

## 4. PROTOCOLE POUR DÉTERMINER L'INFESTATION PAR *ANGUILICOLA CRASSUS* ET L'INDICE DE DÉGÉNÉRESCENCE DE LA VESSIE GAZEUSE (SDI)

1. Essayez de ne pas ouvrir ou percer la vessie gazeuse lorsque vous l'extrayez de l'anguille ;
2. La vessie gazeuse est composée de 2 couches (comme deux chaussettes enfilées l'une sur l'autre) et nous devons considérer les deux ensembles ;
3. Placez la vessie gazeuse dans une **boîte de Petri** contenant une solution saline (8g / L) ;
4. Observez d'abord la vessie gazeuse sans l'ouvrir pour vous faire une idée de la transparence-opacité (information utile pour la détermination ultérieure de SDI) ;
5. Ouvrez la vessie gazeuse selon son axe longitudinal avec de petits **ciseaux** (le plus précautionneusement et superficiellement possible pour ne pas endommager les parasites qui se trouveraient dans la lumière de la vessie), d'une extrémité à l'autre (soyez prudent, quelques petits parasites peuvent se cacher au niveau des 2 extrémités de la vessie). Fendez également le canal situé entre les deux glandes à gaz (des larves peuvent s'y cacher) ;
6. Lorsque vous ouvrez la vessie gazeuse, vérifiez la présence potentielle d'exsudat qui s'en écoulerait (les morceaux de vers morts, les érythrocytes, le tissu de la vessie gazeuse en décomposition, les œufs et larves L2 de *A. crassus* doivent être considérés comme de l'exsudat) ;
7. Pour déterminer l'indice de dégénérescence de la vessie gazeuse (SDI) l'utilisation d'une **loupe binoculaire** et d'un pied à coulisse est nécessaire.

### 4.1. Déterminer le taux individuel d'infestation par *Anguillicola crassus*

Pour cela il y a deux options :

- 1) la première est l'option la plus simple et la moins longue : collectez simplement les parasites et comptez-les (mais sans observation à la loupe binoculaire vous risquez de ne pas prendre en compte tous les petits individus (les larves par exemple), et donc de sous-estimer le taux d'infestation.
- 2) la seconde est un peu plus difficile et plus longue mais elle est bien meilleure pour identifier l'impact possible d'*A. crassus* : identifiez et dénombrez tous les stades de développement des individus parasites observés et déterminer le sexe des adultes si possible sous loupe binoculaire. Attention ! pour ne pas manquer les larves qui se trouveraient dans la paroi, il est nécessaire d'étirer la paroi de la vessie gazeuse et de faire les observations à la loupe binoculaire avec un éclairage diascopique assez fort.

### Infestation par *Anguillicola crassus*

- 1) Collecte et dénombrement des parasites sans utiliser une loupe binoculaire (sous-estimation de l'infestation).



2) Collecte et dénombrement des parasites sous loupe binoculaire (mesure précise de l'infestation car prend en compte tous les stades de développement du parasite).



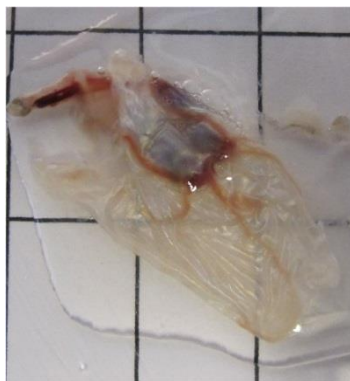
#### 4.2. Déterminer l'indice de dégénérescence de la vessie gazeuse (SDI) (modifié selon Lefebvre *et al.* 2002)

Basé sur 3 critères, chacun étant codé 0, 1 ou 2 (selon le niveau de dégradation).

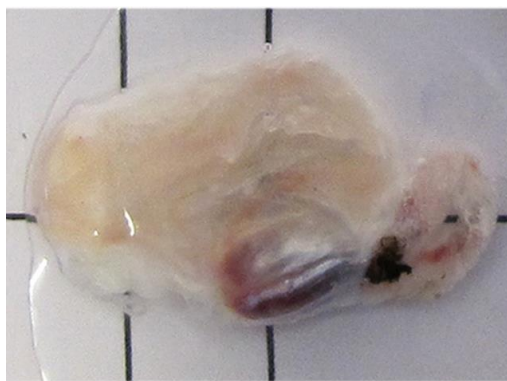
##### 1) Transparence-opacité de la paroi de la vessie gazeuse.

