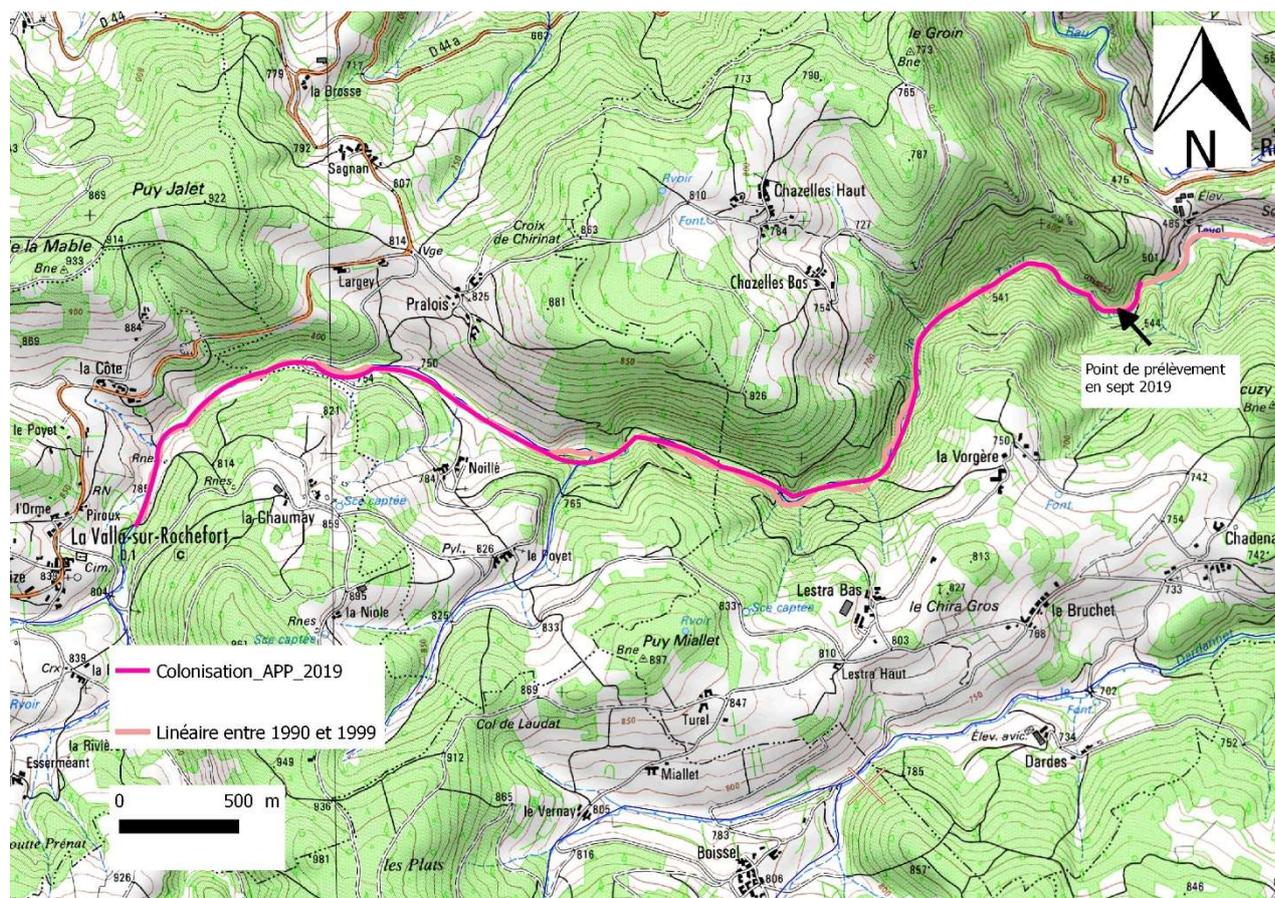


Carte 7 : Site à écrevisses pieds blancs du Bouchat : évolution entre la période 1990-1999 et 2019

#### 5.2.4.4 Le Tavel :

Le site du Tavel, long de 5,8km, est actuellement l'un des plus grands sites à écrevisses pieds blancs du département avec la Trézaillette. Il a été choisi, car il est en contact, sur le bas de sa population, avec les écrevisses de Californie. Ces dernières sont pour le moment cantonnées à l'aval de grandes cascades naturelles totalement infranchissables. Le risque pathologique est donc présent en aval et potentiellement important.

L'analyse de 20 individus a démontré l'absence de la peste de l'écrevisse sur le secteur. La population est donc pour le moment saine.



Carte 8 : Site à écrevisses pieds blancs du Tavel : évolution entre la période 1990-1999 et 2019

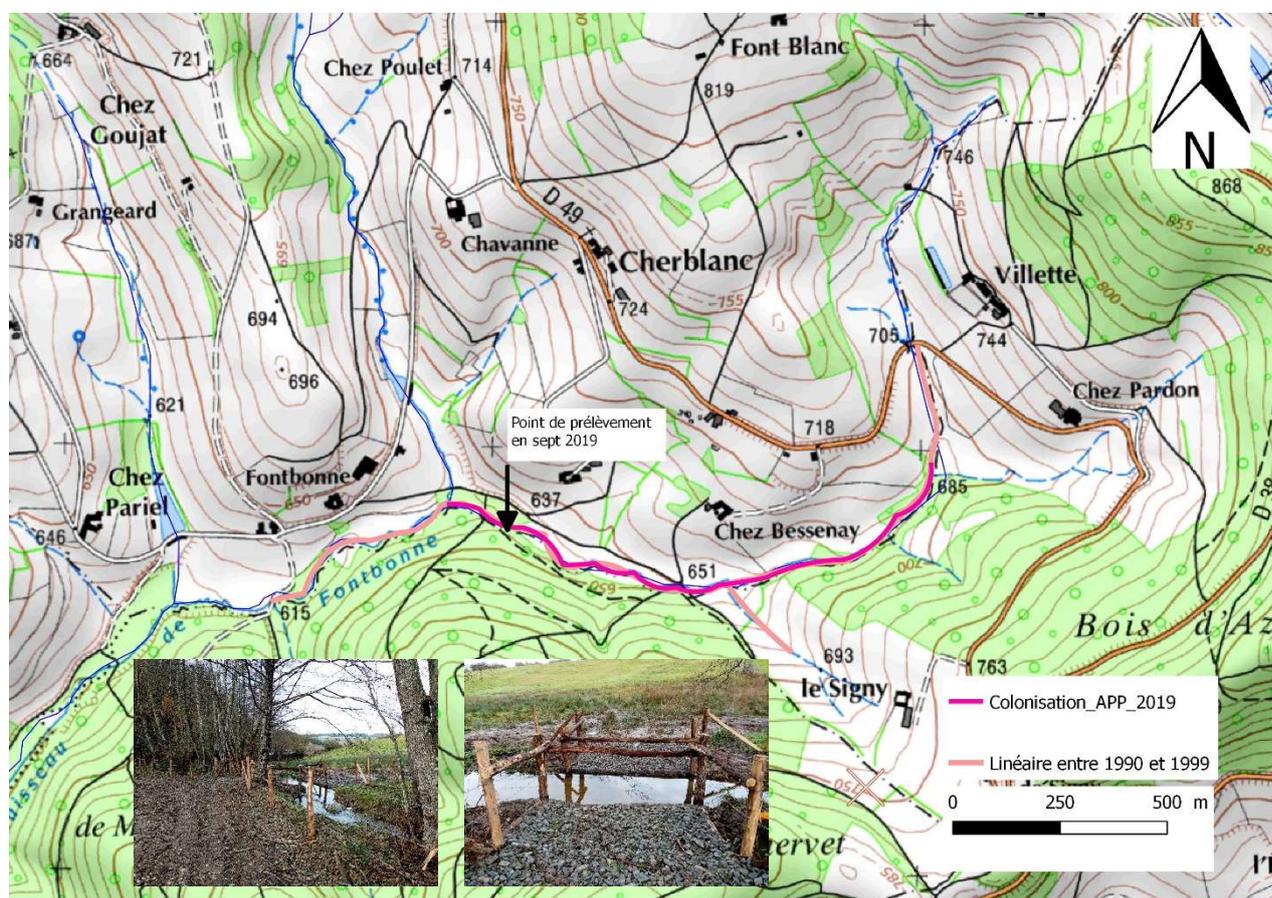
Le site a peu évolué depuis 25 ans, seule la partie terminale entre Tavel et l'entrée du bourg de St Laurent sous Rochefort a vu la population disparaître, supplantée par *Pacifastacus* remontée depuis la confluence avec l'Anzon (Carte 8). Les cascades infranchissables de la zone de gorges est pour le moment le verrou naturel qui protège la population de pieds blancs de l'invasion des écrevisses de Californie

## 5.2.5 Bassin versant de la Loire :

### 5.2.5.1 Le Fontbonne :

Le cours du Fontbonne est l'un des derniers sites à écrevisses à pieds blancs localisé dans les monts du Lyonnais dans la partie Loire (voir Carte 9). Il était donc primordial de caractériser l'état sanitaire la population sachant que cette dernière est presque en contact avec les écrevisses de Californie. En parallèle il a été mis en place des mesures de protection de la population sur le terrain avec la mise en place de clôture et d'abreuvoir (FDAAPPMA42, Octobre 2019) afin de limiter le piétinement bovin.

Les résultats sont plutôt mitigés car les analyses ont fait ressortir une séquence d'ADN de la peste de l'écrevisses sur 1 lot sur 4. Il s'agit d'une amplification du génome douteuse de faible intensité et étalée. Cela peut être lié à la méthode et un échantillon a été envoyé pour contre analyse à l'université de la Poitiers. L'université, utilisant une autre méthode de séquençage d'ADN, n'a pas confirmé la présence du génome d'*Aphanomyces Astaci* dans l'échantillon. Il reste donc toujours un doute sur la potentielle contamination de la population potentiellement en contact avec les écrevisses de Californie présente en aval de la buse coupant le cours d'eau en aval du lieu dit Fontbonne.



Carte 9 : Site à écrevisses pieds blancs du Fontbonne : évolution entre la période 1990-1999 et 2019 et photos des travaux de mise en défens : abreuvoir et pose de clôture, réalisés à l'automne 2019 sur le tronçon de Chez Bessenay.

## 5.2.6 Bassin versant de la Mare :

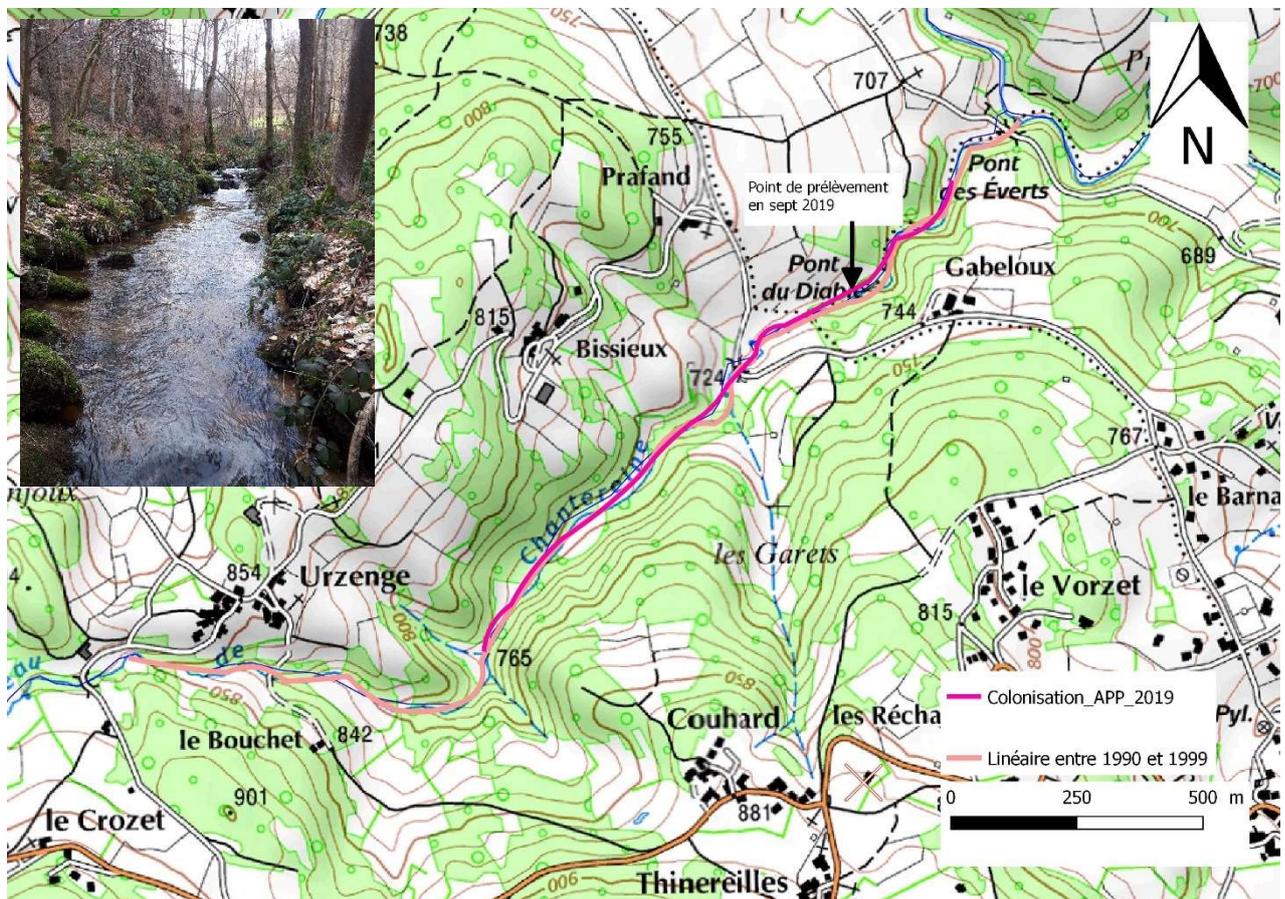
### 5.2.6.1 Le Chantereine :

La population du Chantereine a été choisie pour analyse, car en 2013 il a été constaté la présence d'individus moribonds sur la partie terminale du cours d'eau (FDAAPPMA42). De plus, le bassin versant et les environs ont déjà connu des épizooties importantes comme la Curraize où la peste a été avérée en 2014 et également le Cotayet (disparition totale de la population sur 7km entre 2012 et 2014).

La présence des individus moribonds en 2013 a fait penser aux cas observés sur les secteurs où la peste avait été diagnostiquée. D'ailleurs l'espèce est désormais absente sur le secteur où a été observé les mortalités (secteur terminal du Chantereine cf. Carte 10).

Les analyses de 2019 ont permis d'écarter la présence de l'Aphanomycose dans la population.

Au niveau hémolymphe, il a été détecté 2 germes (*Chryseobacterium indologenes* - *Serratia Liquefaciens*). Il est noté sur les sujets âgés (sup à 7-8ans) de taille importantes (8 à 9cm) la présence de tache de rouille.



Carte 10 : Site à écrevisses pieds blancs du Chantereine : évolution entre la période 1990-1999 et 2019

### 5.2.6.2 La Curraize :

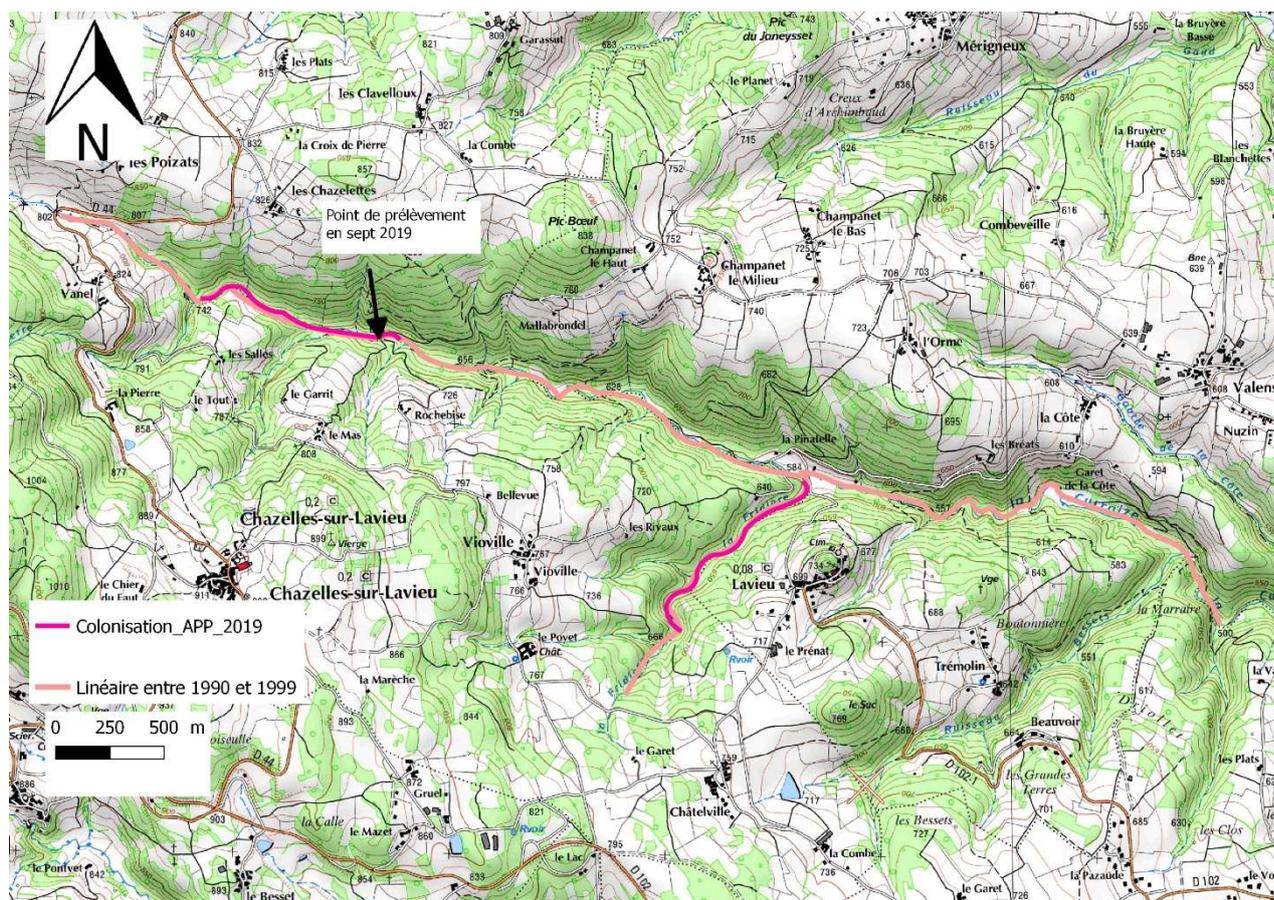
La Curraize est un cours d'eau de 2 à 4m de large descendant des monts du Forez qui a subi, au cours des années 2014/2015, une très forte épizootie avec *Aphanomyces astaci* détectée (souche *Pacifastacus leniusculus*).

Le linéaire initial colonisé dans les années 1990 était de l'ordre de 6km avec des densités fortes. Il s'étendait depuis l'amont vers la RD44 au lieu dit Vanel jusqu'en dans la zone de vallée encaissée sous Lavieu entre La Marraire et la Vallette (Carte 11).

Actuellement, le site a fortement régressé et ne représente plus que 600 à 800m de long sur le cours amont et s'est stabilisé depuis 2016/2017 entre les lieux dits Rochebise et Vanel.

L'objectif ici était simplement de savoir si le champignon (*Aphanomyces Astaci*) était toujours présent dans la population. Les prélèvements se sont réalisés sur la partie aval de la population restante, et l'analyse de 5 individus n'a pas mis en évidence la présence du champignon.

Cela tend à confirmer les observations de terrain qui constate une stabilité de l'aire de répartition et de la densité, même si cela reste tout de même à prendre avec précaution. En effet, l'origine du germe n'est toujours identifiée sachant que les écrevisses de Californie sont localisées très en aval du site (au minimum 7 km). Il est donc probable qu'à tout moment le site soit victime d'une nouvelle épizootie.



Carte 11 : Site à écrevisses pieds blancs de la Curraize et du Fridière : évolution entre la période 1990-1999 et 2019

### 5.2.6.3 Le Fridière :

Le ruisseau de Fridière est un petit affluent rive droite de la Curraize, d'un mètre de large, qui a été épargné de la forte mortalité de la Curraize par *Aphanomyces Astaci*. Il s'agit ici d'une petite population qui s'étend sur un linéaire de 800m avec des densités moyenne à forte selon les secteurs (Carte 11) ; le cours du Fridière arrivant par endroit à être fortement impacté par les épisodes d'étiages importants.

