



**FISH
PASS**



SCIMABIO *Interface*
science-management interface for biodiversity conservation

Pôle commun ADNe indicateurs de fonctionnalité écologique



Recherche du parasite *Tetracapsuloides bryosalmonae* et de son hôte principal le bryozoaire *Fredericella sultana* par détection d'ADN environnemental sur l'Authie

Analyses sur extraits ADN de 2023



Pôle thématique ADNe SCIMABIO-Interface/Fish-Pass
Valentin Vasselon (SCIMABIO-Interface)

Novembre 2025



Les cyclades B
5, rue des Quatre Vents
74200 Thonon-les-Bains
www.scimabio-interface.fr



INGÉNIERIE DES MILIEUX AQUATIQUES
Aquatic environment engineering
18 rue de la Plaine - ZA des 3 prés - 35890 LAILLÉ - France
Tél. 33 (0)2 99 77 32 11
Fax. 33 (0)2 99 77 31 96
www.fish-pass.fr



Rédaction et relecture du rapport :

Eloïse Duval (FishPass) et Valentin Vasselon (SCIMABIO-Interface)

Maître d'ouvrage de l'étude :

Fédération du Pas-de-Calais pour la Pêche et la Protection du Milieu Aquatique (FDAAPPMA62)

Dossier suivi par :

Benoît Rigault

Sommaire

1	<i>Contexte et objectifs de l'étude</i>	3
2	<i>Matériel et méthodes</i>	4
2.1	L'ADN environnemental	4
2.1.1	Principe général de la dPCR	5
2.1.2	Stratégie et protocole d'échantillonnage	5
3	<i>Suivi spécifique par ddPCR</i>	6
4	<i>Résultats et interprétation</i>	7
4.1.1	Validation des données	7
4.1.2	Résultats de détection par ddPCR	8
5	<i>Conclusion et Perspectives</i>	9
6	<i>Bibliographie</i>	10



**FISH
PASS**



SCIMABIO *Interface*
science-management interface for biodiversity conservation

1 Contexte et objectifs de l'étude

La maladie rénale proliférative, MRP ou PKD pour proliferative kidney disease en anglais est une maladie infectieuse émergente causée par le parasite myxozoaire *Tetracapsuloides bryosalmonae*. Au cours des dernières décennies, de plus en plus d'épidémies de MRP ont été reportées au sein de populations de salmonidés d'Europe et d'Amérique du Nord (Hedrick et al., 1993; Sudhagar et al., 2020). Cette maladie est en effet responsable de pertes importantes en aquaculture et de déclins inquiétants des populations de salmonidés sauvages, avec jusqu'à 95 % de mortalité signalée dans les fermes piscicoles (Okamura et al., 2011). En outre, plusieurs études ont montré que le déclin de la truite fario (*Salmo trutta*) dans les rivières suisses était lié au développement de la MRP (Burkhardt-Holm & Scheurer, 2007; Wahli et al., 2007).

Ce parasite a un cycle de vie complexe et alterne entre deux hôtes : un poisson salmonidé et un bryozoaire, plus particulièrement de l'espèce *Fredericella sultana* (Tops & Okamura, 2005). L'infection chez les poissons peut rester bénigne, mais certains individus développent des symptômes de la maladie, particulièrement lorsque la température de l'eau dépasse les 15°C de façon prolongée, qui peuvent aller de la perte d'efficacité liés à des troubles d'acquisition de l'oxygène, pouvant mener dans les cas les plus sévères à une mort par asphyxie (Hedrick et al., 1993; Okamura et al., 2011; Bruneaux et al., 2017). Les jeunes de l'année sont les plus sensibles au développement de la MRP, et les poissons survivant leur première infection semblent développer une immunité car ils ne redéveloppent pas les symptômes lors d'infections ultérieures (Foott & Hedrick, 1987; Feist & Longshaw, 2006).

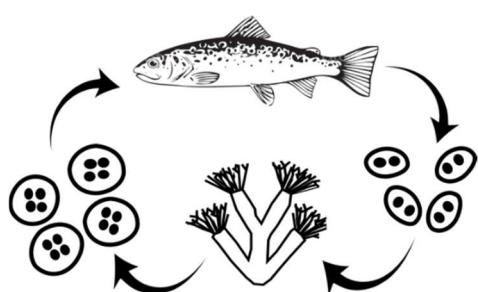


Figure 1 : Cycle parasitaire de *T. bryosalmonae*. Les spores infectieuses pour les poissons sont émises par les bryozoaires infectés lorsque la température de l'eau atteint 9°C (Gay et al., 2001). Les spores entrent dans leur hôte poisson par la peau et les branchies, circulent dans le sang jusqu'à atteindre les reins. Après multiplication, les spores sont excrétées par les truites infectées et vont pouvoir infecter de nouvelles colonies de bryozoaires (Okamura et al., 2011).