Munissez-vous d'une feuille de papier avec un quadrillage (lignes en gras) imprimé dessus. Etalez la vessie gazeuse (sans l'étirer) dans une boîte de Pétri et, après avoir posé la boîte de Pétri sur la feuille de papier, déplacez la sur cette feuille, et si :

- Vous pouvez voir les lignes à l'œil nu au travers de la paroi de la vessie gazeuse en lumière naturelle (lumière du jour) : note 0
- Si vous ne voyez rien à l'œil nu avec l'éclairage diascopique (lumière artificielle) de la loupe binoculaire (la feuille de papier quadrillée et la boîte de Pétri sont placées l'une sur l'autre sur la platine de la loupe mais l'observation se fait à l'œil nu) : note 2
- Si vous ne voyez rien à l'œil nu avec la lumière du jour mais si vous pouvez voir les lignes du quadrillage avec l'éclairage diascopique (lumière artificielle) de la loupe binoculaire : note 1



Lignes clairement visibles  
*Lumière du jour*  
**NOTE 0**



Lignes difficilement visibles  
*Lumière artificielle*  
**NOTE 1**



Lignes non visibles  
*Lumière artificielle*  
**NOTE 2**

## 2) Présence de pigmentation et/ou exsudat

Les morceaux de vers morts, les érythrocytes, le tissu de la vessie gazeuse en décomposition, les œufs et larves L2 de *A. crassus* doivent être considérés comme de l'exsudat.

La pigmentation qui suit les vaisseaux sanguins et/ou le canal pneumatique n'est pas considérée comme une pigmentation (les points de pigmentation forment comme une sorte de ligne rectiligne en pointillés, comme une route -----).

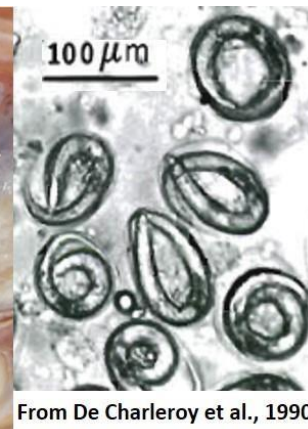
- Lorsque la vessie gazeuse est congelée, il arrive que de petits morceaux issus de la paroi interne de la vessie se détachent (desquamation) et passent dans la lumière. Ceci ne doit pas être considéré comme de l'exsudat.
- S'il n'y a ni pigmentation (faces externe et interne de la paroi de la vessie) ni exsudat : note 0
- S'il n'y a que de la pigmentation (faces externe et/ou interne de la paroi de la vessie) ou que de l'exsudat : note 1
- S'il y a pigmentation (faces externe et/ou interne de la paroi de la vessie) et exsudat : note 2



Pigmentation (externe ou interne)  
**NOTE 1**



Exsudat uniquement (L2 dans les œufs dans l'image de droite)  
**NOTE 1**



NOTE 0	Pas de pigmentation ET pas d'exsudat
NOTE 1	Pigmentation OU exsudat
NOTE 2	Pigmentation ET exsudat

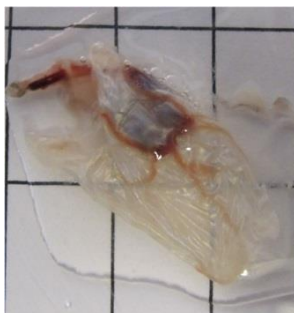
### 3) Épaisseur de la paroi de la vessie gazeuse.

Pour mesurer l'épaisseur de la paroi de la vessie gazeuse utiliser un pied à coulisse (électronique de préférence).

Veillez à ne pas trop écraser la paroi de la vessie gazeuse. Elle doit être pincée juste assez pour que la vessie gazeuse, maintenue entre les deux mors du pied à coulisse, ne tombe pas lorsqu'elle est en position verticale.

Si la vessie gazeuse présente des épaisseurs différentes en divers endroits, prenez plusieurs mesures de l'épaisseur en différents endroits et notez la moyenne.

- Note 0 : <1mm
- Note 1 :  $\geq 1\text{mm}$  et  $\leq 3\text{mm}$
- Note 2 : > 3mm



Moins de 1 mm  
**NOTE 0**



Entre 1 et 3 mm  
**NOTE 1**



Plus de 3 mm  
**NOTE 2**

Si les analyses ne sont pas réalisées sur du matériel frais, les vessies gazeuses doivent être prélevées et conservées à -20°C. Pour ce faire, chaque vessie gazeuse doit être stockée dans un petit contenant (la taille du contenant doit être adaptée à la taille de la vessie) et correctement codées pour pouvoir identifier l'anguille.

### Références

Lefebvre F., P. Contournet and A.J. Crivelli. 2002. The health state of the eel swimbladder as a measure of parasite pressure by *Anguillicola crassus*. *Parasitology*, 124: 457-463.

[illegible]