L'analyse de 20 individus de la population a déterminé que la population du Fridière était saine avec absence d'*Aphanomyces Astaci*. Cela est donc plutôt de bon augure au vu de la très forte régression de la population de la Curraize. Cela offre un réservoir de population qui peut, à termes, permettre une recolonisation de l'espèce dans le cours principal de la Curraize.

## 6 PERSPECTIVES :

### 6.1 Futures analyses :

Ce premier programme d'analyse est plutôt convaincant même si 2 échantillons restent douteux (Trézaillette et Fontbonne) et des compléments doivent être apportés. Seul un site (l'Isable) est caractérisé en danger critique par contamination avérée par *Aphanomyces Astaci*.

Il reste encore de nombreux sites dans le département de la Loire dont les populations d'APP sont plus ou moins confrontées à des risques épidémiologiques majeurs. Cela est principalement dû à la présence des écrevisses exogènes porteuses de la peste.

Il est possible d'envisager les mêmes types d'analyses sur les autres populations. Cela est cependant encore onéreux et nécessite l'euthanasie des sujets. Cela peut être délicat sur des petites populations où prendre 20 individus serait préjudiciable à leur survie.

Une nouvelle technique d'échantillonnage et de diagnostic des pathologies est de plus en plus courante sur le marché des laboratoires : il s'agit de l'ADN environnementale (ADNe) qui est de plus en plus prisé du fait de sa précision et de ses coûts plus avantageux. Cela est également plus allégé en termes de logistique de prélèvement et évite le sacrifice d'animaux.

### 6.2 Moyens de lutte :

Face à ces différentes pathologies et notamment l'Aphanomycose, peu de solutions sont efficaces. Seul l'isolement des populations est la meilleure des solutions. En effet, limiter les pressions et la libre circulation des espèces exogènes permet de garder ce patrimoine naturel.

En termes d'échantillonnages et de suivis des espèces, toutes les précautions doivent être mises en place par un protocole de désinfection obligatoire. Par exemple, l'emploi de DESOGERME MICROCHOC comme désinfectant est systématique lors de visites de terrain de la part des services de la FDAAPPMA42 sur les sites à APP. Tout matériau pouvant être en contact avec l'eau ou les écrevisses (bottes, gants, épuisettes, bacs, viviers...) doit être scrupuleusement lavé puis désinfecté.

### 6.3 Evolution future des populations :

Il est important de suivre ces populations qui sont les dernières sentinelles de bio indication de nos ruisseaux et rivières : la répartition et l'évolution des effectifs d'écrevisses à pieds blancs dans le département et nationalement étant en perpétuel déclin.

En effet, depuis les années 1995-2000, la perte de nombreux sites et la réduction de linéaire sont à déplorer. 50% du linéaire aurait disparu au cours des 20 dernières années dans le département de la Loire. Il s'agit d'un constat inquiétant, d'autant plus que la colonisation par les espèces exogènes n'est pas maîtrisable et s'accroît au fil des années. De plus, d'autres espèces exotiques sont à la porte de notre département (écrevisses de Louisiane, *Procambarus clarkii*, Puy-de-Dôme) accompagnée par l'arrivée de nouvelles espèces en Europe. En effet, l'écrevisse marbrée, (*Procambarus virginialis*) est signalée présente en Moselle, cette espèce possède une reproduction atypique (parthénogenèse) et apparaît comme un envahisseur de 1<sup>er</sup> rang. Il existe encore et bien d'autres espèces comme récemment dans le département de l'Aveyron où, en 2019, l'écrevisse à tâches rouges (*Faxonius rusticus*) a été détectée pour la 1<sup>ère</sup> fois en Europe.

## 7 Quelques références :

<http://especes-exotiques-envahissantes.fr/premier-signalement-de-lecrevisse-a-taches-rouges-faxonius-rusticus-girard-1852-en-europe-france-departement-de-laveyron/>

Contribution à la recherche des causes de régression de l'écrevisse "Pieds Blancs" (*Austropotamobius pallipes*) Expérimentation dans le département du Jura de 2000 à 2003 Recherche des causes insidieuses d'extinction Caractérisation des exigences habitationnelles minimales Mise au point d'un système expert. TELEOS

INFECTION WITH APHANOMYCES ASTACI (CRAYFISH PLAGUE) / 2019 © OIE - Manuel des tests de diagnostic pour les animaux aquatiques - 14/11/2019

JT écrevisses 2 : point d'actualité sur la recherche scientifique (ARRA)

<https://www.youtube.com/watch?v=YD4SXuOHYC8>

Liste UICN 100 EXOTIQUES ENVAHISSANTES PARMILES PLUS NÉFASTES AU MONDE :

<https://portals.iucn.org/library/sites/library/files/documents/2000-126-Fr.pdf>

<https://www.dfo-mpo.gc.ca/science/aah-saa/diseases-maladies/psorhcy-fra.html>

# Annexes :

## 8 ANNEXE 1 : PESTE DES ECREVISSES (MALADIE FONGIQUE) :

Noms courants et généralement admis de l'organisme ou de l'agent pathogène

Peste de l'écrevisse, Aphanomycose de l'écrevisse

### Nom scientifique ou affiliation taxonomique

*Aphanomyces astaci* de l'ordre Saprolegniales des Oomycètes. Les oomycètes (communément appelés champignons aquatiques et plus apparentés aux algues brunes et aux diatomées qu'aux véritables champignons, les Eumycètes) ne sont pas considérés comme de « vrais champignons » sur le plan de la taxonomie. De ce fait, ils ont été placés dans le phylum Oomycètes, avec *A. astaci* dans la famille des Saprolegniaceae (Stephens *et al.* 2005, Buller 2008). L'identification des Oomycètes au niveau du genre dépend de la morphologie du sporange, et l'identification au niveau de l'espèce dépend de la morphologie des stades de la reproduction sexuelle (anthéridies, oogonies et oospores). Les stades de la reproduction sexuelle sont cependant absents chez *A. astaci*. En plus d'*A. astaci*, d'autres espèces d'oomycètes et de champignons sont connues pour leur capacité à envahir les écrevisses (Unestam 1973a, Ballesteros *et al.* 2007, Cammà *et al.* 2010). Royo *et al.* (2004) ont observé des isolats d'*Aphanomyces* sp. issus d'écrevisses (*Pacifastacus leniusculus* et *Procambarus clarkii*) en Espagne et en Italie qui étaient incapables de tuer les écrevisses vulnérables (l'écrevisse australienne *Cherax destructor* et l'écrevisse noble européenne, *Astacus astacus*) après une infection expérimentale standardisée, qui avaient une RAPD-PCR et des séquences ITS différentes des souches de référence d'*A. astaci*, et qui, contrairement à *A. astaci*, ne présentaient pas de chitinase de manière constitutive au cours de la croissance ou de la sporulation. Par contre, tout comme *A. astaci*, ces isolats possédaient des émergences de zoospores répétées et manquaient de reproduction sexuelle. Royo *et al.* (2004) ont proposé un nom provisoire, *Aphanomyces repetans*, en attendant que le statut taxonomique des isolats soit complètement clarifié.

### Répartition géographique

Très répandue en Amérique du Nord où les écrevisses indigènes résistent à la maladie. La prévalence des infections chez certaines populations est aussi élevée qu'à 50 % (Holdich 1988). En Europe, on croit que cette maladie est venue de la Lombardie, en Italie, dans les années 1860, après l'introduction de l'écrevisse d'eau douce américaine dans le système hydrographique local. C'est à partir de ce moment que la maladie s'est répandue à travers l'Europe (Alderman 1996). Les vagues d'expansion de la maladie connues après les années 1960 en Europe, y compris en Espagne, sont en grande partie associées aux mouvements de l'écrevisse nord-américaine introduite en Europe pour des besoins de culture d'écrevisses et aux mouvements des équipements de pêche contaminés non désinfectés. *Aphanomyces astaci* a réussi à s'introduire en Bretagne en 1981, a été détectée en Irlande en 1987 et s'est répandue en Turquie, en République tchèque, en Hongrie, en Grèce et en Norvège au cours des années 1980 (Alderman *et al.* 1996). La maladie a causé des mortalités élevées et a même conduit à l'extinction de plusieurs stocks d'écrevisses autochtones d'Europe (Marren 1986; Reynolds 1988; Rahe et Soyly 1989; Diéguez-Urbeondo *et al.* 1997b; Vennerström *et al.* 1998; Bohman *et al.* 2006; Diéguez-Urbeondo 2006; Kozubíková *et al.* 2006, 2007, 2008; Cammà *et al.* 2010, Vrålstad *et al.* 2011).

### Espèces hôtes :

*Astacus astacus*, *Austropotamobius pallipes*, *Austropotamobius torrentium* et *Astacus leptodactylus* sont des exemples d'espèces européennes vulnérables à la maladie. Les écrevisses des espèces *Pacifastacus leniusculus*, *Procambarus clarkii* et *Orconectes limosus* originaires d'Amérique du Nord sont porteuses du champignon et ne présentent pas de symptômes de la maladie, sauf en culture intensive. D'après les données moléculaires, une population d'*A. astacus* saine d'apparence en provenance du Lac Mikitänjärvi, Kainuu, en Finlande, a développé des infections subcliniques de la peste de l'écrevisse (Jussila *et al.* 2011). Le crabe chinois, *Eriocheir sinensis* et l'écrevisse japonaise (*Cambaroides japonicus*) ont été infectés en laboratoire à titre expérimental (Stephens 2005). De plus, neuf espèces d'écrevisses originaires de différentes parties d'Australie (y compris *Cherax quadricarinatus*, *Cherax destructor* et *Astacopsis gouldi*) et de la Nouvelle-Guinée (*Cherax papuanus*) testées dans des aquariums se sont toutes montrées vulnérables à l'infection (Unestam 1975).

### Impact sur les hôtes

Les hyphes d'*A. astaci* poussent dans les parties douces, non calcifiées de la cuticule et tendent à se limiter à la zone de pénétration de la cuticule chez les écrevisses résistantes. Ils peuvent également pousser le long de la moelle épinière ventrale et le long du ganglion cérébral. Par contre, cette croissance peut être éparse et pourrait ne pas être perçue au cours d'un examen histologique. Parfois, les hyphes sont visibles dans l'œil, mais rarement dans les autres organes, et ils n'envahissent la musculature qu'au cours de la dernière phase de l'infection (Stephens *et al.* 2005). Les hyphes s'étendent dans l'eau et produisent des zoospores mobiles qui infectent d'autres écrevisses. Des réactions de type défensives, comme la mélanisation (Unestam et Nylund 1972), peuvent être évoquées chez les écrevisses résistantes (nord-américaines). Celles-ci peuvent porter *A. astaci* sous forme d'infection subclinique (latente, bénigne, chronique) dans la cuticule. Les espèces d'écrevisses européennes tendent à résister moins et meurent souvent en l'espace de quelques semaines d'exposition (Alderman *et al.* 1987, Reynolds 1988, Alderman *et al.* 1990). Le premier signe de mortalité liée à la peste d'écrevisse peut être la présence d'écrevisses au large pendant la journée (les écrevisses sont normalement des animaux nocturnes), certaines d'entre elles montrant des signes évidents de perte de coordination dans leurs mouvements, d'autres se renversant facilement et éprouvant des difficultés à se remettre sur leurs pattes. Souvent par contre, à défaut d'une observation minutieuse des eaux, la première indication de l'existence d'un problème sera la présence d'un grand nombre d'écrevisses mortes dans la rivière ou le lac (Alderman *et al.* 1987).

Les zoospores flottantes d'*A. astaci* qui émergent des kystes primaires sont de préférence enkystées aux alentours des blessures superficielles de l'écrevisse (Unestam et Weiss 1970). Les écrevisses semblent plus vulnérables à la peste de l'écrevisse en période de mue (Smith et Söderhäll 1986), sans doute parce que le risque élevé de blesser le doux exosquelette au cours de cette période prédispose l'écrevisse à l'infection. De plus, les exsudats obtenus des pattes locomotrices de trois espèces d'écrevisses (*A. astacus*, *O. limosus* et *P. leniusculus*) étaient chimiotactiques pour les zoospores d'*A. astaci* (Cerenius et Söderhäll 1984). Après enkystement, les kystes secondaires obtenus (spores) développent des hyphes (tubes germinatifs) qui produisent des enzymes lytiques (protéases, chitinases et estérases) facilitant la pénétration à l'intérieur de la cuticule de l'écrevisse (Söderhäll *et al.* 1987). Chez les écrevisses très résistantes (p. ex. *P. leniusculus*), la plupart des kystes des zoospores étaient encapsulés de mélanine et tués. Les parois cellulaires des hyphes pénétrantes devenaient très mélanisées, et la croissance autour de la blessure était visiblement perturbée et éparse. Chez les écrevisses vulnérables (p. ex. *A. astacus*), la mélanisation était plus lente et les réactions aux blessures étaient moins restreintes à la croissance des hyphes par rapport à *P. leniusculus*.

Cependant, les hyphes poussaient à profusion chez les deux espèces aussitôt qu'elles avaient traversé la zone de la blessure. La direction préférée de la croissance des hyphes était parallèle aux fibrilles de chitine (Nyhlén et Unestam 1980). Söderhäll et Unestam (1979) ont signalé qu'une masse moléculaire élevée et pure des glycoprotéines extracellulaires d'*A. astaci* activait fortement la prophénoloxydase du sérum de l'écrevisse (*A. astacus*). Söderhäll et Ajaxon (1982) ont indiqué que le système de phénol-phénoloxydase génère des substances toxiques pour certains champignons et *A. astaci*. Ces substances peuvent donc intervenir dans les réactions de défense. Diéguez-Uribeondo et Cerenius (1998) ont relevé que trois différents inhibiteurs de protéinase (un inhibiteur 23 kDa de la subtilisine, un inhibiteur 155 kDa de la trypsine (pacifastine) et une macroglobuline  $\alpha_2$  purifiés de l'hémolymphe (sang) de *P. leniusculus* réduisaient les activités protéolytiques des *A. astaci*. Ils peuvent alors réduire la rupture protéolytique exercée par les protéinases des *A. astaci* au cours d'une infection. Aussi, un inhibiteur de sérine-protéinase de type Kazal à deux domaines (KPI2) issu des hémocytes de *P. leniusculus* s'est révélé capable d'inhiber les sérines-protéinases extracellulaires d'*A. astaci* (Donpudsa *et al.* 2010). Les écrevisses résistantes (*P. leniusculus*) produisaient de façon continue des niveaux élevés de transcrits de prophénoloxydase (proPO) (cette enzyme dans sa forme active est responsable des réactions de mélanisation en catalysant l'oxydation des phénols en mélanine) et ces niveaux ne pouvaient davantage augmenter, alors que les niveaux de transcrits proPO et la résistance étaient augmentés par des immunostimulants chez les écrevisses vulnérables (*A. astacus*) (Cerenius *et al.* 2003). Les paramètres de l'hémolymphe étaient modifiés (glucose, lactate et augmentation du  $Ca^{2+}$ ; et diminution de  $Na^+$ ,  $K^+$  et  $Cl^-$ ) chez les écrevisses *A. astacus* infectées par *A. astaci*, mais étaient inchangés chez les écrevisses *P. leniusculus* infectées (Järvenpää *et al.* 1986).

Une souche d'*A. astaci* (Pc) isolée à partir des écrevisses d'eau chaude *P. clarkii* recueillies en Espagne, comparée aux isolats issus des écrevisses d'eau froide (*A. astacus*, *A. leptodactylus*, et *P. leniusculus*), a été capable de grandir plus rapidement et de libérer des zoospores à des températures plus élevées et s'est révélée génétiquement différente dans une analyse RAPD-PCR (Diéguez-Uribeondo *et al.* 1995). Chez les espèces vulnérables présentes en nombre suffisant pour favoriser la propagation rapide de l'infection, surtout aux températures estivales de l'eau, l'infection se propage rapidement, et toutes les écrevisses peuvent mourir en moins de 21 jours suivant le premier cas de mortalité observé dans des étendues de plus de 50 km. On a enregistré une vitesse de propagation en amont allant jusqu'à 1 000 m par semaine et 17 km en 10 mois (Taugbol et Skurdal 1993). La peste de l'écrevisse est d'une gravité inégale. Les écrevisses infectées ne survivent pas. Il est donc normal d'enregistrer un taux de mortalité à 100 %. Toutefois, des données expérimentales indiquent qu'une exposition antérieure à un nombre de spores non mortelles de *A. astaci* augmente la résistance des écrevisses *A. astacus* à l'infection (Unestam et Weiss 1970). Le plus souvent, les espèces d'écrevisses résistantes d'Amérique du Nord survivent à l'infection, ce qui leur permet ensuite de servir de porteurs sains. Cependant, sous des conditions défavorables (stress, co-infections avec d'autres agents pathogènes, etc.) la mortalité peut survenir chez les espèces qui sont normalement résistantes (Thörnqvist et Söderhäll 1993, Diéguez-Uribeondo *et al.* 1997b, Diéguez-Uribeondo 2006). Apparemment, *A. astaci* n'a aucun vecteur ou hôte intermédiaire ou secondaire, il n'y a pas de structures résistantes et les spores ont une viabilité limitée en dehors de l'hôte.

### Techniques de diagnostic

**Observations générales :** Les écrevisses infectées ne présentent pas toutes des signes flagrants, et ces signes ont divers aspects. Chez les écrevisses originaires d'Europe, le signe le plus marquant est la présence de taches blanches focales sur la musculature en dessous de la partie transparente de la fine cuticule, particulièrement celle de l'abdomen ventral et sur les articulations des péréiopodes (membres). De tels foyers peuvent être mieux vus à l'aide d'un microscope stéréoscopique à faible puissance. Dans certains cas, une coloration brune peut s'observer sur la cuticule et le muscle, et dans d'autres cas, les hyphes sont visibles à l'intérieur de la cuticule infectée sous forme de fines traces brunes (mélanisées). Buller (2008) fournit deux images de ces signes de la maladie à la page 3. Les parties pouvant faire l'objet d'un examen minutieux sont la fine cuticule ventrale intersternale de l'abdomen et de la queue, la cuticule de la région périnéale, la cuticule entre la carapace et la queue, les articulations des péréiopodes (pattes locomotrices), en particulier l'articulation proximale, et enfin les branchies. Aux phases terminales de l'infection, les animaux arrêtent de fuir la lumière du jour, comme ils le font habituellement (on les voit en eau libre pendant le jour), ils perdent la coordination des membres (produisant un effet qui a été décrit comme la « marche sur des échasses »), et les animaux moribonds perdent souvent l'équilibre et tombent sur le dos avant de mourir. Pour le diagnostic, il faut isoler et identifier *A. astaci* à l'aide d'un examen morphologique au microscope. L'identification et l'isolement d'*A. astaci* sont facilités si on place l'écrevisse en conditions stressantes pour exacerber l'infection. Cela peut se faire de façon artificielle en réduisant le nombre de cellules sanguines en circulation pendant au moins 6 heures par l'inoculation de particules exogènes comme le zymosan (Persson et Söderhäll 1983, Persson *et al.* 1987, Cerenius *et al.* 1988). La prévalence de l'infection chez l'écrevisse *P. leniusculus* a été déterminée par l'examen visant à déceler des points bruns (de 1 à 5 mm de diamètre), et des points sur un petit sous-échantillon d'écrevisses tachetées ont été examinés au microscope pour déceler la présence d'hyphes (Nylund et Westman 1983). Aquiloni *et al.* (2011) ont utilisé des analyses d'images numériques et des techniques de traitement d'images pour choisir des zones micromélanisées sur la cuticule sous l'abdomen de *P. clarkii* subclinique en vue de choisir des zones de test pouvant aider à détecter *A. astaci*. Toutefois, les points bruns ou les zones mélanisées ne révèlent pas nécessairement la présence d'un agent pathogène et peuvent être dus aux lésions mécaniques ou à l'invasion par d'autres agents, comme les diverses espèces de champignons ou de bactéries (Persson et Söderhäll 1983).