En France, la distribution du parasite et le statut d'infection des populations de salmonidés sauvages restent encore largement méconnus. Le parasite, de par sa taille microscopique et son hôte bryozoaire, de par sa distribution sporadique dans les cours d'eau sont difficilement détectables dans leur environnement. Des outils de détection du parasite et de son hôte bryozoaire par détection d'ADN environnemental ont été développés et utilisés pour cartographier leur présence et estimer leur abondance relative dans les cours d'eau (Fontes et al., 2017; Carraro et al., 2018; Duval, 2022). La présente étude vise à cartographier la présence de ces deux espèces sur le bassin de l'Authie dans le Pas-de-Calais suite à la baisse de recrutement constatée chez les populations de truite fario de la zone d'étude, en utilisant la méthode ADNe. De plus, en 2024, la FD62 avait découvert une colonie de bryozoaires *F. sultana* au niveau de la station de vidéo-comptage de la commune de Douriez, qui s'est avérée infectée par le parasite. Ce bassin avait été échantillonné par ADNe pour la détection des taxons de poissons et de l'écrevisse à pattes blanches en Juin 2023, la présente étude réutilise les extraits ADNs obtenus en 2023 pour la recherche de *T. bryosalmonae* et *F. sultana*.

2 Matériel et méthodes

2.1 L'ADN environnemental

L'ADN environnemental (ADNe) peut être défini comme l'ADN total pouvant être extrait à partir d'un échantillon environnemental (eau, biofilm, sol, air...) sans avoir à isoler au préalable les individus qui vivent dans le milieu (Taberlet et al., 2012). Pour les milieux aquatiques, comme les lacs et les rivières, l'ADNe extrait à partir d'un échantillon d'eau intègre à la fois l'ADN des microorganismes vivant dans l'eau (bactéries, microalgues, champignons...), mais aussi l'ADN libéré par les macroorganismes au contact du milieu sous différentes formes (Figure 2; Pawlowski et al., 2020). En fonction des matrices environnementales échantillonnées (eau, biofilm, sédiment) et des techniques déployées en laboratoire, il est possible de réaliser des inventaires de diversité ou le suivi d'espèces d'intérêt grâce à l'ADN des individus retrouvé dans l'environnement.

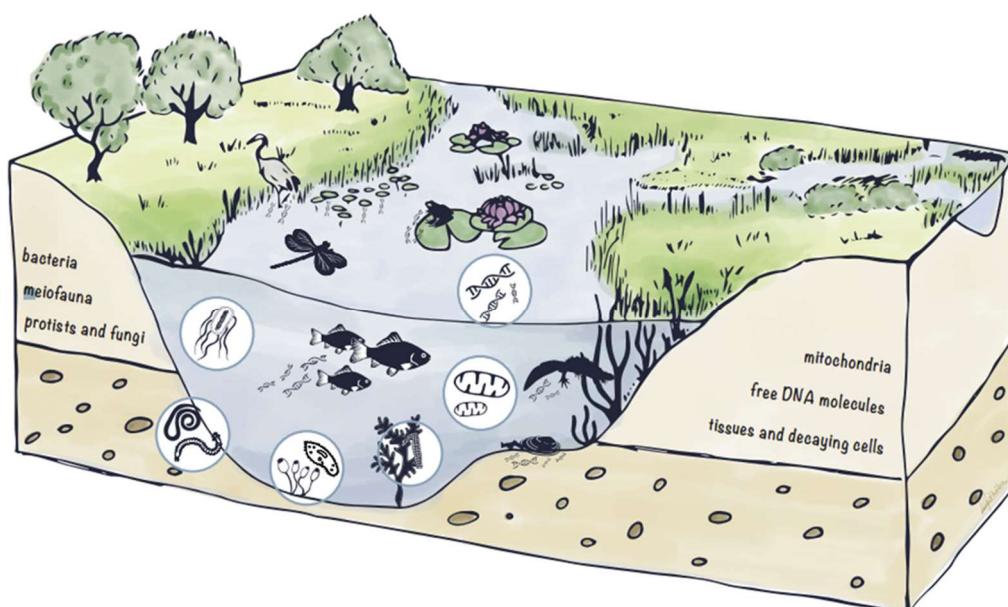


Figure 2 : Origine et forme de l'ADN environnemental dans les milieux aquatiques (Pawlowski et al., 2020)

Dans le cadre de cette étude, le signal ADNe que nous pouvons détecter peut provenir directement de spores de *T. bryosalmonae* émises par les poissons infectés via l'urine, par les cellules de bryozoaires porteuses du parasite ou directement par l'intermédiaire de l'ADN des spores présentes dans l'eau. Il est également possible de détecter de l'ADN libre (extracellulaire) provenant de spores dégradées. Pour ce qui est des bryozoaires et de *F. sultana*, le signal ADN détectable peut provenir de cellules ou fragments de colonies emportés par le courant, mais aussi de statoblastes, spores permettant une reproduction asexuée émises par les colonies sénescentes (Hartikainen et al., 2009, 2013; Hartikainen & Okamura, 2015).