**Préparation humide :** Examiner la cuticule de l'écrevisse moribonde pour déceler les hyphes. La cuticule mélanisée de l'écrevisse nord-américaine peut être le signe de la présence d'infections focales des hyphes. Chez les écrevisses malades, *A. astaci* peut se retrouver dans la plupart des tissus, mais est plus facilement détectable à l'intérieur de la fine cuticule abdominale. Exciser la cuticule abdominale ou racler les tissus des parties affectées (points mélanisés) et examiner les préparations humides pour déceler la présence d'hyphes. Les hyphes végétatifs sont siphonnés, fréquemment ramifiés et d'épaisseur plutôt uniforme (habituellement de 7 à 9 µm de largeur, mais pouvant varier de 5 à 10 µm de largeur). Cependant, les ramifications végétatives tendent souvent à être plus étroites que l'hyphes principal pour ce qui est des premiers 20 à 30 µm de croissance. Jeunes, les hyphes en pleine croissance ont un cytoplasme grossièrement granulaire avec de nombreux globules hautement réfringibles, et des bouts arrondis. Les hyphes plus vieux sont en grande partie vacuolés avec le cytoplasme limité à la périphérie, laissant seuls quelques fins brins de protoplasme relier la grande vacuole centrale. Les hyphes les plus vieux sont apparemment dépourvus de contenu. Il convient de noter que les caractéristiques morphologiques des hyphes décrites ci-dessus ne peuvent pas être utilisées pour différencier *A. astaci* des autres Oomycètes et de nombreux champignons.

La formation des spores est généralement absente, sauf au cours des dernières phases de l'infection. Les sporanges sont mycéloïdes (de forme semblable aux hyphes), en position terminale ou intercalaire, et séparés des hyphes indifférenciés par des septa. Il se forme à l'intérieur des sporanges des spores primaires allongées (de 16 à 25 µm de longueur et de 8 µm de largeur). Lorsque ces spores se détachent du sporange, les spores primaires (environ 15 à 30 par sporange) deviennent arrondies (généralement de 9 à 11 µm de diamètre) et forment une paroi kystique qui deviendra le kyste primaire. Les kystes primaires adhèrent les uns aux autres et forment un amas sur la surface ou sur le bout du sporange. Dans certains cas, les spores primaires s'enkystent à l'intérieur du sporange. Une zoospore émerge à travers une papille (tube d'émergence) de chaque kyste primaire à 20 °C. La zoospore est réniforme (12 µm de longueur et 8 µm de largeur) et possède deux flagelles. Les deux flagelles sont reliés de manière latérale à un même point. Les zoospores nagent activement pendant au moins 48 heures à des températures comprises entre 16 et 20 °C, puis perdent leurs flagelles et s'enkystent pour former un kyste secondaire qui soit donnera naissance à des hyphes en présence des nutriments appropriés, soit répétera le processus d'émergence d'une zoospore et d'enkystement (Alderman et Polglase 1986, Cerenius *et al.* 1988).

**Frottis :** Les tissus issus du grattage des parties affectées peuvent être placés sur une lame de verre, séchés à l'air et colorés avec le colorant Wrights-Giemsa ou avec un autre colorant équivalent disponible dans le commerce (p. ex. Diff-Quick® ou Hemacolor®). Examiner les lames de verre colorées et séchées à l'air à l'aide d'un microscope pour déceler les hyphes d'*A. astaci*.

**Histologie :** La présence d'hyphes distincts et siphonnés de grande taille (de 5 à 10 µm de largeur) peut être relevée dans les coupes tissulaires (contenant de préférence des lésions trouvées dans la cuticule) colorées à l'hématoxyline et à l'éosine. Les hémocytes qui entourent et encapsulent les hyphes et deviennent mélanisés peuvent donner une apparence noueuse aux hyphes (Buller 2008). Stephens *et al.* (2005) ont indiqué que la modification de la coloration Gomori-méthénamine-argent a l'avantage de permettre de distinguer clairement des hyphes colorés en noir sur un fond vert sur des tissus contre colorés à l'aide d'une solution vert clair. La procédure de cette coloration a été présentée par Pintozzi (1978). Une combinaison de l'imprégnation argentique de Grocott avec de l'hématoxyline et de l'éosine utilisées comme contre colorants peut améliorer la visualisation des hyphes dans les tissus de l'écrevisse (Buller 2008).

**Microscopie électronique :** La pénétration de la fine cuticule de l'écrevisse par les zoospores *A. astaci* commence avec la lyse de la couche de surface lipidique de l'écrevisse et la formation d'un tube germinatif (bouche de l'infection) qui traverse l'épicuticule grâce à une activité histologique combinée à une pénétration mécanique. Un hyphes développé à partir du tube germinatif se forme généralement en dessous de la surface interne de l'épicuticule et dans l'endocuticule. Les hyphes grandissent de préférence de façon parallèle à la surface et parfois de façon perpendiculaire à celle-ci. Ensuite, les bouts des hyphes gonflent et certains d'entre eux commencent à traverser la cuticule. La pénétration de la cuticule d'une écrevisse résistante (*P. leniusculus*) était pour l'essentiel identique à celle des écrevisses vulnérables (*A. astacus*). Cependant, chez les écrevisses *P. leniusculus*, on a remarqué une forte mélanisation et une désorganisation du protoplasme dans la plupart des hyphes après la pénétration de la cuticule (Nyhlén et Unestam 1975). Une souche d'*A. astaci* qui avait perdu la capacité à produire des zoospores en milieu de culture contenait dans les hyphes, des corps semblables au mycoplasme (Heath et Unestam 1974). Nyhlén et Unestam (1978) ont décrit les parois des kystes secondaires (spores issues de l'enkystement des zoospores) et les parois des tubes germinatifs dans les spores en germination d'*A. astaci*.

**Culture :** Le diagnostic de la peste de l'écrevisse passe par l'isolement et la caractérisation d'*A. astaci* à l'aide d'un simple support mycologique (12,0 g de gélose; 1,0 g d'extrait de levure; 5,0 g de glucose; 10 mg d'acide oxolinique; 1 000 ml d'eau naturelle (provenant d'une rivière ou d'un lac); fortifié avec des antibiotiques (4 unités internationales/ml de pénicilline G (stérile) ajoutés après stérilisation à l'autoclavage et refroidissement à 40 °C) pour maîtriser la contamination bactérienne (Alderman et Polglase 1986). Pour que l'isolement réussisse, il faut le faire dans les 12 heures suivant la mort de l'écrevisse infectée. Exciser de petits morceaux de cuticule et de muscle infectés, les transférer dans une boîte de Pétri contenant de l'eau distillée stérilisée pour un lavage et un découpage complet en de plus petits morceaux (de 1 à 2 mm<sup>2</sup>). À l'aide d'instruments stérilisés, placer les petits morceaux en condition d'asepsie sur la surface du support. Si aucune lésion n'est visible, prélever des échantillons de muscle et de cuticule dans au moins trois parties de chaque animal (surtout des parties autour de la base des pattes locomotrices proches du corps et à l'intérieur du thorax). Un morceau de verre stérile peut être placé autour de l'inoculum pour forcer les hyphes émergent du morceau à pousser à l'intérieur de la gélose. Pour empêcher la croissance bactérienne, on peut ajouter 0,5 ml de tellurite de potassium à 0,05 % à l'inoculum à l'intérieur du morceau de verre (Diéguez-Urbeondo *et al.* 1997b). Incuber à 16 °C pendant environ 15 jours. Il convient de noter que les champignons qui sont associés à l'écrevisse peuvent grandir comme des contaminants dans les cultures et pourraient se confondre avec les *A. astaci* (Cerenius *et al.* 1988).

La croissance d'*A. astaci* intervient presque toujours entièrement à l'intérieur et sur la surface de la gélose, mais sans hyphes aériens. Les colonies sont incolores. Les dimensions et l'apparence des hyphes sont identiques à celles des tissus de l'écrevisse (voir ci-dessus). Puisque les champignons *Aphanomyces* spp. se reproduisent de façon asexuée, les caractéristiques morphologiques des phases de reproduction sexuée (oogonie et anthéridie) employées pour identifier d'autres Oomycètes ne peuvent être utilisées. On utilise plutôt le processus de sporulation pour identifier *A. astaci*. Au cours de ce processus, les spores sont produites pour se détacher du bout de l'hyphes et s'enkystent avant de produire des spores mobiles (zoospores) qui s'échappent en nageant (Buller 2008). La formation de la spore ne se fait pas dans un milieu de culture riche en nutriments. Lorsque l'on transfère des thalles en cours de croissance active (corps de l'oomycète composés

d'hyphes) ou des portions de thalles dans de l'eau de lac distillée ou stérilisée (en supprimant une fine couche à la surface de la gélose contenant des parties d'*A. astaci* de façon à ne transférer qu'une quantité minimale de gélose contenant des nutriments), des sporanges se forment aussitôt en 20 ou 30 heures à 16 °C, et en 12 ou 15 heures à 20 °C. Remarque : Il faut un ratio d'environ 100 unités d'eau distillée stérilisée pour 1 unité de culture d'*A. astaci* à transférer. Les sporanges sont mycéloïdes, en position terminale ou intercalaire, et se développent à partir des hyphes végétatifs non différenciés. Les sporanges terminaux sont simples et se développent à partir des hyphes extra matriciels. Les sporanges intercalaires sont assez complexes et se développent grâce à la croissance d'une ramification extramatricielle latérale, qui forme le tube de décharge du sporange. Le cytoplasme des tubes de décharge en développement est remarquablement dense et légèrement plus large (de 10 à 12 µm) que celui de l'hyphe végétatif ordinaire. Les sporanges sont délimités par un septum basal unique, pour ce qui est du sporange terminal, et par des septa placés sur chacune des extrémités du segment du sporange pour ce qui est des sporanges intercalaires. Ces septa sont nettement plus épais que la paroi hyphale et ont un indice de réfraction élevé. Des sections successives d'hyphes végétatifs peuvent se développer dans le sporange, et la plupart des thalles végétatifs sont susceptibles de se transformer en un sporange. Les spores primaires (unités cytoplasmiques) sont formées à partir des contenus du sporange et sont libérées (en l'espace de 5 minutes) du tube de décharge du sporange et s'accumulent à ce point. Les spores s'arrondissent et la paroi kystique se forme. La plupart des spores demeurent en un amas (15-30 spores) à la pointe du sporange. Le nombre de spores dans un amas d'*A. astaci* est en général plus petit que celui des autres espèces d'*Aphanomyces*. Les amas sont adhérents et assez résistants à la perturbation physique.

Les spores resteront enkystées pendant 8 à 12 heures. Une zoospore réniforme à deux flagelles (8 x 12 µm, la motilité prend de 5 à 20 minutes à se développer) émerge de chaque kyste et s'échappe en nageant, laissant vides les capsules de la spore enkystée (Buller 2008). Les zoospores d'*A. astaci* pourraient germer et croître in vitro sur les écailles du saumon de l'espèce *Salmo salar* (Hall et Unestam 1980). Andersson et Cerenius (2002) ont indiqué que la chitinase (détectée comme activité enzymatique dans le milieu de culture) et la transcription du gène de la chitinase *AaChi1* sont exprimées à des niveaux élevés au cours de la culture végétative d'*A. astaci* sans stimulation supplémentaire par la chitine ; c'est tout le contraire avec les autres *Aphanomyces* spp. testés qui ne produisent de grandes quantités de chitinase qu'en présence de la chitine. Ce modèle de l'expression de la chitinase peut éventuellement être utilisé comme caractéristique physiologique de qualité pour distinguer *A. astaci* des autres espèces de parasitoses et de saprophytes (Andersson et Cerenius 2002). Dans une recherche consécutive, Hochwimmer *et al.* (2009) ont utilisé les gènes de la famille de chitinase pour développer des tests de diagnostic moléculaire. Des détails supplémentaires relatifs à la culture d'*A. astaci* et à l'apparence morphologique attendue au cours de ses différents stades de développement sont présentés dans le manuel de diagnostic de la peste de l'écrevisse publié par l'Organisation mondiale de la santé animale (OIE) (Chapitre 2.2.1)

**Remarque :** Une vaste gamme d'organismes peuvent se développer dans le milieu de culture utilisé pour la procédure décrite ci-dessus. *Aphanomyces astaci* connaît un taux de croissance lent comparé aux autres Oomycètes et champignons qui peuvent coloniser la cuticule de l'écrevisse et pousser sur le milieu de culture. De même, la présence des bactéries peut inhiber la croissance de *A. astaci* (Oidtmann *et al.* 2004, Cammà *et al.* 2010). Des tentatives d'isolement d'*A. astaci* en milieu de culture à partir de l'écrevisse présentant des infections légères se sont souvent soldées par un échec. Si la détection est faite en dehors de la zone de l'aire de répartition connue de la peste de l'écrevisse, un diagnostic positif devra être confirmé par le laboratoire de référence de l'Organisation mondiale de la santé animale (OIE).

**Bio essai :** Exposer l'écrevisse vulnérable (p. ex. *A. leptodactylus* ou *A. pallipes*) aux zoospores produites par des isolats suspects entraînera une mortalité rapide (Alderman *et al.* 1987). Un ré isolement consécutif du champignon confirme la présence de la peste de l'écrevisse. Toutefois, les espèces d'écrevisses vulnérables ne doivent être utilisées que pour le diagnostic de confirmation qu'en l'absence de toute violation de la Convention de Berne relative aux espèces menacées d'extinction. Certaines populations d'écrevisses peuvent être protégées en vertu de la législation en matière de conservation.

**Sondes à ADN :** Des amorces de séquences arbitraires et des techniques de réaction en chaîne de la polymérase (PCR) de l'ADN ont été utilisées pour identifier deux groupes principaux parmi les *A. astaci* mis en évidence en Suède (Huang *et al.* 1994). L'analyse basée sur la technique associant l'amplification aléatoire de l'ADN polymorphe par réaction en chaîne de la polymérase (RAPD-PCR) a montré que les isolats d'*A. astaci* issus des cadavres d'écrevisses *A. pallipes* en Angleterre appartenaient aux deux groupes (Lilley *et al.* 1997), et deux différentes souches d'*A. astaci* ont causé deux épizooties de peste de l'écrevisse chez les écrevisses *A. astacus* en Finlande (Vennerström *et al.* 1998). Diéguez-Urbeondo *et al.* (1995) ont eu recours à l'analyse RAPD-PCR pour démontrer qu'un isolat issu de l'écrevisse d'eau chaude, *P. clarkii*, était génétiquement distinct de toutes les autres souches décrites. L'analyse RAPD-PCR a aussi indiqué que les isolats d'*A. astaci* provenant de deux foyers de peste de l'écrevisse du sud de l'Allemagne étaient très proches d'une souche isolée chez les écrevisses de l'espèce *P. leniusculus* en provenance du lac Tahoe en Californie aux États-Unis (Oidtmann *et al.* 1999). Buller (2008) a conclu qu'il y avait quatre groupes génétiques (génogroupes) d'*A. astaci* identifiés grâce à la technique RAPD-PCR : Le Groupe A (qui sera par la suite appelé Astacus (As)) comprend des souches isolées à partir des espèces d'écrevisses européennes que sont *A. astacus* et *A. leptodactylus*.

On pense que ce groupe représente les isolats issus d'une première introduction du parasite en Europe. Le Groupe B (qui sera par la suite appelé Pacifastacus I (PsI)) comprend des souches isolées à partir des espèces d'écrevisses originaires des États-Unis, *P. leniusculus*, sans doute après l'introduction de cette écrevisse des lacs Tahoe et Hennessy (en Californie) en Suède en 1969. Le Groupe C (qui sera par la suite appelé Pacifastacus II (PsII)) comprend les souches issues de l'espèce *P. leniusculus* d'origine canadienne (Lac Pitt, en Colombie-Britannique). Enfin, le Groupe D (qui sera par la suite appelé Procamburus (Pc)) comprend les souches isolées à partir de l'espèce *P. clarkii* en Espagne. Les souches des Groupes A à C proviennent des écrevisses originaires d'eaux froides (4-21 °C), tandis que les souches du Groupe D sont des souches issues des régions subtropicales du sud-est des États-Unis et se sont mieux adaptées à la croissance à des températures comprises entre 20-26 °C. Makkonen *et al.* (2011) ont décelé un polymorphisme génétique dans les zones ribosomiques des espaceurs transcrits internes (ITS) d'*A. astaci* parmi les différents isolats (polymorphisme intraspécifique), et aussi parmi les différents clones du même isolat (polymorphisme intragénomique). Les différences n'étaient pas uniformes et n'ont pas permis de déceler de marqueurs spécifiques pour les différents isolats ou groupes de peste de l'écrevisse. Par ailleurs, la variation intragénomique de quatre clones d'un isolat d'*A. astaci* (nommé UEF8866-2) était plus élevée que la variation intraspécifique entre les différents isolats. Ainsi, il sera nécessaire de baser l'identification des différents groupes d'*A. astaci* sur d'autres régions génétiques (Makkonen *et al.* 2011). Récemment, un cinquième nouveau génotype d'*A. astaci* a été isolé chez l'écrevisse américaine *O. limosus* en République Tchèque, à la suite de la comparaison des profils de RAPD-PCR avec ceux des quatre groupes génétiques décrits ci-dessus (Kozubíková *et al.* 2011a).

Bangyeekhun *et al.* (2001) ont identifié deux gènes de la sérine protéase qui encodent les enzymes de subtilisine (AaSP1) et de trypsine (AaSP2) issus d'*A. astaci*. Cette découverte leur a permis d'avancer l'hypothèse selon laquelle l'*A. astaci* pourrait utiliser les protéases non seulement pour acquérir des nutriments, mais aussi pour inhiber ou détruire les réactions de défense de l'hôte. Les amorces mises au point pour amplifier un segment de 1 050 paires de bases de la région ADN<sub>r</sub> 28.S des Saprolegniales (Oomycètes) ont été utilisées pour distinguer l'*A. astaci* par l'application de trois enzymes de restriction à l'amplicon (Oidtmann *et al.* 2002a). En outre, une procédure de diagnostic par PCR qui amplifie spécifiquement l'ADN issu de la région de l'espaceur transcrit interne (ITS) de l'*A. astaci* était capable de détecter l'infection chez l'écrevisse *A. astacus* deux jours après l'exposition expérimentale aux spores (Oidtmann *et al.* 2004). Même si ce test avait été jugé très sensible lorsqu'il a été utilisé pour détecter *A. astaci* dans des coupes imprégnées à la paraffine, car il avait produit un court amplicon de 115 paires de bases (Buller 2008), il avait l'inconvénient de produire une réaction croisée avec les champignons des espèces *Aphanomyces invadans* et *Aphanomyces frigidophilus*. Le second champignon avait été isolé dans un cas de pathologie assimilable à la peste de l'écrevisse (Ballesteros *et al.* 2007). L'utilisation d'une analyse PCR avec une amorce sens différente issue de la même région de l'ADN indiquée ci-dessus et la même amorce antisens s'était révélée être plus spécifique pour *A. astaci* (Oidtmann *et al.* 2006, Cammà *et al.* 2010). L'application de ce test a indiqué que l'éventail caudal (c.-à-d. les uropodes et le telson) et la fine cuticule abdominale des espèces d'écrevisses résistantes à la maladie d'origine nord-américaine (*O. limosus* et *P. leniusculus*) avaient, dans différents endroits en Europe, manifesté des réactions positives à la PCR. Ces réactions étaient plus fréquentes dans la cuticule que dans d'autres parties du corps (Oidtmann *et al.* 2006, Vrålstad *et al.* 2011). Toutefois, la PCR décrite par Oidtmann *et al.* (2006) avait produit au moins une fausse réaction positive sur 16 par le séquençage des produits de la PCR (Kozubíková *et al.* 2009). À cause de la difficulté éprouvée avec l'isolement *in vitro* des *A. astaci* pour déceler l'infection, la validation des essais de diagnostic moléculaire serait utile pour confirmer la répartition et de la prévalence d'*A. astaci* chez les populations d'écrevisses (Edgerton *et al.* 2004, Vrålstad 2005). Vrålstad *et al.* (2009) ont mis au point une méthode de réaction en chaîne par polymérase quantitative en temps réel (RT-PCR) utilisant la TaqMan<sup>®</sup>-MGB (Minor Groove Binder - ligand du petit sillon). Cette méthode de détection quantitative et hautement spécifique d'*A. astaci* vise le motif de la séquence unique de 59 paires de bases d'*A. astaci* trouvé dans l'espaceur transcrit interne 1 (ITS1) de la grappe du gène ribosomique nucléaire. Cette sonde offre une stringence plus élevée, et donc une meilleure spécificité que les amorces habituelles (Vrålstad *et al.* 2009). En plus, l'approche de la PCR en temps réel réduit le risque de contamination induite par les manipulations en laboratoire (il n'y a plus de manipulation supplémentaire de la PCR après la réaction), accroît la sensibilité de détection de l'agent pathogène et fournit des résultats quantitatifs. Cependant, il existe un inconvénient à l'analyse de la PCR en temps réel : le produit issu de cette analyse ne convient pas au séquençage. Ainsi, il faut impérativement recourir à une technique traditionnelle de PCR pour obtenir la confirmation de l'identité du fragment amplifié. Hochwimmer *et al.* (2009) ont identifié deux nouveaux membres exprimés de façon constitutive de la famille de gènes glycosyle hydrolases (GH18) des chitinases chez les *A. astaci*. C'est à partir de ces deux membres que ces chercheurs ont élaboré deux méthodes de diagnostic : une analyse PCR en temps réel basée sur la sonde TaqMan (qPCR) et un essai multiplex visant de multiples gènes (les deux nouveaux gènes *CHI2* et *CHI3*, un troisième membre de la famille des GH18, *CHI1* et l'ARN<sub>r</sub> 5,8S utilisé comme contrôle endogène) décelés par fusion de la courbe d'analyse.

Kozubíková *et al.* (2011b) ont comparé le résultat de la RT-PCR quantitative utilisant la sonde TaqMan<sup>®</sup> MGB (Vrålstad *et al.* 2009) avec celui de la PCR traditionnelle semi-nichée (Oidtmann *et al.* 2006) sur les isolats d'ADN issus de la fine cuticule abdominale de 460 écrevisses des espèces nord-américaines (*O. limosus* et *P. leniusculus*) provenant d'Europe centrale. Ils ont relevé que l'approche RT-PCR utilisant la sonde TaqMan<sup>®</sup> MGB semblait procurer plus de sensibilité (32 % contre 23 % de sensibilité positive) où la grande majorité des nouvelles données positives contenaient des niveaux d'agents très bas. Kozubíková *et al.* (2011b) ont conclu que la combinaison des deux méthodes était susceptible de déboucher sur des conclusions plus sûres sur la présence de l'agent pathogène. Tuffis et Oidtmann (2011) ont comparé la sensibilité analytique du test et la spécificité du dosage par une PCR traditionnelle visant la région ITS (Oidtmann *et al.* 2006) et les deux analyses TaqMan<sup>®</sup> en temps réel, visant soit la région ITS (Vrålstad *et al.* 2009) soit le gène de la chitinase (Hochwimmer *et al.* 2009). Ils ont constaté que toutes les analyses avaient une sensibilité allant de bonne (dosage en temps réel visant le gène de la chitinase) à excellente (dosage en temps réel visant la région ITS) et qu'elles étaient spécifiques de l'ADN d'*A. astaci* de tous les quatre groupes génétiques (décrits plus haut). Aucune de ces trois analyses n'a eu de réaction croisée avec d'autres organismes testés au cours de l'étude (Tuffis et Oidtmann 2011). Strand *et al.* (2011b) ont déterminé que la RT-PCR utilisant la sonde TaqMan<sup>®</sup> MGB (Vrålstad *et al.* 2009) était appropriée pour surveiller directement *A. astaci* dans les plans d'eau naturels après que l'albumine de sérum bovin ou la solution Environmental Master Mix de TaqMan<sup>®</sup> a été ajoutée pour atténuer les acides humiques co-extraits qui inhibaient la détection de cet oomycète de façon significative.

**Remarque :** La combinaison des connaissances relatives à l'historique de la maladie, aux études histologiques et moléculaires (y compris la combinaison de l'application des multiples dosages de PCR et la séquence des produits de PCR) et probablement l'isolement des oomycètes chez l'écrevisse d'eau douce sont des aspects clés de l'établissement d'un diagnostic précis (Diéguez-Urbeondo *et al.* 2010, Tuffis et Oidtmann 2011).

#### Méthodes de contrôle :

Stephens *et al.* (2005) ont décrit diverses procédures et approches qui peuvent être utilisées pour détecter *A. astaci* ou la peste de l'écrevisse en Australie. Certaines des procédures peuvent être appliquées dans d'autres parties du monde. Gherardi *et al.* (2011) font une présentation synthétique des différentes méthodes utilisées (enlèvement mécanique, méthodes physiques, contrôle biologique, biocides, et méthodes autocides) pour le contrôle des espèces d'écrevisses non-indigènes. Ils présentent également les pièges et les éventualités. Cependant, le contrôle de la propagation d'*A. astaci* dans un bassin versant est impossible après la détection d'écrevisses infectées dans une zone. Les mycéliums (hyphes) d'*A. astaci* restent viables pendant au moins 5 jours chez l'écrevisse gardée dans l'eau à une température de 21 °C après la disparition de la peste de l'écrevisse (Oidtmann *et al.* 2002b). De même, les kystes et les zoospores d'*A. astaci* peuvent survivre dans l'eau en dehors de l'hôte pendant au moins 14 jours (Oidtmann *et al.* 2005). Il suffit d'à peine 1,3 zoospore par millilitre d'eau pour infecter les animaux vulnérables (Alderman *et al.* 1987). Le mouvement de l'eau infectée entre les bassins versants peut transmettre l'infection, tout comme le peuvent les équipements tels que les bottes et le matériel de pêche, qui étaient considérés comme étant la source suspecte de l'infection en Irlande (Reynolds 1988). De plus, *A. astaci* était toujours viable et infectieux pour l'écrevisse (*A. astacus*) après le passage dans le tractus gastro-intestinal des poissons (truite arc-en-ciel *Oncorhynchus mykiss*, carpe commune *Cyprinus carpio*, anguille *Anguilla*

*anguilla* et perche *Perca fluviatilis*) nourris avec la cuticule abdominale de l'écrevisse infectée (Oidtmann *et al.* 2002b). Cependant, il est peu probable que *P.A. astaci* survive au passage dans le tractus gastro-intestinal des mammifères ou des oiseaux, parce que le champignon n'a présenté aucun stade de viabilité après un séjour de 12 heures à 37 °C (Oidtmann *et al.* 2002). Le séchage complet de l'équipement (>24 heures) est suffisant pour détruire *P.A. astaci* contaminant, car les oomycètes, y compris les kystes des spores, ne résistent pas à la dessiccation. Le chauffage (ébullition pendant 1 min) était le moyen le plus rapide pour décontaminer les cadavres d'écrevisses (Oidtmann *et al.* 2002b). Lilley et Inglis (1997) ont indiqué que le peroxyde d'hydrogène et la Proxitane 0510 (contenant 5 % d'acide peracétique dans du peroxyde d'hydrogène) ont des propriétés respectivement pour le traitement fongicide et la désinfection. Alderman et Polglase (1985) ont signalé que divers produits chimiques (comme l'hypochlorite de sodium et les iodophores) sont efficaces dans la décontamination de surface de *P.A. astaci* si les surfaces sont exemptes de boue ou de résidus organiques, dans lesquels *P.A. astaci* peut survivre pendant de longues périodes dans un environnement humide. En outre, Stephens *et al.* (2005) ont présenté diverses procédures pour la décontamination des équipements. Les enquêtes initiales ont montré qu'*P.A. astaci* ne survit pas à une température de -5 °C, au plus, pendant plus de 24 heures et qu'il ne survivait pas à la congélation à -20 °C pendant 2 heures. Par contre, Oidtmann *et al.* (2002b) ont indiqué que des stades de viabilité d'*P.A. astaci* étaient toujours présents après 48 heures à -20 °C.

Rahe et Soyle (1989) ont observé que deux lacs de Turquie présentant une concentration élevée en ions Mg<sup>2+</sup> et des ratios Ca/Mg inversés ont continué à favoriser la reproduction des écrevisses (*A. leptodactylus*) malgré la présence des cas de peste de l'écrevisse dans les lacs. D'autres lacs de Turquie où la présence caractéristique d'ions Mg<sup>2+</sup> n'a pas été observée avaient perdu leur population d'écrevisses en moins de deux ans (Rahe et Soyle 1989). Des études *in vitro* ont montré que l'on pouvait prévenir la sporulation d'*P.A. astaci* dans l'eau du lac avec au moins 20 mM de MgCl<sub>2</sub>. De même, la croissance mycéliale dans de la gélose au peptone et au glucose était fortement réduite de 100 mM et prévenue complètement avec 200 mM de MgCl<sub>2</sub>. Cependant, une concentration d'au moins 100 mM de MgCl<sub>2</sub> était nécessaire pour empêcher que les écrevisses soient infectées par des zoospores. Les écrevisses infectées transférées dans 25 mM ou plus de MgCl<sub>2</sub> ont maintenu actives les infections sans toutefois produire de sporanges, et la maladie n'a pas été transmise aux écrevisses *A. astacus* saines (Rantamäki *et al.* 1992).

Les espèces d'écrevisses nord-américaines sont résistantes à la maladie, mais peuvent en être porteuses. Des pertes peuvent être enregistrées si les stocks sont bondés ou affaiblis. Il faut examiner les stocks avant tout transfert d'écrevisses entre fermes ou toute libération dans la nature. Toutefois, l'infection est difficile à détecter chez la plupart des écrevisses nord-américaines qui sont généralement asymptomatiques. On craint que les espèces d'écrevisses américaines soient à présent vulnérables à la maladie si elles sont exposées aux souches européennes d'*P.A. astaci*; il faudrait faire preuve de prudence en cas de demande de réintroduction en Amérique du Nord des stocks d'écrevisses provenant d'Europe.

En Europe, la transmission de la maladie a été associée aux mouvements de l'écrevisse nord-américaine pour des besoins d'astaciculture. Elle a aussi été considérée comme une conséquence de l'utilisation des pièges à écrevisses et autres équipements contaminés (Alderman *et al.* 1990; Diéguez-Uribeondo 2006; Kozubíková *et al.* 2009, 2010). Par ailleurs, Oidtmann *et al.* (2005) ont indiqué que le mouvement des poissons vivants est un moyen important dans la propagation de la peste de l'écrevisse. La Norvège a adopté et mis en œuvre une réglementation visant à prévenir la propagation de la peste de l'écrevisse, mais cette législation s'est révélée inefficace (Johnsen 2007, Vrålstad *et al.* 2011), et des données obtenues sur le terrain montrent qu'*P.A. astaci* peut survivre pendant plusieurs années au sein d'une population de faible densité (c.-à-d. un réservoir latent) et sévir à nouveau une fois que la population des écrevisses augmente (Taugbøl et Skurdal 1993). Toutefois, quelques données montrent que les populations d'écrevisses des petits lacs ou des bassins peuvent se remettre de la peste de l'écrevisse si les écrevisses infectées sont éradiquées (100 % de mortalité causée par la maladie) et le site laissé « en jachère » pendant quelques mois, puis repeuplé avec des écrevisses saines (Smith et Söderhäll 1986). Avant toute activité de réintroduction, l'absence d'*P.A. astaci* devra être approuvée par un test où l'on exposera, pendant une longue durée, des écrevisses vulnérables gardées en captivité dans des cours d'eau, même si cette approche ne peut pas complètement exclure que des écrevisses porteuses d'*P.A. astaci* passent inaperçues (Taugbøl *et al.* 1993, Diéguez-Uribeondo *et al.* 1997a, Kozubíková *et al.* 2008). Néanmoins, la peste de l'écrevisse peut avoir une incidence négative notable sur le rétablissement réussi des populations d'écrevisses indigènes en Europe centrale (Kozubíková *et al.* 2007).

## Références

- Alderman, D.J. 1993. Crayfish plague in Britain, the first twelve years. In: Holdich, D.M., G.F. Warner (eds.) Freshwater Crayfish IX, Papers from the 9th International Symposium of Astacology, Reading University, England 1992. International Association of Astacology, Louisiana. pp. 266-272.
- Alderman, D.J. 1996. Geographic spread of bacterial and fungal diseases of crustaceans. *Revue Scientifique et Technique de l'Office International des Epizooties* 15: 603-632.
- Alderman, D.J. et J.L. Polglase. 1985. Disinfection for crayfish plague. *Aquaculture and Fisheries Management* 16: 203-205.
- Alderman, D.J. et J.L. Polglase. 1986. *Aphanomyces astaci* isolation and culture. *Journal of Fish Diseases* 9: 367-379.
- Alderman, D.J. et J.L. Polglase. 1988. Pathogens, parasites and commensals. In: D.M. Holdrich and R.S. Lowery (eds.). *Freshwater Crayfish - Biology, Management and Exploitation*. Timber Press, OR., p. 176-183.
- Alderman, D.J., J.L. Polglase, M. Frayling et J. Hogger. 1984. Crayfish plague in Britain. *Journal of Fish Diseases* 7: 401-405.
- Alderman, D.J., J.L. Polglase et M. Frayling. 1987. *Aphanomyces astaci* pathogenicity under laboratory and field conditions. *Journal of Fish Diseases* 10: 385-393.
- Alderman, D.J., D. Holdich et I. Reeve. 1990. Signal crayfish as vectors in crayfish plague in Britain. *Aquaculture* 86: 3-6.
- Andersson, M.G. et L. Cerenius. 2002. Analysis of chitinase expression in the crayfish plague fungus *Aphanomyces astaci*. *Diseases of Aquatic Organisms* 51: 139-147.
- Aquiloni, L., M.P. Martín, F. Gherardi et J. Diéguez-Uribeondo. 2011. The North American crayfish *Procambarus darkii* is the carrier of the oomycete *Aphanomyces astaci* in Italy. *Biological Invasions* 13: 359-367.
- Ballesteros, I., M.P. Martín, L. Cerenius, K. Söderhäll, M.T. Tellería et J. Diéguez-Uribeondo. 2007. Lack of specificity of the molecular diagnostic method for identification of *Aphanomyces astaci*. *BFPP / Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture* 385: 17-24. Pour consulter la version électronique à voir <http://dx.doi.org/10.1051/kmae:2007002> ou <http://www.kmae-journal.org>.

- Bangyeekhun, E., L. Cerenius et K. Söderhäll. 2001.** Molecular cloning and characterization of two serine proteinase genes from the crayfish plague fungus, *Aphanomyces astaci*. *Journal of Invertebrate Pathology* 77: 206-216.
- Bohman, P., F. Nordwall et L. Edsman. 2006.** The effect of the large-scale introduction of signal crayfish on the spread of crayfish plague in Sweden. *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture* 380-381: 1291-1302. Pour consulter la version électronique à voir <http://dx.doi.org/10.1051/kmae:2006026> ou <http://www.kmae-journal.org>.
- Buller, N. 2008.** Crayfish plague. Australia and New Zealand Standard Diagnostic Procedure, September 2008. [http://www.scahls.org.au/\\_data/assets/pdf\\_file/0004/1516513/Crayfish\\_Plague.pdf](http://www.scahls.org.au/_data/assets/pdf_file/0004/1516513/Crayfish_Plague.pdf).
- Cammà, C., N. Ferri, D. Zezza, M. Marcacci, A. Paolini, L. Ricchiuti et R. Lelli. 2010.** Confirmation of crayfish plague in Italy: detection of *Aphanomyces astaci* in white clawed crayfish. *Diseases of Aquatic Organisms* 89: 265-268.
- Cerenius, L. et K. Söderhäll. 1984.** Chemotaxis in *Aphanomyces astaci*, an arthropod-parasitic fungus. *Journal of Invertebrate Pathology* 43: 278-281.
- Cerenius, L., K. Söderhäll, M. Persson et R. Ajaxon. 1988.** The crayfish plague fungus *Aphanomyces astaci* - diagnosis, isolation, and pathology. In: Goeldlin de Tiefenau, P. (ed.), *Freshwater Crayfish VII, Papers from the Seventh International Symposium of Astacology*. Musée Zoologique Cantonal, Lausanne, pp. 131-144.
- Cerenius, L., E. Bangyeekhun, P. Keyser, I. Söderhäll et K. Söderhäll. 2003.** Host prophenoloxidase expression in freshwater crayfish is linked to increased resistance to the crayfish plague fungus, *Aphanomyces astaci*. *Cellular Microbiology* 5: 353-357.
- Diéguez-Urbeondo, J. 2006.** The dispersion of the *Aphanomyces astaci*-carrier *Pacifastacus leniusculus* by humans represents the main cause of disappearance of the indigenous crayfish *Austropotamobius pallipes* in Navarra. *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture* 380-381: 1303-1312. Pour consulter la version électronique à voir <http://dx.doi.org/10.1051/kmae:2006036> ou <http://www.kmae-journal.org>.
- Diéguez-Urbeondo, J. 2010.** Current techniques, approaches and knowledge in diagnosis of crayfish plague and other crayfish diseases. Opinion paper. Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems (BFPP) 394-395 (02): 3 pp. Pour consulter la version électronique à voir <http://dx.doi.org/10.1051/kmae/2010004> ou <http://www.kmae-journal.org>.
- Diéguez-Urbeondo, J. et L. Cerenius. 1998.** The inhibition of extracellular proteinases from *Aphanomyces* spp. by three different proteinase inhibitors from crayfish blood. *Mycological Research* 102: 820-824.
- Diéguez-Urbeondo, J., T.-S. Huang, L. Cerenius et K. Söderhäll. 1995.** Physiological adaptation of an *Aphanomyces astaci* strain isolated from the freshwater crayfish *Procambarus clarkii*. *Mycological Research* 99: 574-578.
- Diéguez-Urbeondo, J., A. Rueda, E. Castien et J.C. Bascones. 1997a.** A plan of restoration in Navarra for the native freshwater crayfish species of Spain, *Austropotamobius pallipes*. *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture* 347: 625-637. Pour consulter la version électronique à voir <http://dx.doi.org/10.1051/kmae/1997056> ou <http://www.kmae-journal.org>.
- Diéguez-Urbeondo, J., C. Temiño et J.L. Múzquiz. 1997b.** The crayfish plague fungus (*Aphanomyces astaci*) in Spain. *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture* 347: 753-763. Pour consulter la version électronique à voir <http://dx.doi.org/10.1051/kmae/1997051> ou <http://www.kmae-journal.org>.
- Donpudsá, S., I. Söderhäll, V. Rimphanitchayakit, L. Cerenius, A. Tassanakajon et K. Söderhäll. 2010.** Proteinase inhibitory activities of two two-domain Kazal proteinase inhibitors from the freshwater crayfish *Pacifastacus leniusculus* and the importance of the P2 position in proteinase inhibitory activity. *Fish and Shellfish Immunology* 29: 716-723.
- Edgerton, B.F., L.H. Evans, F.J. Stephens et R.M. Overstreet. 2002.** Synopsis of freshwater crayfish diseases and commensal organisms. *Aquaculture* 206: 57-135.
- Edgerton, B.F., P. Henttonen, J. Jussila, A. Mannonen, P. Paasonen, T. Taugbíl, L. Edsman et C. Souty-Grosset. 2004.** Understanding the cause of disease in European freshwater crayfish. *Conservation Biology* 18: 1466-1474.
- Gherardi, F., L. Aquiloni, J. Diéguez-Urbeondo et E. Tricarico. 2011.** Managing invasive crayfish: Is there a hope? *Aquatic Sciences* 73: 185-200.
- Hall, L. et T. Unestam. 1980.** The effect of fungicides on survival of the crayfish plague fungus, *Aphanomyces astaci*, Oomycetes, growing on fish scales. *Mycopathologia* 72: 131-134.
- Heath, I.B. et T. Unestam. 1974.** Mycoplasma-like structures in the aquatic fungus *Aphanomyces astaci*. *Science* 183: 434-435.
- Hochwimmer, G., R. Tober, R. Bibars-Reiter, E. Licek et R. Steinborn. 2009.** Identification of two GH18 chitinase family genes and their use as targets for detection of the crayfish-plague oomycete *Aphanomyces astaci*. *BMC Microbiology* 9: 184 (17 pages). For open access version see <http://www.biomedcentral.com/1471-2180/9/184>.
- Holdich, D.M. 1988.** The dangers of introducing alien animals with particular reference to crayfish. In: Goeldin de Tiefenau, P. (ed.), *Freshwater Crayfish VII, Papers from the Seventh International Symposium of Astacology*. Musée Zoologique Cantonal, Lausanne, pp. xv-xxx.
- Huang, T., L. Cerenius et K. Söderhäll. 1994.** Analysis of genetic diversity in the crayfish plague fungus, *Aphanomyces astaci*, by random amplification of polymorphic DNA. *Aquaculture* 126: 1-10.
- Huner J.V. et E.E. Brown. 1985.** Crustacean and Mollusk Aquaculture in the U.S. AVI Publishing, Westport, CT. 476 p.
- Järvenpää T., V. Nylund, E. Railo et K. Westman. 1986.** The effects of the crayfish plague fungus *Aphanomyces astaci* on the haemolymph of *Astacus astacus* and *Pacifastacus leniusculus*. In: Brink, P. (ed.), *Freshwater Crayfish VI, Papers from the Sixth International Symposium of Astacology*. International Association of Astacology, Lund, pp. 223-233.
- Johnsen, S.I., T. Taugbøl, O. Andersen, J. Museth et T. Vrålstad. 2007.** The first record of the non-indigenous signal crayfish *Pacifastacus leniusculus* in Norway. *Biological Invasions* 9: 939-941.
- Jussila, J., J. Makkonen, A. Vainikka, R. Kortet et H. Kokko. 2011.** Latent crayfish plague (*Aphanomyces astaci*) infection in a robust wild noble crayfish (*Astacus astacus*) population. *Aquaculture* 321: 17-20.
- Kozubíková, E., A. Petrusek, Z. Ďuriš, P. Kozák, S. Geiger, R. Hoffmann et B. Oidtmann. 2006.** The crayfish plague in the Czech Republic - Review of recent suspect cases and a pilot detection study. *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture* 380-381: 1313-1323. Pour consulter la version électronique à voir <http://dx.doi.org/10.1051/kmae:2006037> ou <http://www.kmae-journal.org>.
- Kozubíková, E., A. Petrusek, Z. Duriš et B. Oidtmann. 2007.** *Aphanomyces astaci*, the crayfish plague pathogen, may be a common cause of crayfish mass mortalities in the Czech Republic. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists* 27: 79-82.
- Kozubíková, E., A. Petrusek, Z. Ďuriš, M.P. Martín, J. Diéguez-Urbeondo et B. Oidtmann. 2008.** The old menace is back: Recent crayfish plague outbreaks in the Czech Republic. *Aquaculture* 274: 208-217.