En prélevant et en filtrant de l'eau de la rivière, il est possible d'extraire et d'analyser cet ADNe pour détecter et dans une certaine mesure quantifier la présence d'une ou plusieurs espèces cibles comme *T. bryosalmonae* et *F. sultana*.

2.1.1 Principe général de la dPCR

Afin de maximiser les chances de détecter les signaux ADNe potentiellement relargués par *T. bryosalmonae* et *F. sultana* dans des échantillons environnementaux, potentiellement présents en très faible quantité (taille de l'espèce, distribution sporadique, dilution rapide du signal dans l'eau), l'approche de détection ciblée d'ADN par dPCR (Digital PCR) a été privilégiée.

La dPCR est une technique de biologie moléculaire qui permet de cibler et d'amplifier une région génétique propre à une espèce via l'utilisation d'amorces et de sondes génétiques fluorescentes spécifiques (Doi et al., 2015; Figure 3). A partir d'un échantillon d'ADNe, il est donc possible de détecter et de quantifier par fluorescence le nombre de copies du gène spécifique à l'espèce ciblée. Les nouvelles technologies de dPCR comme la ddPCR QX600 (Droplet Digital PCR, Biorad) offrent même la possibilité de co-détruire en une seule analyse jusqu'à 6 signaux de fluorescence dans un échantillon ADNe, donc jusqu'à 6 espèces distinctes. Cette technologie est parfaitement adaptée à des suivis de cycles parasitaires impliquant plusieurs espèces de groupes biologiques différents, comme c'est le cas pour *T. bryosalmonae* et ses hôtes *F. sultana* et *S. trutta*.

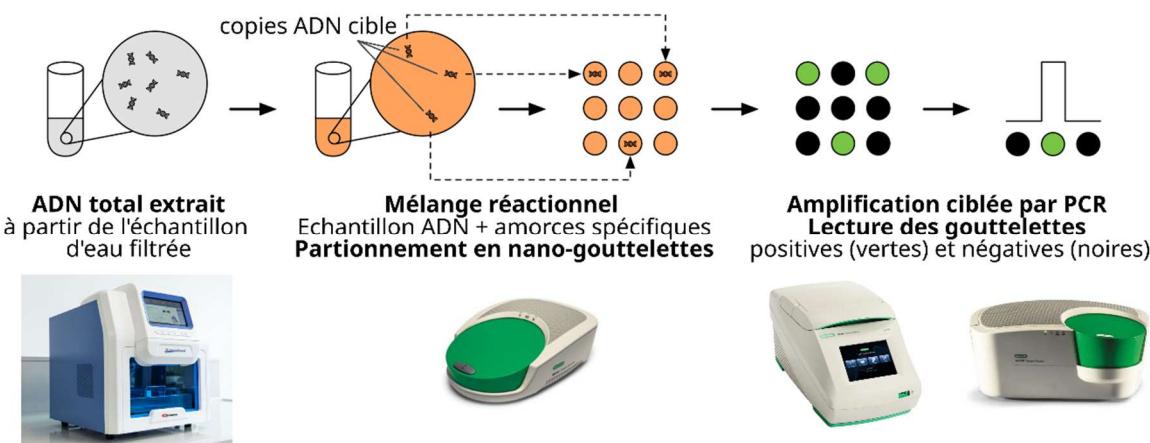


Figure 3. Schéma de fonctionnement de la ddPCR et appareils associés (automate d'extraction, générateur de gouttelettes, thermocycleur et lecteur de gouttelettes), modifié à partir de Mojarral et al. (2017).

2.1.2 Stratégie et protocole d'échantillonnage

Les stations analysées ont été sélectionnées la FDAAPPMA 62, avec au total **10 stations** (Figure 4) réparties sur la bassin versant de l'Authie, dont 6 sur le linéaire principal et 4 sur des affluents. Sur chaque station, les prélèvements d'eau par filtration ont été réalisés avec deux répliques sur grosses cartouches. La station de vidéo-comptage de Douriez, sur laquelle la colonie de bryozoaires a été identifiée en 2024, est située à 500m en aval de la station AUT6.

L'échantillonnage a été réalisé par la FDAAPPMA 62 fin Juin de l'année 2023, ce qui correspond à la fenêtre temporelle permettant la meilleure détection du signal ADNe émis par le parasite et le bryozoaire, et les truites fario infectées qui relarguent des spores infectieuses pour les bryozoaires détectables par ADNe à cette période de l'année via leur urine (Hedrick et al., 2004; Duval et al., 2021; Stelzer et al., 2024; Mercier et al., 2025).