- Kozubíková, E., L. Filipová, P. Kozák, Z. Duriš, M.P. Martín, J. Diéguez-Uribeondo, B. Oidtmann et A. Petrusek. 2009. Prevalence of the crayfish plague pathogen *Aphanomyces astaci* in invasive American crayfishes in the Czech Republic. *Conservation Biology* 23: 1204-1213.
- Kozubíková, E., M. Puky, P. Kiszely et A. Petrusek. 2010. Crayfish plague pathogen in invasive North American crayfish species in Hungary. *Journal of Fish Diseases* 33: 925-929.
- Kozubíková, E., S. Viljamaa-Dirks, S. Heinikainen et A. Petrusek. 2011a. Spiny-cheek crayfish *Orconectes limosus* carry a novel genotype of the crayfish plague pathogen *Aphanomyces astaci*. *Journal of Invertebrate Pathology* 108: 214-216.
- Kozubíková, E., T. Vrålstad, L. Filipová et A. Petrusek. 2011b. Re-examination of the prevalence of *Aphanomyces astaci* in North American crayfish populations in Central Europe by TaqMan MGB real-time PCR. *Diseases of Aquatic Organisms* 97: 113-125.
- Lilley, J.H. et V. Inglis. 1997. Comparative effects of various antibiotics, fungicides and disinfectants on *Aphanomyces invaderis* and other saprolegniaceous fungi. *Aquaculture Research* 28: 461-469.
- Lilley, J.H., L. Cerenius et K. Söderhäll. 1997. RAPD evidence for the origin of crayfish plague outbreaks in Britain. *Aquaculture* 157: 181-185.
- Makkonen, J., J. Jussila, P. Henttonen et H. Kokko. 2011. Genetic variation in the ribosomal internal transcribed spacers of *Aphanomyces astaci* Schikora from Finland. *Aquaculture* 311: 48-53.
- Marren, P. 1986. The lethal harvest of crayfish plague. *New Scientist* 30 January 1986: 46-50.
- Nylund, V. et K. Westman. 1983. Frequency of visible symptoms of the crayfish plague fungus (*Aphanomyces astaci*) on the American crayfish (*Pacifastacus leniusculus*) in natural populations in Finland. In: Goldman, C.R. (ed.), *Freshwater Crayfish V, Papers from the Fifth International Symposium on Freshwater crayfish*, Davis, California, USA 1981. The Avi Publishing Company, Inc., Westport, pp. 277-283.
- Nylund, V., J. Kirjavainen, J. Tulonen et K. Westman. 1993. The spread of crayfish plague (*Aphanomyces astaci*) and its effects on the noble crayfish (*Astacus astacus*) population in the Lake Ormajärvi waterway in Finland in 1988-1991. In: Holdich, D.M., G.F. Warner (eds.) *Freshwater Crayfish IX, Papers from the 9th International Symposium of Astacology*, Reading University, England 1992. International Association of Astacology, Louisiana. pp. 273-279.
- Nyhén, L. et T. Unestam. 1975. Ultrastructure of the penetration of the crayfish integument by the fungal parasite, *Aphanomyces astaci*, Oomycetes. *Journal of Invertebrate Pathology* 26: 353-366.
- Nyhén, L. et T. Unestam. 1978. Cyst and germ tube wall structure in *Aphanomyces astaci*, Oomycetes. *Canadian Journal of Microbiology* 24: 1296-1299.
- Nyhén, L. et T. Unestam. 1980. Wound reaction and *Aphanomyces astaci* growth in crayfish cuticle. *Journal of Invertebrate Pathology* 36: 187-197.
- Oidtmann, B., L. Cerenius, I. Schmid, R. Hoffmann et K. Söderhäll. 1999. Crayfish plague epizootics in Germany - classification of two German isolates of the crayfish plague fungus *Aphanomyces astaci* by random amplification of polymorphic DNA. *Diseases of Aquatic Organisms* 35: 235-238.
- Oidtmann, B., S. Bausewein, L. Hölzle, R. Hoffmann et M. Wittenbrink. 2002a. Identification of the crayfish plague fungus *Aphanomyces astaci* by polymerase chain reaction and restriction enzyme analysis. *Veterinary Microbiology* 85: 183-194.
- Oidtmann, B., E. Heitz, D. Rogers et R.W. Hoffmann. 2002b. Transmission of crayfish plague. *Diseases of Aquatic Organisms* 52: 159-167.
- Oidtmann, B., N. Schaefers, L. Cerenius, K. Söderhäll et R.W. Hoffmann. 2004. Detection of genomic DNA of the crayfish plague fungus *Aphanomyces astaci* in clinical samples by PCR. *Veterinary Microbiology* 100: 269-282.
- Oidtmann, B., M. Thrush, D. Rogers et E. Peeler. 2005. Pathways for transmission of crayfish plague, *Aphanomyces astaci*, in England and Wales. Conference presentation at meeting of the Society of Veterinary Epidemiology and Preventive Medicine (SVEPM) in Nairn, Inverness, Scotland, UK.
- Oidtmann, B., S. Geiger, S. P., A. Culas et R.W. Hoffman. 2006. Detection of *Aphanomyces astaci* in North American crayfish by polymerase chain reaction. *Diseases of Aquatic Organisms* 72: 53-64.
- Persson, M. et K. Söderhäll. 1983. *Pacifastacus leniusculus* Dana and its resistance to the parasitic fungus *Aphanomyces astaci* Schikora. In: Goldman, C.R. (ed.), *Freshwater Crayfish V, Papers from the Fifth International Symposium on Freshwater crayfish*, Davis, California, USA 1981. The Avi Publishing Company, Inc., Westport, pp. 292-298.
- Persson, M., L. Cerenius et K. Söderhäll. 1987. The influence of haemocyte number on the resistance of the freshwater crayfish. *Pacifastacus leniusculus* Dana, to the parasitic fungus *Aphanomyces astaci*. *Journal of Fish Diseases* 10: 471-477.
- Pintozzi, R.L. 1978. Modified Grocott's methenamine silver nitrate method for quick staining of *Pneumocystis carinii*. *Journal of Clinical Pathology* 31: 803-805. Pour consulter la version électronique à voir <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1145410/pdf/jclinpath00444-0099.pdf>.
- Rahe, R. et E. Soylyu. 1989. Identification of the pathogenic fungus causing destruction to Turkish crayfish stocks (*Astacus leptodactylus*). *Journal of Invertebrate Pathology* 54: 10-15.
- Rantamäki, J., L. Cerenius et K. Söderhäll. 1992. Prevention of transmission of the crayfish plague fungus (*Aphanomyces astaci*) to the freshwater crayfish *Astacus astacus* by treatment with MgCl<sub>2</sub>. *Aquaculture* 104: 11-18.
- Reynolds, J.D. 1988. Crayfish extinctions and crayfish plague in central Ireland. *Biological Conservation* 45: 279-285.
- Royo, F., G. Andersson, E. Bangyeekhun, J.L. Múzquiz, K. Söderhäll et L. Cerenius. 2004. Physiological and genetic characterisation of some new *Aphanomyces* strains isolated from freshwater crayfish. *Veterinary Microbiology* 104: 103-112.
- Smith, V.J. et K. Söderhäll. 1986. Crayfish pathology: an overview. In: Brink, P. (ed.), *Freshwater Crayfish VI, Papers from the Sixth International Symposium of Astacology*, International Association of Astacology, Lund, pp. 199-211.
- Söderhäll, K. et R. Ajaxon. 1982. Effect of quinones and melanin on mycelial growth of *Aphanomyces* spp. and extracellular protease of *Aphanomyces astaci*, a parasite on crayfish. *Journal of Invertebrate Pathology* 39: 105-109.
- Söderhäll, K. et T. Unestam. 1979. Activation of serum prophenoloxidase in arthropod immunity. The specificity of cell wall glucan activation and activation by purified fungal glycoproteins of crayfish phenoloxidase. *Canadian Journal of Microbiology* 25: 406-414.
- Söderhäll, K., E. Svensson et T. Unestam. 1978. Chitinase and protease activities in germinating zoospore cysts of a parasitic fungus, *Aphanomyces astaci*, Oomycetes. *Mycopathologia* 64: 9-11.

- Sparks, A.K. 1985.** Synopsis of Invertebrate Pathology Exclusive of Insects. Elsevier Science Publishing Co. Inc., Amsterdam. p. 224-226.
- Stephens, F., N. Buller, D. Alderman, A. Cameron, M. Doroudi, P. Suijendorp, M. Deveney et R. Bowater. 2005.** Disease strategy: Crayfish plague (Version 1.0). In: Australian Aquatic Veterinary Emergency Plan (AQUAVETPLAN), Edition 2 (Australian Government Department of Agriculture, Fisheries and Forestry).
- Strand, D.A., A. Holst-Jensen, H. Viljugrein, B. Edvardsen, D. Klaveness, J. Jussila et T. Vrålstad. 2011.** Detection and quantification of the crayfish plague agent in natural waters: direct monitoring approach for aquatic environments. *Diseases of Aquatic Organisms* 95: 9-17.
- Taugbøl, T., J. Skurdal et T. Håstein. 1993.** Crayfish plague and management strategies in Norway. *Biological Conservation* 63: 75-82.
- Thompson, A.G. 1990.** The danger of exotic species. *World Aquaculture* 21(3): 25-32.
- Thörnqvist, P.-O. et K. Söderhäll. 1993.** *Psorospermium baeckeli* and its interaction with the crayfish defence system. *Aquaculture* 117: 205-213.
- Tuffs, S. et B. Oidtmann. 2011.** A comparative study of molecular diagnostic methods designed to detect the crayfish plague pathogen, *Aphanomyces astaci*. *Veterinary Microbiology* 153: 343-353.
- Unestam, T. et J.E. Nylund. 1972.** Blood reactions *in vitro* in crayfish against a fungal parasite, *Aphanomyces astaci*. *Journal of Invertebrate Pathology* 19: 94-106.
- Unestam, T. 1973a.** Fungal disease of Crustacea. *Review of Medical & Veterinary Mycology* 8: 1-20.
- Unestam, T. 1973b.** Significance of diseases on freshwater crayfish. In: S. Abrahamsson (ed.). *Freshwater Crayfish - Papers from the First International Symposium on Freshwater Crayfish*. Austria, 1972. Studentlitteratur, Lund, p. 135-150.
- Unestam, T. 1975.** Defence reactions in and susceptibility of Australian and New Guinean freshwater crayfish to European-crayfish-plague fungus. *Australian Journal of Experimental Biology and Medical Science* 53: 349-359.
- Unestam, T. et D.W. Weiss. 1970.** The host-parasite relationship between freshwater crayfish and the crayfish disease fungus *Aphanomyces astaci*: responses to infection by a susceptible and a resistant species. *Journal of General Microbiology* 60: 77-90.
- Vennerström, P., K. Söderhäll et L. Cerenius. 1998.** The origin of two crayfish plague (*Aphanomyces astaci*) epizootics in Finland on noble crayfish, *Astacus astacus*. *Annales Zoologici Fennici* 35: 43-46.
- Vey, A. 1986.** Disease problems during aquaculture of freshwater crustacea. In: Brink, P. (ed.), *Freshwater Crayfish VI, Papers from the Sixth International Symposium of Astacology*. International Association of Astacology, Lund, pp. 212-222.
- Vey, A., K. Söderhäll et R. Ajaxon. 1981.** Susceptibility of *Orconectes limosus* Raff. to the crayfish plague, *Aphanomyces astaci* Schikora. In: C.R. Goldman (ed.). *Freshwater Crayfish V. Papers from the Fifth International Symposium on Freshwater Crayfish*. Davis, CA, 1981. AVI Publishing, Westport CT., p. 284-291.
- Vrålstad, T. 2005.** Newsletter 24. Molecular detection of crayfish plague in Norway. DIPNET, Disease Interactions and Pathogen exchange between farmed and wild aquatic animal populations - a European NETwork.
- Vrålstad, T., A.K. Knutsen, T. Tengs et A. Holst-Jensen. 2009.** A quantitative TaqMan<sup>®</sup> MGB real-time polymerase chain reaction based assay for detection of the causative agent of crayfish plague *Aphanomyces astaci*. *Veterinary Microbiology* 137: 146-155.
- Vrålstad, T., S.I. Johnsen, R.F. Fristad, L. Edsman et D. Strand. 2011.** Potent infection reservoir of crayfish plague now permanently established in Norway. *Diseases of Aquatic Organisms* 97: 75-83.
- Bower, S.M. (2012):** Précis des maladies infectieuses et des parasites des mollusques et des crustacés exploités commercialement: Peste des écrevisses (maladie fongique).

## 9 ANNEXE 2 : MALADIES VIRALES DES ECRESSSES :

Noms courants et généralement admis de l'organisme ou de l'agent pathogène

- Virus bacilliforme *Cherax quadricarinatus* (CqBV), baculovirus *Cherax*.
- Virus bacilliforme *Astacus* (AaBV).
- Virus bacilliforme *Pacifastacus leniusculus* (PIBV).
- Virus de type *Cherax Giardivirus* (CGV).
- Virus bacilliforme *Cherax destructor* (CdBV).
- Virus systémique de type parvo *Cherax destructor* (CdSPV).
- Parvovirus putatif des branchies *Cherax quadricarinatus*.
- Réovirus présumé de la maladie hépatopancréatique *Cherax quadricarinatus*.
- Virus bacilliforme *Austropotamobius pallipes* (ApBV).
- Virus de mortalité du géniteur isolé *Cherax quadricarinatus* (SMV).
- Virus du syndrome des points blancs (WSSV ou WSBV).
- Virus de la nécrose pancréatique infectieuse (VNPI), un birnavirus qui cause une maladie aiguë chez les salmonidés.

### Nom scientifique ou affiliation taxonomique

Différents virus répertoriés ci-dessus. Selon les affiliations proposées par Evans et Edgerton (2002), les virus des écrevisses peuvent être classés comme suit : les virus CqBV, AaBV, PIBV, CdBV, ApBV et WSSV sont similaires sur les plans morphologique et cytopathologique, et ont par conséquent été classés comme des virus bacilliformes intranucléaires ; les virus CdSPV, le parvovirus putatif des branchies de *C. quadricarinatus* et le SMV sont des virus de type parvo; et le CGV est un virus de type Toti à ARN double-brin (ARNdb).

### Répartition géographique

- Nord du Queensland et Territoires du Nord, Australie ; ils ont également été introduits en Californie, aux États-Unis; à Belize; en Équateur.
- Centre de la Finlande.
- Californie, États-Unis.
- Détecté pour la première fois dans le nord du Queensland, en Australie, il est à présent répandu dans les *C. quadricarinatus* des fermes d'aquaculture australiennes. L'absence de détection hors de l'Australie peut s'expliquer par les difficultés de diagnostic qui se posent (Evans et Edgerton 2002).
- Australie méridionale.
- Sud de l'Australie méridionale.
- Nord du Queensland, Australie.
- Nord du Queensland, Australie.
- Sud-est de la France.
- Nord du Queensland, Australie.

Associé à la mortalité épizootique dans l'aquaculture des crevettes pénéidés en Asie et a été introduit par mégarde dans plusieurs lieux en Amérique du Nord et du Sud.

Une vaste aire de répartition géographique prévaut dans la plupart des pays d'Amérique du Nord et du Sud, d'Europe et d'Asie où les salmonidés sont élevés. Néanmoins, son infectiosité aux écrevisses n'a été jusqu'ici examinée qu'en Allemagne.

### Espèces hôtes

1. *Cherax quadricarinatus* se retrouve aussi bien chez les populations sauvages que chez celles d'élevage et chez le *Pacifastacus leniusculus*.
2. *Astacus astacus*.
3. *Pacifastacus leniusculus*.
4. *Cherax quadricarinatus* se retrouve chez les populations juvéniles d'élevage et d'expérimentation.
5. *Cherax destructor*.
6. *Cherax destructor*.
7. *Cherax quadricarinatus*.
8. *Cherax quadricarinatus*.
9. *Austropotamobius pallipes*.

Initialement connu comme agent pathogène du *Penaeus monodon*, ce virus de type parvo a été détecté chez les *Cherax quadricarinatus* d'élevage. Il infecte de nombreuses espèces de crevettes pénéidés et plusieurs crustacés non pénéidés, y compris les écrevisses d'eau douce de toutes les trois familles (Edgerton *et al.* 2004). De façon spécifique, les mortalités associées au virus WSSV ont été observées chez des *Orconectes punctimanus* et *Procambarus* sp. du sud-est des États-Unis. Ce virus a été transmis de manière expérimentale à des *Procambarus clarkii* qu'on a nourris avec des *Penaeus monodon* infectés (Wang *et al.* 1998, Edgerton *et al.* 2002a, Evans et Edgerton 2002); transmis de manière expérimentale au *Cherax quadricarinatus* par injection d'hémolymphe tirée des crevettes *Penaeus chinensis* infectées naturellement (Shi *et al.* 2000 - Remarque : Edgerton (2004, avant-dernier paragraphe de l'introduction) affirme que l'écrevisse testée par Shi *et al.* (2000) était une *Procambarus clarkii* et non une *C. quadricarinatus*); transmis de manière expérimentale à des *Astacus leptodactylus* et des *Orconectes limosus* par injection et par alimentation avec des *Penaeus monodon* infectées (Corbel *et al.* 2001) ; transmis de manière expérimentale à des *Pacifastacus leniusculus* par injection d'isolats issus de *P. monodon* (Jiravanichpaisal *et al.* 2001) ; transmis de manière expérimentale à des *Cherax destructor albidus* par injection d'isolats thaïlandais du virus WSSV propagé dans des *P. monodon*. Cependant, le *C. destructor albidus* s'est montré moins sensible à l'infection lorsqu'il a été exposé à un test oral (Edgerton 2004).

Bien qu'il soit responsable de la maladie des saumons, ce virus a été transmis de manière expérimentale aux *Astacus astacus* par injection, par alimentation avec des tissus infectés de saumon et par cohabitation avec des alevins infectés de saumons arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss* (= *Salmo gairdneri*)) (Halder et Ahne 1988).

### Impact sur les hôtes :

La relation entre l'infection et la maladie reste obscure pour ce qui est de la majorité des virus des écrevisses. En fonction du virus impliqué et de sa possible synergie avec d'autres virus ou pathogènes, les effets sur l'hôte peuvent être mortels, relativement bénins, ou même inconnus. Certaines infections virales peuvent ne se déclarer que lorsque les écrevisses sont exposées à des facteurs de stress comme la captivité, la surpopulation ou un environnement dégradé. Les maladies associées aux virus chez les écrevisses ont été décrites comme suit :

Même si le virus CqBV a été associé aux mortalités enregistrées chez les populations d'expérimentation et d'élevage de *C. quadricarinatus*, il est considéré comme ayant une faible virulence, car il n'y a pas eu de mortalités graves enregistrées dans les fermes présentant un nombre élevé d'écrevisses infectées (Edgerton et Owens 1999, Evans et Edgerton 2002). De même, les *C. quadricarinatus* vivant en captivité dans des fermes d'élevage en Californie ne présentaient pas de signes externes ou internes de la maladie, mais les animaux soumis à un examen médical de routine avaient une croissance plus faible que prévu sans que des cas de mortalité leur aient été associés (Groff *et al.* 1993). Cependant, Edgerton et Owens (1997) ont démontré que les écrevisses juvéniles (2 semaines après la mue au stade 3) étaient prédisposées à contracter l'infection, dont la prévalence augmentait avec le temps, mais la pathogénicité ne pouvait être évaluée à cause du cannibalisme. Le virus AaBV n'avait pas été associé à la phase clinique de la maladie, mais la forte intensité de l'infection chez certaines écrevisses indiquait une possible pathogénicité à l'*A. astaci* (Edgerton *et al.* 1996). Le virus PIBV n'a été identifié qu'à une seule occasion, et sa prédisposition à une maladie apparentée est inconnue (Edgerton *et al.* 2002a).

Le virus CGV est très commun chez les *C. quadricarinatus* d'élevage, et la prévalence de l'infection augmente de façon dramatique parmi les écrevisses juvéniles après la mue au stade 3 (premier stade de nutrition), ce qui révèle une transmission orale. Même si ce virus ne cause pas la maladie chez le *C. quadricarinatus* adulte, de fortes infections peuvent entraîner la morbidité chez les juvéniles (Edgerton et Owens 1999, Edgerton *et al.* 2002a). De même, l'infection a été associée à des mortalités parmi des écrevisses juvéniles détenues dans des aquariums d'expérimentation (Edgerton *et al.* 1994). Par conséquent, le virus CGV peut être considéré comme un agent pathogène notable des *C. quadricarinatus* juvéniles (Evans et Edgerton 2002).

Peu de *C. destructor* infectés par le virus CdBV ont été détectés, raison pour laquelle on connaît peu de choses sur sa prévalence, sa transmission et son éventail d'hôtes potentiels (Edgerton *et al.* 2002a).

Le virus CdSPV a été observé chez une seule écrevisse *C. destructor* issue d'un étang d'élevage d'écrevisses. Puisqu'aucune autre étude n'a été menée jusqu'ici, la distribution et la prévalence de ce virus ne sont pas connues (Edgerton *et al.* 2002a).

Le parvovirus putatif de branchies a été associé aux mortalités chroniques chez les écrevisses *C. quadricarinatus* provenant d'une ferme en tant que subadultes et employées pour les essais de transmission de la maladie en laboratoire (Edgerton *et al.* 2000).

Le réovirus présumé de la maladie hépatopancréatique du *C. quadricarinatus* a été associé aux mortalités chroniques chez les *C. quadricarinatus* issues d'une ferme d'élevage (Edgerton *et al.* 2000).

Le virus ApBV a été associé à un cas de mortalité épizootique de l'*A. pallipes* dans le bassin hydrographique de Nant, en Ardèche, en France, au cours de l'été 2000 (Edgerton *et al.* 2002b). Depuis 2000, le virus ApBV a été trouvé chez une grande majorité (de 73 % à 100 %) d'*A. pallipes* d'autres rivières du sud-est de la France sans mortalités évidentes, mais certaines écrevisses provenant de l'échantillon d'une rivière étaient moribondes, alors que toutes avaient de faibles réserves de lipides et des lésions mélanitiques fréquentes sur les branchies, ce qui révèle une population stressée (Edgerton 2003).

Le virus SMV a été associé à la réduction de la tolérance au stress chez les *C. quadricarinatus*, dont les mortalités élevées sont associées à la manipulation (capture et transport) et à la réduction significative de la productivité au moment de la récolte (Owens et McElnea 2000).

Le virus WSSV cause des maladies graves chez beaucoup d'espèces de crevettes pénéidés et des mortalités considérables chez certaines populations d'écrevisses exposées de manière expérimentale (Wang *et al.* 1998, Edgerton *et al.* 2002a). Chez les *P. leniusculus* ayant reçu le virus WSSV par injection, le virus a eu un effet significatif sur la proportion des différents types d'hémocytes, et toutes les écrevisses d'expérimentation sont mortes dans les 10 jours suivant l'injection (Jiravanichpaisal *et al.* 2001).

Même s'il n'a pas été démontré que le virus VNPI se répliquait chez les *A. astacus*, cette espèce d'écrevisse servait de vecteur mécanique de l'infection. Le virus VNPI a été isolé de l'hémolymphe des *A. astacus* jusqu'à 1 an après exposition par injection, transmission orale et cohabitation - par voies hydriques (Halder et Ahne 1988).

### Techniques de diagnostic :

Observations générales : Les signes cliniques de l'infection ont été rapportés seulement pour trois des virus signalés chez l'écrevisse :

Les écrevisses présentant une forte infection au virus CqBV sont léthargiques, ont une réponse faible ou nulle au test de stimulation calorique de la queue, et sont incapables de se remettre sur leurs pattes lorsqu'elles sont renversées.

La seule écrevisse infectée par le virus CdSPV était moribonde et avait des plaques de musculature opaques visibles à travers la cuticule translucide sur la surface ventrale de l'abdomen (Edgerton *et al.* 1997).

Les signes cliniques du virus WSSV chez les espèces *O. punctimanus* et *Procambarus* sp. sont la décoloration et la marbrure de l'exosquelette, d'abord sur la carapace et parfois sur les pattes chélifères (Edgerton *et al.* 2002a). Les signes cliniques chez le *Pacifastacus leniusculus* comprennent l'hémolymphe rougeâtre qui retarde longuement le temps de coagulation et réduit l'activité et la motricité, entraînant une faible réactivité aux stimulations. Cependant, il n'y avait pas d'apparition de points blancs sur la cuticule ni de coloration rougeâtre de l'ensemble du corps, signes habituellement observés chez les crevettes pénéidés infectées au virus WSSV (Jiravanichpaisal *et al.* 2001).

**Histologie :**

Le virus qBV infecte particulièrement les cellules sénescents proximales de l'hépatopancréas qui se trouvent en position proximale ou médiane dans les tubules hépatopancréatiques, et moins fréquemment dans les cellules épithéliales de l'antichambre, de l'intestin moyen et du cæcum proximal de l'intestin moyen. La bactériémie est récurrente chez les écrevisses souffrant d'intenses infections. La nécrose et l'atrophie des tissus infectés ont été relevées sur des cas d'infections aiguës (Edgerton 1996). Les noyaux infectés qui sont souvent hypertrophiés présentent une marginalisation de la chromatine et des nucléoles. Ils contiennent également une inclusion acidophile granulaire unique qui leur donne une apparence de bague à chaton. Cette inclusion peut contenir de fines chaînes de chromatine ou avoir une apparence auréolée lorsque la fixation s'est soldée par une rétraction. Le cytoplasme peut connaître une augmentation de la basophilie. Les premières phases de l'infection se caractérisent par de petites inclusions intranucléaires acidophiles auréolées dans les cellules vulnérables.

Le Virus AaBV infecte les cellules épithéliales du tube digestif en y formant des noyaux hypertrophiés à la forme légèrement irrégulière. Les noyaux affectés ont la chromatine échançrée et contiennent des inclusions acidophiles amorphes, qui sont souvent plus sombres vers le centre et auréolées ou compartimentées par des brins de chromatine. Le nucléole n'est pas visible au cours des dernières phases de l'infection, et le cytoplasme des cellules infectées peut être extrêmement basophile. Les cellules infectées se dissocient en permanence dans la lumière intestinale et, parfois, l'intestin moyen, le cæcum de l'intestin moyen ou les tubules hépatopancréatiques étaient nécrotiques et encapsulés d'hémocytes (Edgerton *et al.* 1996).

Le virus PIBV infecte les cellules épithéliales de l'hépatopancréas qui peuvent se détacher de la membrane basale du tubule. Les cellules infectées ont des noyaux hypertrophiés avec la chromatine échançrée qui contient une inclusion acidophile granulaire. Le CGV est confiné aux cellules épithéliales R, F et B (mais pas aux cellules E) de l'hépatopancréas, et les cellules infectées ne se dissocient généralement pas dans la lumière du tubule de l'hépatopancréas. L'infection entraîne une hypertrophie négligeable ou bénigne, mais les noyaux infectés ont une chromatine marginalisée et compacte et contiennent de multiples inclusions matures de couleur rouge pourpre (avec une coloration à l'hématoxyline et à l'éosine). Au cours des dernières phases de l'infection, les inclusions s'unissent, diminuant ainsi leur nombre, mais gagnant en volume. Diverses propriétés de coloration des noyaux infectés et la digestion de la nucléase de la matière histologique ont confirmé la prédominance de l'ARN double brin dans les inclusions (Edgerton *et al.* 1994).

Le virus CdBV infecte le noyau de l'épithélium de l'hépatopancréas (hépatopancréatocytes) causant leur lyse et leur dissolution dans la lumière du tubule. Les noyaux infectés sont nettement hypertrophiés, ont la chromatine échançrée et contiennent une inclusion acidophile amorphe. Le cytoplasme des cellules infectées est souvent plus basophile que celui des cellules saines.

La seule écrevisse infectée par le virus CdSPV présentait une nécrose extensive sur plusieurs organes principaux tels que les branchies, l'hépatopancréas et les muscles. Cependant, les lésions cytopathologiques, qui sont caractéristiques d'une infection virale, n'ont été identifiées que sur les branchies, l'épicarde et le tissu conjonctif spongieux. Les noyaux des cellules infectées étaient nettement hypertrophiés et recouverts de chromatine échançrée, et contenaient également des inclusions intranucléaires Cowdry de type A.

La seule lésion logiquement associable au parvovirus putatif des branchies chez le *C. quadricarinatus* était l'hypertrophie multifocale des noyaux avec une chromatine marginalisée sur l'épithélium des branchies. Il y avait une infiltration connexe des hémocytes dans une écrevisse moribonde. Parfois, la majorité des noyaux épithéliaux des branchies d'une coupe longitudinale de lamelle étaient infectés. L'épithélium des lamelles gravement infectées était plus basophile (avec une coloration à l'hématoxyline et à l'éosine) et s'était éloigné de la cuticule (Edgerton *et al.* 2002a).

La seule écrevisse *C. quadricarinatus* infectée par le réovirus présumé de la maladie hépatopancréatique présentait des inclusions acidophiles, des inclusions cytoplasmiques dans le cytoplasme des cellules de l'hépatopancréas, sur ou près des extrémités distales des tubules à travers l'hépatopancréas. Les inclusions se trouvaient dans des vacuoles cytoplasmiques, et certaines étaient liées de près au noyau. Il y avait une démarcation distincte entre les épithéliums infectés et les épithéliums sains sur la section longitudinale des tubules, car les tubules infectés étaient aplatis et présentaient moins de vacuolisation de lipides que les épithéliums sains. Aussi, les tubules infectés étaient agglutinés d'hémocytes (Edgerton *et al.* 2000).

Le virus ApBV infecte les cellules épithéliales de l'hépatopancréas (généralement dans l'antichambre et les voies urinaires principales, mais jamais dans les extrémités apicales des tubules), l'intestin moyen et le cæcum de l'intestin moyen. La virulence de l'infection était, dans la plupart des cas, plus élevée dans l'intestin moyen et/ou dans le cæcum de l'intestin moyen. Les cellules infectées présentaient des noyaux hypertrophiés contenant de la chromatine échançrée et des inclusions acidophiles granulaires. Les noyaux infectés se trouvaient souvent sur le sommet de la cellule épithéliale (Edgerton *et al.* 2002b). Les cellules infectées se dissolvaient dans la lumière intestinale (Edgerton 2003).

Un test hispathologique de routine (réalisé à l'aide de la coloration à l'hématoxyline et à l'éosine) n'a pas révélé de signe de la présence de la maladie. Par contre, les parties des tissus colorés par une hybridation *in situ* à l'aide d'une sonde SMV marquée à la digoxigénine a révélé des signaux positifs sur les noyaux de nombreux organes de 75 % des écrevisses moribondes de l'espèce *C. quadricarinatus* (Owens et McElnea 2000).

Le virus WSSV infecte les hémocytes et d'autres cellules d'origine mésodermique et ectodermique, surtout l'épiderme cuticulaire. Les noyaux des cellules infectées sont hypertrophiés, ont la chromatine échançrée et contiennent des inclusions uniques variant d'un état légèrement acidophile à un état basophile intense. Chez *P. leniusculus*, les observations histopathologiques réalisées dans divers tissus des écrevisses infectées étaient semblables à celles observées chez les crevettes pénéidés infectées par le virus WSSV (Jiravanichpaisal *et al.* 2001).

L'exposition expérimentale n'a pas révélé d'histopathologie dans les tissus des écrevisses, mais le virus de la nécrose pancréatique infectieuse (VNPI) a été isolé dans divers tissus par une culture de virus *in vitro* dans les cellules de poisson.

### Microscopie électronique :

Les virions du virus CqBV (environ 262 x 102 nm) sont de forme allongée avec une capsid nucléaire cylindrique (212 x 53 nm) enveloppée d'une membrane flottante à trois lamelles. Celle-ci contient une légère bosse unilatérale sur l'extrémité pour contenir une structure réfléchie semblable à la queue (Edgerton 1996). Les virions s'agglutinent dans le noyau à l'intérieur du viroplasma granulaire. Les vestiges nucléolaires putatifs de forme arrondie sont fréquents dans le noyau infecté.

Les virions du virus AaBV (343 x 71 nm) possèdent une capsid nucléaire cylindrique de forme arrondie (261 X 51 nm) enveloppée d'une membrane, à trois lamelles, fermement appliquée. Celle-ci a une expansion unilatérale sur l'extrémité qui sert à contenir une structure réfléchie semblable à la queue. Les virions étaient souvent placés en rangées et s'associaient aux vestiges nucléolaires. Ils ne se trouvaient que dans le cytoplasme des cellules infectées suivant la lyse du noyau (Edgerton *et al.* 1996).

Les virions du virus PIBV sont de forme allongée et sont enveloppés (240 x 66 nm) d'une capsid nucléolaire (189 x 44 nm). Ils s'agglutinent dans le noyau.

Les virions du virus CGV (environ 25 nm de diamètre) sont icosaédriques et non enveloppés. Les inclusions nucléaires sont entièrement composées de virions rangés en matrices paracrystallines.

Les virions du virus CdBV (304 x 68 nm) sont de forme allongée et possèdent une capsid nucléolaire cylindrique (263 x 50 nm) qui est légèrement ou nettement recourbée à l'intérieur d'une membrane à trois lamelles fermement appliquées. Cette membrane se déploie latéralement dans la partie recourbée et loge une structure semblable à la queue qui provient de l'extrémité de la capsid nucléolaire. Les virions sont disséminés dans le viroplasma et s'agglutinent au niveau de la membrane nucléaire. Le viroplasma contient d'abondantes particules précurseurs ribosomiques putatives et des fragments de membrane qui, souvent, forment des cercles (Edgerton 1996).

Les virions du virus CdSPV (environ 21 nm de diamètre) sont icosaédriques. Des agrégats de particules virales ont été trouvés entre le viroplasma et la membrane nucléaire interne. Le nucléole était directement associé au viroplasma en développement et était souvent hypertrophié. Les inclusions intranucléaires étaient principalement constituées de capsides vides et de microfilaments.

Les parvovirus putatifs des branchies chez le *Cherax quadricarinatus* (environ 20 nm de diamètre) étaient arrondis avec des profils angulaires. Ces particules semblables au virus étaient disséminées à l'intérieur du noyau et entourées de la chromatine échancree et des nucléoles du noyau hypertrophié. La mitochondrie des cellules infectées était bombée et présentait des profils irréguliers ; le cytoplasme était plus dense en électrons que les cellules saines.

Les virions du réovirus présumé de la maladie hépatopancréatique chez *Cherax quadricarinatus* (35 à 40 nm) étaient non enveloppés, avaient une apparence angulaire et une forme irrégulière (formes hexagonale et pentagonale). Ils étaient régulièrement espacés dans le stroma virogénique près des matrices paracrystallines se trouvant dans le cytoplasme des cellules. Même si les inclusions cytoplasmiques étaient directement associées au noyau, celui-ci restait inchangé (Edgerton *et al.* 2000).

Les virions du virus ApBV (environ 258 x 63 nm) avaient une capsid nucléolaire cylindrique (225 x 52 nm) enveloppée d'une membrane à trois lamelles qui était délicatement appliquée à une extrémité, plus une expansion unilatérale à l'autre extrémité (Edgerton *et al.* 2002b). Ces virions (environ 20 nm de diamètre) qui étaient spécifiquement décrits chez le *Penaeus monodon*, mais pas chez l'écrevisse, avaient une forme hexagonale suggestive d'une symétrie icosaédrique (Fraser et Owens 1996).

Les virions du virus WSSV (350 x 100 nm) présents chez l'écrevisse ont une forme qui va de la forme allongée à la forme elliptique. L'exposition expérimentale au VNPI n'a pas révélé de cytopathologie dans les tissus de l'écrevisse, mais on a trouvé des virions dans les granules de l'hémocyte.

**Sondes à ADN:** Plusieurs instruments moléculaires, comme la PCR et des techniques d'hybridation *in situ*, ont été mis au point pour détecter les virus WSSV et VNPI. Le virus SMV a été détecté initialement chez l'écrevisse grâce à la technique d'hybridation *in situ* (sonde marquée à la digoxigénine) mise au point pour le diagnostic de cette maladie chez *Penaeus monodon* (Owens et McElnea 2000). Aucun autre instrument de test moléculaire n'est disponible pour détecter les autres virus de l'écrevisse.

### Méthodes de contrôle :

Il est possible d'éviter certaines maladies ou d'en réduire la gravité en réduisant au minimum le stress des écrevisses en captivité. Il est possible de prévenir les maladies, ou tout au moins les cas de mortalités massives, dans les exploitations d'aquaculture grâce à des mesures d'élevage appropriées. Pour prévenir les infections à virus CqBV et CGV en aquaculture et les déplacements involontaires de ces virus dans des activités d'aquaculture, Edgerton et Owens (1997) ont préconisé la production de juvéniles de l'espèce *C. quadricarinatus* présumés exempts de virus au moyen d'écloseries et d'une technologie de croissance convenables. Cette approche est envisageable parce que les virus CqBV et CGV ne sont pas transmis verticalement. Une descendance d'écrevisses exemptes de ces virus peut donc être produite à partir des mères infectées. Il faut pour ce faire enlever les œufs, désinfecter leurs surfaces et les faire éclore dans une eau propre.

### Références

- Anderson, I.G. et H.C. Prior. 1992. Baculovirus infections in the mud crab, *Scylla serrata* and a freshwater crayfish, *Cherax quadricarinatus*, from Australia. *Journal of Invertebrate Pathology* 60: 265-273.
- Corbel, V., Zuprizal, Z. Shi, C. Huang, Sumartono, J.-M. Arcier et J.-R. Bonami. 2001. Experimental infection of European crustaceans with white spot syndrome virus (WSSV). *Journal of Fish Diseases* 24: 377-382.
- Edgerton, B. 1996. A new bacilliform virus in Australian *Cherax destructor* (Decapoda: Parastacidae) with notes on *Cherax quadricarinatus* bacilliform virus (= *Cherax baculovirus*). *Diseases of Aquatic Organisms* 27: 43-52.
- Edgerton, B.F. 2003. Further studies reveal that *Austropotamobius pallipes* bacilliform virus (ApBV) is common in populations of native freshwater crayfish in south-eastern France. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists* 23: 7-12.
- Edgerton, B.F. 2004. Susceptibility of the Australian freshwater crayfish *Cherax destructor albidus* to white spot syndrome virus (WSSV). *Diseases of Aquatic Organisms* 59: 187-193.
- Edgerton, B. et L. Owens. 1997. Age at first infection of *Cherax quadricarinatus* by *Cherax quadricarinatus* bacilliform virus and *Cherax* *Giardiavirus*-like virus, and production of putative virus-free crayfish. *Aquaculture* 152: 1-12.
- Edgerton, B.F. et L. Owens. 1999. Histopathological surveys of the redclaw freshwater crayfish, *Cherax quadricarinatus*, in Australia. *Aquaculture* 180: 23-40.
- Edgerton, B., L. Owens, B. Glasson et S. De Beer. 1994. Description of a small dsRNA virus from freshwater crayfish *Cherax quadricarinatus*. *Diseases of Aquatic Organisms* 18: 63-69.
- Edgerton, B., P. Paasonen, P. Henttonen et L. Owens. 1996. Description of a bacilliform virus from the freshwater crayfish, *Astacus astacus*. *Journal of Invertebrate Pathology* 68: 187-190.
- Edgerton, B., R. Webb et M. Wingfield. 1997. A systematic parvo-like virus in the freshwater crayfish *Cherax destructor*. *Diseases of Aquatic Organisms* 29: 73-78.
- Edgerton, B.F., R. Webb, I.G. Anderson et E.C. Kulpa. 2000. Description of a presumptive hepatopancreatic reovirus, and a putative gill parvovirus, in the freshwater crayfish *Cherax quadricarinatus*. *Diseases of Aquatic Organisms* 41: 83-90.
- Edgerton, B.F., L.H. Evans, F.J. Stephens et R.M. Overstreet. 2002a. Synopsis of freshwater crayfish diseases and commensal organisms. *Aquaculture* 206: 57-135.
- Edgerton, B.F., H. Watt, J.-M. Becheras et J.-R. Bonami. 2002b. An intranuclear bacilliform virus associated with near extirpation of *Austropotamobius pallipes* Lereboullet from the Nant watershed in Ardèche, France. *Journal of Fish Diseases* 25: 523-531.
- Edgerton, B.F., P. Henttonen, J. Jussila, A. Mannonen, P. Paasonen, T. Taugbíl, L. Edsman et C. Souty-Grosset. 2004. Understanding the cause of disease in European freshwater crayfish. *Conservation Biology* 18: 1466-1474.
- Evans, L.H. et B.F. Edgerton. 2002. Pathogens, parasites and commensals; Chapter 10. In: Holdich, D.M. (ed.) *Biology of Freshwater Crayfish*. Blackwell Sciences Ltd., Oxford, England. pp. 377-438.
- Fraser, C.A. et L. Owens. 1996. Spawner-isolated mortality virus from Australian *Penaeus monodon*. *Diseases of Aquatic Organisms* 27: 141-148.
- Groff, J.M., T. McDowell, C.S. Friedman et R.P. Hedrick. 1993. Detection of a nonoccluded baculovirus in the freshwater crayfish *Cherax quadricarinatus* in North America. *Journal of Aquatic Animal Health* 5: 275-279.
- Halder, M. et W. Ahne. 1988. Freshwater crayfish *Astacus astacus* - a vector for infectious pancreatic necrosis virus (IPNV). *Diseases of Aquatic Organisms* 4: 205-209.
- Jiravanichpaisal, P., E. Bangyeekhum, K. Söderhäll et L. Söderhäll. 2001. Experimental infection of white spot syndrome virus in freshwater crayfish *Pacifastacus leniusculus*. *Diseases of Aquatic Organisms* 47: 151-157.
- Owens, L. et C. McElnea. 2000. Natural infection of the redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus* with presumptive spawner-isolated mortality virus. *Diseases of Aquatic Organisms* 40: 219-223.
- Shi, Z., C. Huang, J. Zhang, D. Chen et J.R. Bonami. 2000. White spot syndrome virus (WSSV) experimental infection of the freshwater crayfish, *Cherax quadricarinatus*. *Journal of Fish Diseases* 23: 285-288.
- Wang, Y.-C., C.-F. Lo, P.-S. Chang et G.-H. Kuo. 1998. Experimental infection of white spot baculovirus in some cultured and wild decapods in Taiwan. *Aquaculture* 164: 221-231.

## **10 ANNEXE 3 : FICHES DE RESULTATS DU LABORATOIRE DU JURA**

## RAPPORT D'ANALYSES



Dossier : 190719 042347 01  
 Bordereau : 1  
 Enregistré le : 19/07/2019  
 Date d'édition : 08/10/2019

Propriétaire	
N° client	: 12386
Nom	: Féd. Dép. Pêche DE LA LOIRE
Commune	: 42480 LA FOUILLOUSE

Féd. Dép. Pêche DE LA LOIRE  
 6 Allée de L'Europe  
 ZI Le Bas Rollet  
 42480 LA FOUILLOUSE

Lieu de prélèvement	
Site	: La Mornante - La Goutte
Commune	: 42740 LA TERRASSE SUR DORLAY <i>Les Zappes</i>

Préleveur / Vétérinaire	
Nom	: SCARAMUZZI
Commune	:

DATE DE PRELEVEMENT	DATE DE RECEPTION	DATE DE DEBUT D'ANALYSE
15/07/2019	17/07/2019	17/07/2019
Nature du prélèvement : Sujet(s) vivant(s)		Mode d'acheminement : TRANSPORTEUR
Espèce : Ecrevisse p.blanc (Austroptamobius pallipes)		Etat :
Remarque :		Référence du préleveur : DevisPA197-00

**EXAMEN :** Ecrevisses - Autopsie avec recherches complémentaires

Paramètres	Résultats				
<b>001</b>					
<b>Inventaire/mesurations</b>					
Sujet N°	1	2	3	4	5
Sexe	m	m	m	m	m
Poids (en g)	30.1	20.2	9.7	10.5	16.9
Longueur totale (en cm)	9.7	8.6	7	6.7	8.2
Longueur pince (en cm)	4	3.2	2.1	2	3.2
<b>Examen clinique et nécropsique</b>					
Informations générales	1 lot de 25 écrevisses vivantes, très vives.				
Examen externe	Perte d'1 pince pour 2 sujets, perte de 2 pinces pour 1 sujet. Sujets de couleur variable, allant de marron à bleu-verdâtre.				
Examen des organes internes	Branchies blanc-beige; Vacuité tube digestif 4 sujets sur 5. Muscle translucide; hépatopancréas blanc-rosé.				
<b>Parasitologie externe</b>					

## RAPPORT D'ANALYSES



Dossier : 190719 042347 01  
 Bordereau : 1  
 Enregistré le : 19/07/2019  
 Date d'édition : 08/10/2019

Paramètres	Résultats
Branchies <i>Examen macro et microscopique</i>	ras sur 5 sujet(s)
Carapace <i>Examen macro et microscopique</i>	ras sur 5 sujet(s)
Membrane intersegmentaire <i>Examen microscopique</i>	ras sur 5 sujet(s)
<b>Parasitologie interne</b>	
Membrane sous-cuticulaire <i>Examen microscopique</i>	ras sur 5 sujet(s)
Muscles <i>Examen macro et microscopique</i>	ras sur 5 sujet(s)
Tube digestif <i>Examen macro et microscopique</i>	ras sur 5 sujet(s)
Hépatopancréas <i>Examen macro et microscopique</i>	ras sur 5 sujet(s)
<b>002 - hémolymphe</b>	
<b>Bactériologie</b>	
Flavobacterium - Isolement et identification	absence
Recherche de germes aérobies <i>Isolement et identification</i>	Pseudomonas fluorescens Erwinia rhapontici
<b>003 - branchies</b>	
<b>Bactériologie</b>	
Flavobacterium - Bactérioscopie <i>Coloration de Gram</i>	négatif sur 5 sujet(s)
<b>Mycologie</b>	
Mycologie - Fusariose	absence

**Commentaires :**

sur ce lot : après concertation avec M.Scaramuzzi , la technicienne a compris de ne pas faire la recherche d'Aphanomycose par PCR sur ces sujets, d'autres seraient acheminés ultérieurement dans l'alcool).  
 La bactériologie et la parasitologie n'ont pas permis la mise en évidence d'agents pathogènes .

Date de validation : 27/09/2019  
 Dr Vét. F. BOUHIER-POZET  
 Responsable Santé Animale

parasitologie : analyses semi-quantitatives exprimées sur une échelle allant de 0 à 4+  
 (ec) = en cours  
 nd = non déterminé

RAPPORT D'ANALYSES

Dossier : 190724 043328 01  
 Bordereau : 1  
 Enregistré le : 24/07/2019  
 Date d'édition : 08/10/2019

Féd. Dép. Pêche DE LA LOIRE  
 6 Allée de L'Europe  
 ZI Le Bas Rollet  
 42480 LA FOUILLOUSE

Propriétaire	
N° client	: 12386
Nom	: Féd. Dép. Pêche DE LA LOIRE
Commune	: 42480 LA FOUILLOUSE

Lieu de prélèvement	
Site	: Ruisseau Le Chantereine
Commune	: 42560 SAINT JEAN SOLEYMIEUX

Préleveur / Vétérinaire	
Nom	: SCARAMUZZI
Commune	:

DATE DE PRELEVEMENT 22/07/2019	DATE DE RECEPTION 24/07/2019	DATE DE DEBUT D'ANALYSE 24/07/2019
Nature du prélèvement : Sujet(s) vivant(s)		Mode d'acheminement : TRANSPORTEUR
Espèce : Ecrevisse p.blanc (Austropotamobius pallipes)		Etat :
Remarque :		Référence du préleveur : devis PA197-00

EXAMEN : Ecrevisses - Autopsie avec recherches complémentaires

Paramètres	Résultats
<b>001 - Austropotamobius pallipes</b>	
<b>Examen clinique et nécropsique</b>	
Informations générales	Un lot de 20 sujets en majorité vivants constitué de 3 femelles et 17 mâles. Mensurations du sujet le plus gros et du sujet le plus petit : Poids : 36g et 6.4g ; Longueur totale : 9cm et 6.5 cm ; Longueur pince : 4.8 cm et 1.7 cm.
Examen externe	Sujets dynamiques. 2 sujets avec une pince manquante ; 3 sujets avec 1 ou 2 taches de rouille sur la face ventrale des pinces.
Examen des organes internes	Organes internes : RAS. Intestins : bonne réplétion.
<b>Parasitologie externe</b>	
Branchies <i>Examen macro et microscopique</i>	ras sur 5 sujet(s)
Carapace <i>Examen macro et microscopique</i>	ras sur 5 sujet(s)
Membrane intersegmentaire <i>Examen microscopique</i>	ras sur 5 sujet(s)
<b>Parasitologie interne</b>	
Membrane sous-cuticulaire <i>Examen microscopique</i>	ras sur 5 sujet(s)

RAPPORT D'ANALYSES

Dossier : 190724 043328 01  
 Bordereau : 1  
 Enregistré le : 24/07/2019  
 Date d'édition : 08/10/2019

Paramètres	Résultats
Muscles <i>Examen macro et microscopique</i>	ras sur 5 sujet(s)
Hémolymphe <i>Examen microscopique</i>	ras sur 5 sujet(s)
Tube digestif <i>Examen macro et microscopique</i>	ras sur 5 sujet(s)
Hépatopancréas <i>Examen macro et microscopique</i>	ras sur 5 sujet(s)
<b>002 - Hépatopancréas</b>	
<b>Bactériologie</b>	
Recherche de germes aérobies <i>Isolement et identification</i>	Chryseobacterium indologenes Serratia liquefaciens
Flavobacterium - Isolement et identification	absence
<b>004 - Branchies</b>	
<b>Bactériologie</b>	
Flavobacterium - Bactérioscopie <i>Coloration de Gram</i>	neg

**Commentaires :**

les analyses bactériologiques et parasitaires n'ont pas permis la mise en évidence d'agents pathogènes (mais la gélose FLP pour recherche de Flavobactéries a été envahie par une bactérie non spécifique, gênant l'isolement)

Date de validation : 27/09/2019  
 Dr Vét. F. BOUHIER-POZET  
 Responsable Santé Animale

parasitologie : analyses semi-quantitatives exprimées sur une échelle allant de 0 à 4+  
 (ec) = en cours  
 nd = non déterminé



RAPPORT D'ANALYSES

Dossier : 190724 043328 02  
Bordereau : 1  
Enregistré le : 31/07/2019  
Date d'édition : 08/10/2019

Propriétaire	
N° client	: 12386
Nom	: Féd. Dép. Pêche DE LA LOIRE
Commune	: 42480 LA FOUILLOUSE

Féd. Dép. Pêche DE LA LOIRE  
6 Allée de L'Europe  
ZI Le Bas Rollet  
42480 LA FOUILLOUSE

Lieu de prélèvement	
Site	: Ruisseau Le Chantereine
Commune	: 42560 SAINT JEAN SOLEYMIEUX

Préleveur / Vétérinaire	
Nom	: SCARAMUZZI
Commune	:

DATE DE PRELEVEMENT 22/07/2019	DATE DE RECEPTION 24/07/2019	DATE DE DEBUT D'ANALYSE 24/07/2019
Nature du prélèvement : Sujet(s) vivant(s)		Mode d'acheminement : TRANSPORTEUR
Espèce : Ecrevisse p.blanc (Austroptamobius pallipes)		Etat :
Remarque :		Référence du préleveur : devis PA197-00

EXAMEN : Ecrevisses - Autopsie avec recherches complémentaires

Paramètres	Résultats
<b>001 - Le Chantereine</b>	
Aphanomyces astaci ADN <i>PCR conv. d'après Oidtmann</i>	1PCR : non détecté
<b>Inventaire/mensurations</b>	
Sujet N°	5 sujets vivants analysés
Sexe	NA
Poids (en g)	6.4 à 36 g

Commentaires :

génomme d'Aphanomyces astaci non détecté dans l'échantillon analysé.

Date de validation : 08/10/2019  
Dr Vét. F. BOUHIER-POZET  
Responsable Santé Animale

parasitologie : analyses semi-quantitatives exprimées sur une échelle allant de 0 à 4+  
(ec) = en cours  
nd = non déterminé



RAPPORT D'ANALYSES

Dossier : 190731 044520 01  
 Bordereau : 1  
 Enregistré le : 31/07/2019  
 Date d'édition : 08/10/2019

Propriétaire	
N° client	: 12386
Nom	: Féd. Dép. Pêche DE LA LOIRE
Commune	: 42480 LA FOUILLOUSE

Féd. Dép. Pêche DE LA LOIRE  
 6 Allée de L'Europe  
 ZI Le Bas Rollet  
 42480 LA FOUILLOUSE

Lieu de prélèvement	
Site	: ruisseau Les Granges
Commune	: 42380 ESTIVAREILLES

Préleveur / Vétérinaire	
Nom	: SCARAMUZZI
Commune	:

DATE DE PRELEVEMENT	30/07/2019	DATE DE RECEPTION	31/07/2019	DATE DE DEBUT D'ANALYSE	31/07/2019
Nature du prélèvement : Sujet(s) vivant(s)			Mode d'acheminement : TRANSPORTEUR		
Espèce : Ecrevisse p.blanc (Austroptamobius pallipes)			Etat : frais		
Remarque :			Référence du préleveur : Devis PA 197-0		

EXAMEN : Ecrevisses - Autopsie avec recherches complémentaires

Paramètres	Résultats
<b>001 - Ruisseau Les Granges</b>	
<b>Examen clinique et nécropsique</b>	
Informations générales	Un lot de 21 sujets vivants constitué de 5 femelles et 16 mâles. Mensurations du sujet le plus gros et du sujet le plus petit : Poids : 30 g et 6.2 g ; Longueur totale : 9,5 cm et 6.4 cm ; Longueur pince : 4.1 cm et 1.8 cm.
Examen externe	Sujets dynamiques. ; 2 mâles avec 1 taches de rouille sur la face ventrale des pinces ; quelques sujets avec 1 appendice manquant ; 3 sujets avec 1 pince plus petite que l'autre ; Branchies : RAS
Examen des organes internes	Organes internes : RAS ; Réplétion modérée des intestins
<b>Parasitologie externe</b>	
Branchies <i>Examen macro et microscopique</i>	ras sur 5 sujet(s)
Carapace <i>Examen macro et microscopique</i>	ras sur 5 sujet(s)
Membrane intersegmentaire <i>Examen microscopique</i>	ras sur 5 sujet(s)
<b>Parasitologie interne</b>	

Dossier : 190731 044520 01  
 Bordereau : 1  
 Enregistré le : 31/07/2019  
 Date d'édition : 08/10/2019

Paramètres	Résultats
Membrane sous-cuticulaire <i>Examen microscopique</i>	ras sur 5 sujet(s)
Muscles <i>Examen macro et microscopique</i>	ras sur 5 sujet(s)
Hémolymphe <i>Examen microscopique</i>	ras sur 5 sujet(s)
Tube digestif <i>Examen macro et microscopique</i>	Nématodes (larves) : 1+ sur 1 sujet(s)
Hépatopancréas <i>Examen macro et microscopique</i>	ras sur 5 sujet(s)
<b>002 - Hémolymphes</b>	
<b>Bactériologie</b>	
Flavobacterium - Isolement et identification	absence
Recherche de germes aérobies <i>Isolement et identification</i>	absence
<b>003 - Branchies</b>	
<b>Bactériologie</b>	
Flavobacterium - Bactérioscopie <i>Coloration de Gram</i>	négatif sur 5 sujet(s)

**Commentaires :**

Les analyses bactériologiques et parasitaires n'ont pas permis la mise en évidence d'agents pathogènes.

Date de validation : 27/09/2019  
 Dr Vét. F. BOUHIER-POZET  
 Responsable Santé Animale

parasitologie : analyses semi-quantitatives exprimées sur une échelle allant de 0 à 4+  
 (ec) = en cours  
 nd = non déterminé



RAPPORT D'ANALYSES

Dossier : 190731 044520 02  
 Bordereau : 1  
 Enregistré le : 31/07/2019  
 Date d'édition : 08/10/2019

Propriétaire	
N° client	: 12386
Nom	: Féd. Dép. Pêche DE LA LOIRE
Commune	: 42480 LA FOUILLOUSE

Féd. Dép. Pêche DE LA LOIRE  
 6 Allée de L'Europe  
 ZI Le Bas Rollet  
 42480 LA FOUILLOUSE

Lieu de prélèvement	
Site	: ruisseau Les Granges
Commune	: 42380 ESTIVAREILLES

Préleveur / Vétérinaire	
Nom	: SCARAMUZZI
Commune	:

DATE DE PRELEVEMENT	30/07/2019	DATE DE RECEPTION	31/07/2019	DATE DE DEBUT D'ANALYSE	21/08/2019
Nature du prélèvement : Sujet(s) vivant(s)			Mode d'acheminement : TRANSPORTEUR		
Espèce : Ecrevisse p.blanc (Austroptamobius pallipes)			Etat :		
Remarque :			Référence du préleveur : Devis PA 197-0		

**EXAMEN :** Ecrevisses - Autopsie avec recherches complémentaires

Paramètres	Résultats
<b>001 - Les Granges</b>	
Aphanomyces astaci ADN <i>PCR conv. d'après Oidtmann</i>	1PCR : non détecté

**Commentaires :**

génomme d'Aphanomyces astaci non détecté dans l'échantillon analysé.

Date de validation : 08/10/2019  
 Dr Vét. F. BOUHIER-POZET  
 Responsable Santé Animale



parasitologie : analyses semi-quantitatives exprimées sur une échelle allant de 0 à 4+  
 (ec) = en cours  
 nd = non déterminé

Le présent rapport ne peut être reproduit que sur autorisation écrite du laboratoire et sous la forme intégrale, signature comprise. Il ne concerne que le(s) produit(s) décrit(s) ci-dessus.

RAPPORT D'ANALYSES

Dossier : 190807 045611 01  
 Bordereau : 1  
 Enregistré le : 07/08/2019  
 Date d'édition : 08/10/2019

Féd. Dép. Pêche DE LA LOIRE  
 6 Allée de L'Europe  
 ZI Le Bas Rollet  
 42480 LA FOUILLOUSE

Propriétaire	
N° client	: 12386
Nom	: Féd. Dép. Pêche DE LA LOIRE
Commune	: 42480 LA FOUILLOUSE

Lieu de prélèvement	
Site	: Ruisseau LaTrézaillette
Commune	: 42600 ESSERTINES EN CHATELNEUF

Préleveur / Vétérinaire	
Nom	: SCARAMUZZI
Commune	:

DATE DE PRELEVEMENT	05/08/2019	DATE DE RECEPTION	07/08/2019	DATE DE DEBUT D'ANALYSE	07/08/2019
Nature du prélèvement : Sujet(s) vivant(s)			Mode d'acheminement : TRANSPORTEUR		
Espèce : Ecrevisse p.blanc (Austropotamobius pallipes)			Etat : frais		
Remarque :			Référence du préleveur : devis PA 197-01		

EXAMEN : Ecrevisses - Autopsie avec recherches complémentaires

Paramètres	Résultats
<b>001 - La Trézaillette</b>	
<b>Inventaire/mesurations</b>	
Sujet N°	20sujets vivants
Sexe	10 femelels et 10 mâles
Poids (en g)	de 6.4 à 26.9 g
Longueur totale (en cm)	de 6 à 9.4 cm
Longueur pince (en cm)	de 2 à 4.2 cm
<b>Examen clinique et nécropsique</b>	
Informations générales	sujets dynamiques
Examen externe	2 mâles avec une tache de rouille sur la face ventrale des pinces ; 2 autres mâles avec une pince plus petite que la deuxième ; 3 sujets avec 1 péréopode manquant ; Branchies : RAS.
Examen des organes internes	RAS

## RAPPORT D'ANALYSES



Dossier : 190807 045611 01  
 Bordereau : 1  
 Enregistré le : 07/08/2019  
 Date d'édition : 08/10/2019

Paramètres	Résultats
<b>Parasitologie externe</b>	
Branchies <i>Examen macro et microscopique</i>	ras sur 5 sujet(s)
Carapace <i>Examen macro et microscopique</i>	ras sur 5 sujet(s)
Membrane intersegmentaire <i>Examen microscopique</i>	ras sur 5 sujet(s)
<b>Parasitologie interne</b>	
Membrane sous-cuticulaire <i>Examen microscopique</i>	ras sur 5 sujet(s)
Muscles <i>Examen macro et microscopique</i>	ras sur 5 sujet(s)
Hémolymphe <i>Examen microscopique</i>	ras sur 5 sujet(s)
Tube digestif <i>Examen macro et microscopique</i>	ras sur 5 sujet(s)
Hépatopancréas <i>Examen macro et microscopique</i>	ras sur 5 sujet(s)
<b>Bactériologie</b>	
Flavobacterium - Bactérioscopie <i>Coloration de Gram</i>	négatif sur 5 sujet(s)
<b>002 - hémolymphe</b>	
<b>Bactériologie</b>	
Flavobacterium - Isolement et identification	absence
Recherche de germes aérobies <i>Isolement et identification</i>	Erwinia billingiae

**Commentaires :**

les analyses bactériologiques et parasitaires n'ont pas permis la mise en évidence d'agents pathogènes.

Date de validation : 27/09/2019  
 Dr Vét. F. BOUHIER-POZET  
 Responsable Santé Animale

parasitologie : analyses semi-quantitatives exprimées sur une échelle allant de 0 à 4+  
 (ec) = en cours  
 nd = non déterminé

Le présent rapport ne peut être reproduit que sur autorisation écrite du laboratoire et sous la forme intégrale, signature comprise. Il ne concerne que le(s) produit(s) décrit(s) ci-dessus.

RAPPORT D'ANALYSES

Dossier : 190807 045611 02  
Bordereau : 1  
Enregistré le : 07/08/2019  
Date d'édition : 08/10/2019

Féd. Dép. Pêche DE LA LOIRE  
6 Allée de L'Europe  
ZI Le Bas Rollet  
42480 LA FOUILLOUSE

Propriétaire	
N° client	: 12386
Nom	: Féd. Dép. Pêche DE LA LOIRE
Commune	: 42480 LA FOUILLOUSE

Lieu de prélèvement	
Site	: Ruisseau LaTrézaillette
Commune	: 42600 ESSERTINES EN CHATELNEUF

Préleveur / Vétérinaire	
Nom	: SCARAMUZZI
Commune	:

DATE DE PRELEVEMENT	05/08/2019	DATE DE RECEPTION	07/08/2019	DATE DE DEBUT D'ANALYSE	21/08/2019
Nature du prélèvement : Sujet(s) vivant(s)			Mode d'acheminement : TRANSPORTEUR		
Espèce : Ecrevisse p.blanc (Austropotamobius pallipes)			Etat :		
Remarque :			Référence du préleveur : devis PA 197-01		

EXAMEN : Ecrevisses - Autopsie avec recherches complémentaires

Paramètres	Résultats
<b>001 - La Trézaillette</b>	
Aphanomyces astaci ADN <i>PCR conv. d'après Oidtmann</i>	1PCR : non détecté

Commentaires :

échantillon envoyé à la faculté de Poitiers pour analyses complémentaire par une autre méthode PCR len temps réel e 03/09/2019, car bande d'amplification de faible intensité et étalée.  
Réponse donnée par mail le 07/10/19 : ADN non détecté.  
Conclusion : génome d'Aphanomyces astaci non détecté dans l'échantillon analysé.

Date de validation : 08/10/2019  
Dr Vét. F. BOUHIER-POZET  
Responsable Santé Animale



parasitologie : analyses semi-quantitatives exprimées sur une échelle allant de 0 à 4+  
(ec) = en cours  
nd = non déterminé

Le présent rapport ne peut être reproduit que sur autorisation écrite du laboratoire et sous la forme intégrale, signature comprise. Il ne concerne que le(s) produit(s) décrit(s) ci-dessus.

RAPPORT D'ANALYSES

Dossier : 190808 046044 01  
 Bordereau : 1  
 Enregistré le : 08/08/2019  
 Date d'édition : 08/10/2019

Propriétaire	
N° client	: 12386
Nom	: Féd. Dép. Pêche DE LA LOIRE
Commune	: 42480 LA FOUILLOUSE

Féd. Dép. Pêche DE LA LOIRE  
 6 Allée de L'Europe  
 ZI Le Bas Rollet  
 42480 LA FOUILLOUSE

Lieu de prélèvement	
Site	: Bouchat
Commune	: 42600 BARD

Préleveur / Vétérinaire	
Nom	: SCARAMUZZI
Commune	:

DATE DE PRELEVEMENT	DATE DE RECEPTION	DATE DE DEBUT D'ANALYSE
05/08/2019	08/08/2019	08/08/2019
Nature du prélèvement : Cadavre(s)		Mode d'acheminement : TRANSPORTEUR
Espèce : Ecrevisse p.blanc (Austropotamobius pallipes)		Etat : fixés dans éthanol
Remarque :		Référence du préleveur : devis PA 197-00

**EXAMEN :** Ecrevisses - Autopsie avec recherches complémentaires

Paramètres	Résultats
<b>001</b>	
Aphanomyces astaci ADN <i>PCR conv. d'après Oidtmann</i>	4 PCR : non détecté
<b>Inventaire/mensurations</b>	
Longueur totale (en cm)	4 lots : L1:8.1 cm 29 g L2 :5.9 cm 7.3 g L3 et L4 : 6.7 cm 14.3 g
Longueur pince (en cm)	NA
<b>Examen clinique et nécropsique</b>	
Informations générales	19 sujets -perte d'une pince sur 1 sujet

**Commentaires :**

Conclusion : absence de détection du génôme d'Aphanomyces astaci dans l'échantillon analysé

Date de validation : 27/09/2019  
 Dr Vét. F. BOUHIER-POZET  
 Responsable Santé Animale



parasitologie : analyses semi-quantitatives exprimées sur une échelle allant de 0 à 4+  
 (ec) = en cours  
 nd = non déterminé

## RAPPORT D'ANALYSES



Dossier : 190808 046044 02  
 Bordereau : 1  
 Enregistré le : 08/08/2019  
 Date d'édition : 08/10/2019

Propriétaire	
N° client	: 12386
Nom	: Féd. Dép. Pêche DE LA LOIRE
Commune	: 42480 LA FOUILLOUSE

Féd. Dép. Pêche DE LA LOIRE  
 6 Allée de L'Europe  
 ZI Le Bas Rollet  
 42480 LA FOUILLOUSE

Lieu de prélèvement	
Site	: Fridière
Commune	: 42560 CHAZELLES SUR LAVIEU

Préleveur / Vétérinaire	
Nom	: SCARAMUZZI
Commune	:

DATE DE PRELEVEMENT	DATE DE RECEPTION	DATE DE DEBUT D'ANALYSE
22/07/2019	08/08/2019	08/08/2019
Nature du prélèvement : Cadavre(s)		Mode d'acheminement : TRANSPORTEUR
Espèce : Ecrevisse p.blanc (Austropotamobius pallipes)		Etat : fixés dans éthanol
Remarque :		Référence du préleveur : devis PA 197-01

**EXAMEN :** Ecrevisses - Autopsie avec recherches complémentaires

Paramètres	Résultats
<b>001</b>	
Aphanomyces astaci ADN <i>PCR conv. d'après Oidtmann</i>	4 PCR : non détecté
<b>Inventaire/mensurations</b>	
Longueur totale (en cm)	4 Lots : L1: 4.8 cm -2.9 g L2: 7.8 cm- 22.3 g L3 et L4: 6.1 cm et 9 g
<b>Examen clinique et nécropsique</b>	
Informations générales	20 sujets dans l'alcool : perte d'uen pince sur 4 sujets- un sujet muscle + clair (pas de Thelohaniose observé à l'état frais)

**Commentaires :**

Absence de détection du génôme d'Aphanomyces astaci dans l'échantillon analysé.

Date de validation : 27/09/2019  
 Dr Vét. F. BOUHIER-POZET  
 Responsable Santé Animale

parasitologie : analyses semi-quantitatives exprimées sur une échelle allant de 0 à 4+  
 (ec) = en cours  
 nd = non déterminé

RAPPORT D'ANALYSES

Dossier : 190808 046044 03  
Bordereau : 1  
Enregistré le : 08/08/2019  
Date d'édition : 08/10/2019

Propriétaire	
N° client :	12386
Nom :	Féd. Dép. Pêche DE LA LOIRE
Commune :	42480 LA FOUILLOUSE

Lieu de prélèvement	
Site :	Tavel
Commune :	42111 LA VALLA SUR ROCHEFORT

Préleveur / Vétérinaire	
Nom :	SCARAMUZZI
Commune :	

Féd. Dép. Pêche DE LA LOIRE  
6 Allée de L'Europe  
ZI Le Bas Rollet  
42480 LA FOUILLOUSE

DATE DE PRELEVEMENT 15/07/2019	DATE DE RECEPTION 08/08/2019	DATE DE DEBUT D'ANALYSE 08/08/2019
Nature du prélèvement : Cadavre(s)		Mode d'acheminement : TRANSPORTEUR
Espèce : Ecrevisse p.blanc (Austropotamobius pallipes)		Etat : fixés dans éthanol
Remarque :		Référence du préleveur : devis PA 197-01

EXAMEN : Ecrevisses - Autopsie avec recherches complémentaires

Paramètres	Résultats
<b>001</b>	
Aphanomyces astaci ADN <i>PCR conv. d'après Oidtmann</i>	4 PCR : non détecté
<b>Inventaire/mensurations</b>	
Longueur totale (en cm)	4 Lots : L1 et L2 : 7.1 cm 6.9 g L3 et L4 : 8.1 cm 24.5 g
Longueur pince (en cm)	NA
<b>Examen clinique et nécropsique</b>	
Informations générales	3 sujets avec perte de pince

Commentaires :

Absence de génôme d'Aphanomyces astaci sur l'échantillon analysé.

Date de validation : 27/09/2019  
Dr Vét. F. BOUHIER-POZET  
Responsable Santé Animale



parasitologie : analyses semi-quantitatives exprimées sur une échelle allant de 0 à 4+  
(ec) = en cours  
nd = non déterminé

RAPPORT D'ANALYSES

Dossier : 190808 046044 04  
 Bordereau : 1  
 Enregistré le : 08/08/2019  
 Date d'édition : 08/10/2019

Propriétaire	
N° client	: 12386
Nom	: Féd. Dép. Pêche DE LA LOIRE
Commune	: 42480 LA FOUILLOUSE

Féd. Dép. Pêche DE LA LOIRE  
 6 Allée de L'Europe  
 ZI Lé Bas Rollet  
 42480 LA FOUILLOUSE

Lieu de prélèvement	
Site	: Fontbonne
Commune	: 42780 VIOLAY

Préleveur / Vétérinaire	
Nom	: SCARAMUZZI
Commune	:

DATE DE PRELEVEMENT	DATE DE RECEPTION	DATE DE DEBUT D'ANALYSE
23/07/2019	08/08/2019	08/08/2019
Nature du prélèvement : Cadavre(s)		Mode d'acheminement : TRANSPORTEUR
Espèce : Ecrevisse p.blanc (Austropotamobius pallipes)		Etat : fixés dans éthanol
Remarque :		Référence du préleveur : devis PA 197-00

EXAMEN : Ecrevisses - Autopsie avec recherches complémentaires

Paramètres	Résultats
<b>001</b>	
Aphanomyces astaci ADN <i>PCR conv. d'après Oidtmann</i>	4 PCR : non détecté
<b>Inventaire/mensurations</b>	
Longueur totale (en cm)	4 LOTS : L1 : 5.8 cm 13.5 g L2 : 6cm 7.2 g L3 : 8.1 cm 17.8 g et L4 : 8.7 cm 23 g
Longueur pince (en cm)	NA
<b>Examen clinique et nécropsique</b>	
Informations générales	5 sujets avec perte de pince

Commentaires :

Absence de détection du génome d'Aphanomyces astaci sur 3 lots, et sur le 4ème : amplification douteuse (amplicon de faible intensité et étalé) échantillon envoyé à la Faculté de Poitiers pour analyse complémentaire par une autre technique PCR en temps réel le 03/09/19: résultat rendu le 07/10/19 : ADN non détecté.

Conclusion : génome d'Aphanomyces astaci non détecté dans l'échantillon analysé par 4 PCR.

Date de validation : 08/10/2019  
 Dr Vét. F. BOUHIER-POZET  
 Responsable Santé Animale



parasitologie : analyses semi-quantitatives exprimées sur une échelle allant de 0 à 4+  
 (ec) = en cours  
 nd = non déterminé

## RAPPORT D'ANALYSES

Dossier : 190808 046044 05  
Bordereau : 1  
Enregistré le : 08/08/2019  
Date d'édition : 08/10/2019

Propriétaire	
N° client	: 12386
Nom	: Féd. Dép. Pêche DE LA LOIRE
Commune	: 42480 LA FOUILLOUSE

Féd. Dép. Pêche DE LA LOIRE  
6 Allée de L'Europe  
ZI Le Bas Rollet  
42480 LA FOUILLOUSE

Lieu de prélèvement	
Site	: Curraize
Commune	: 42560 CHAZELLES SUR LAVIEU

Préleveur / Vétérinaire	
Nom	: SCARAMUZZI
Commune	:

DATE DE PRELEVEMENT	23/07/2019	DATE DE RECEPTION	08/08/2019	DATE DE DEBUT D'ANALYSE	08/08/2019
Nature du prélèvement :	Cadavre(s)		Mode d'acheminement : TRANSPORTEUR		
Espèce :	Ecrevisse p.blanc (Austroptamobius pallipes)		Etat : fixés dans éthanol		
Remarque :	Référence du préleveur : devis PA 197-00				

**EXAMEN :** Ecrevisses - Autopsie avec recherches complémentaires

Paramètres	Résultats
<b>001 - CURRAIZE</b>	
Aphanomyces astaci ADN <i>PCR conv. d'après Oidtmann</i>	1 PCR : non détecté
<b>Inventaire/mensurations</b>	
Longueur totale (en cm)	1 LOT : 8.2 cm
Poids (en g)	1 Lot : 18.7 g
<b>Examen clinique et nécropsique</b>	
Informations générales	perte de la pince sur 2 sujets

**Commentaires :**

Absence de détection du génôme d'Aphanomyces astaci sur l'échantillon analysé.

Date de validation : 27/09/2019  
Dr Vét. F. BOUHIER-POZET  
Responsable Santé Animale



parasitologie : analyses semi-quantitatives exprimées sur une échelle allant de 0 à 4+  
(ec) = en cours  
nd = non déterminé

## RAPPORT D'ANALYSES

Dossier : 190808 046044 05  
Bordereau : 1  
Enregistré le : 08/08/2019  
Date d'édition : 08/10/2019

Propriétaire	
N° client	: 12386
Nom	: Féd. Dép. Pêche DE LA LOIRE
Commune	: 42480 LA FOUILLOUSE

Lieu de prélèvement	
Site	: Curraize
Commune	: 42560 CHAZELLES SUR LAVIEU

Préleveur / Vétérinaire	
Nom	: SCARAMUZZI
Commune	:

DATE DE PRELEVEMENT	DATE DE RECEPTION	DATE DE DEBUT D'ANALYSE
23/07/2019	08/08/2019	08/08/2019
Nature du prélèvement : Cadavre(s)		Mode d'acheminement : TRANSPORTEUR
Espèce : Ecrevisse p.blanc (Austropotamobius pallipes)		Etat : fixés dans éthanol
Remarque :		Référence du préleveur : devis PA 197-01

**EXAMEN :** Ecrevisses - Autopsie avec recherches complémentaires

Paramètres	Résultats
<b>001 - CURRAIZE</b>	
Aphanomyces astaci ADN <i>PCR conv. d'après Oidtmann</i>	1 PCR : non détecté
<b>Inventaire/mensurations</b>	
Longueur totale (en cm)	1 LOT : 8.2 cm
Poids (en g)	1 Lot : 18.7 g
<b>Examen clinique et nécropsique</b>	
Informations générales	perte de la pince sur 2 sujets

**Commentaires :**

Absence de détection du génôme d'Aphanomyces astaci sur l'échantillon analysé.

Date de validation : 27/09/2019  
Dr Vét. F. BOUHIER-POZET  
Responsable Santé Animale

parasitologie : analyses semi-quantitatives exprimées sur une échelle allant de 0 à 4+  
(ec) = en cours  
nd = non déterminé



Le présent rapport ne peut être reproduit que sur autorisation écrite du laboratoire et sous la forme intégrale, signature comprise. Il ne concerne que le(s) produit(s) décrit(s) ci-dessus.

RAPPORT D'ANALYSES

Dossier : 190808 046044 06  
Bordereau : 1  
Enregistré le : 08/08/2019  
Date d'édition : 08/10/2019

Propriétaire	
N° client	: 12386
Nom	: Féd. Dép. Pêche DE LA LOIRE
Commune	: 42480 LA FOUILLOUSE

Féd. Dép. Pêche DE LA LOIRE  
6 Allée de L'Europe  
ZI Le Bas Rollet  
42480 LA FOUILLOUSE

Lieu de prélèvement	
Site	: La Mornante
Commune	: 42740 LA TERRASSE SUR DORLAY

Préleveur / Vétérinaire	
Nom	: SCARAMUZZI
Commune	:

DATE DE PRELEVEMENT	16/07/2019	DATE DE RECEPTION	08/08/2019	DATE DE DEBUT D'ANALYSE	08/08/2019
Nature du prélèvement :	Cadavre(s)			Mode d'acheminement :	TRANSPORTEUR
Espèce :	Ecrevisse p.blanc (Austropotamobius pallipes)			Etat :	fixés dans éthanol
Remarque :					Référence du préleveur : devis PA 197-0

EXAMEN : Ecrevisses - Autopsie avec recherches complémentaires

Paramètres	Résultats
<b>001 - MORNANTE</b>	
Aphanomyces astaci ADN <i>PCR conv. d'après Oidtmann</i>	1 PCR : non détecté
<b>Inventaire/mensurations</b>	
Longueur totale (en cm)	5 petits :5.9 cm -1 gros :7.4 cm
Poids (en g)	5 petits :8.3 g 1 gros :17.3 g
<b>Examen clinique et nécropsique</b>	
Informations générales	perte de pince sur deux sujets

Commentaires :

génomme d'Aphanomyces astaci non détecté dans l'échantillon analysé.

Date de validation :08/10/2019  
Dr Vét. F. BOUHIER-POZET  
Responsable Santé Animale

parasitologie : analyses semi-quantitatives exprimées sur une échelle allant de 0 à 4+  
(ec) = en cours  
nd = non déterminé



RAPPORT D'ANALYSES

Dossier : 190911 053533 01  
Bordereau : 1  
Enregistré le : 11/09/2019  
Date d'édition : 08/10/2019

Propriétaire	
N° client	: 12386
Nom	: Féd. Dép. Pêche DE LA LOIRE
Commune	: 42480 LA FOUILLOUSE

Féd. Dép. Pêche DE LA LOIRE  
6 Allée de L'Europe  
ZI Le Bas Rollet  
42480 LA FOUILLOUSE

Lieu de prélèvement	
Site	: Isable
Commune	: 42480 LA FOUILLOUSE

Préleveur / Vétérinaire	
Nom	: SCARAMUZZI
Commune	:

DATE DE PRELEVEMENT	DATE DE RECEPTION	DATE DE DEBUT D'ANALYSE
10/09/2019	11/09/2019	13/09/2019
Nature du prélèvement : Cadavre(s)		Mode d'acheminement : TRANSPORTEUR
Espèce : Ecrevisse p.blanc (Austroptamobius pallipes)		Etat : fixés dans éthanol
Remarque :		Référence du préleveur : devis PA 197 -0

EXAMEN : Ecrevisses - Autopsie avec recherches complémentaires

Paramètres	Résultats
<b>001 - ISABLE</b>	
Aphanomyces astaci ADN <i>PCR conv. d'après Oidtmann</i>	1 PCR : détecté
Examen clinique et nécropsique	
Informations générales	1 lot de 6 sujets

Commentaires :

Présence de fragments d'ADN d'Aphanomyces astaci, agent de la peste de l'écrevisse, dans l'échantillon analysé.

Date de validation : 27/09/2019  
Dr Vét. F. BOUHIER-POZET  
Responsable Santé Animale

parasitologie : analyses semi-quantitatives exprimées sur une échelle allant de 0 à 4+  
(ec) = en cours  
nd = non déterminé



Le présent rapport ne peut être reproduit que sur autorisation écrite du laboratoire et sous la forme intégrale, signature comprise. Il ne concerne que le(s) produit(s) décrit(s) ci-dessus.