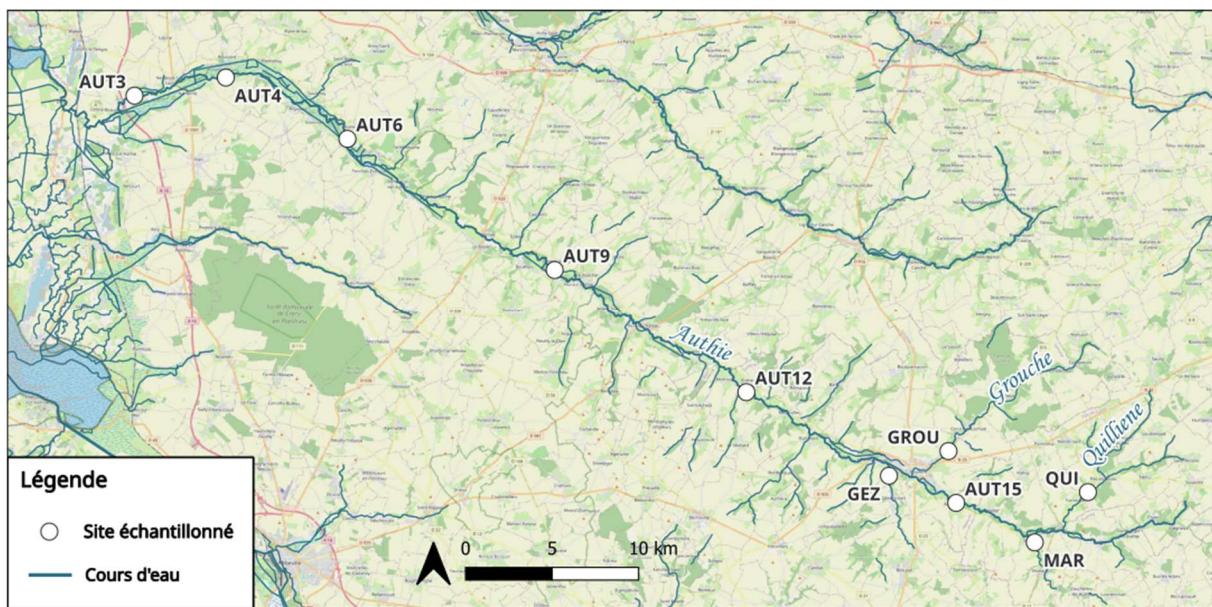


Figure 4. Carte illustrant les 10 sites échantillonnés et les cours d'eau principaux de la zone d'étude (lignes bleues). Fond de carte : ©OpenStreetMap.

Le protocole d'échantillonnage est détaillé dans le rapport de l'étude menée en 2023 par la FDAAPPMA 62 concernant la détection par ADNe des taxons de poissons et de l'écrevisse à pattes blanches. Brièvement, sur chaque station, des prélèvements en duplicas ont été réalisés sur grosse cartouche de filtration à l'aide de pompes péristaltiques durant 30min. Afin de pouvoir calculer un nombre de copies d'ADN par litre d'eau filtrée, il est estimé un volume filtré de 20L par cartouche.

3 Suivi spécifique par ddPCR

Après réception des ADNs déjà extraits pour l'étude de 2023, les analyses ddPCR ont été réalisées avec le QX600 Droplet Digital PCR System (Biorad). Afin de valider le protocole d'échantillonnage, le signal ADNe de *T. bryosalmonae* et *F. sultana* est comparé avec celui d'une espèce repère dont la présence est connue sur la majorité des sites échantillonnés (contrôle positif), c'est pourquoi une co-détection de la truite fario (*Salmo trutta*) a été réalisée. Les signaux ADNe de 3 cibles ont ainsi été co-détectés avec des amorces et sondes fluorescentes spécifiques de :

- *T. bryosalmonae* : myxozoaire, parasite responsable de la PKD chez les salmonidés
- *F. sultana* : bryozoaire, hôte de *T. bryosalmonae*
- *S. trutta* : truite fario, hôte de *T. bryosalmonae*

Le logiciel QuantaSoft™ Analysis Pro Software (Bio-rad) a ensuite été utilisé pour visualiser et analyser les données de ddPCR pour les signaux *T. bryosalmonae*, *F. sultana* et *S. trutta* (Figure 6). Les résultats bruts par échantillon correspondent à un nombre de gouttelettes fluorescentes dites positives pour chaque espèce ramené à un nombre total de gouttelette générée pour l'échantillon. Grâce à ces informations, un nombre de copie de gène de l'espèce ciblée est déterminé par µL d'extrait ADN puis converti en nombre de copies par litre d'eau filtrée.

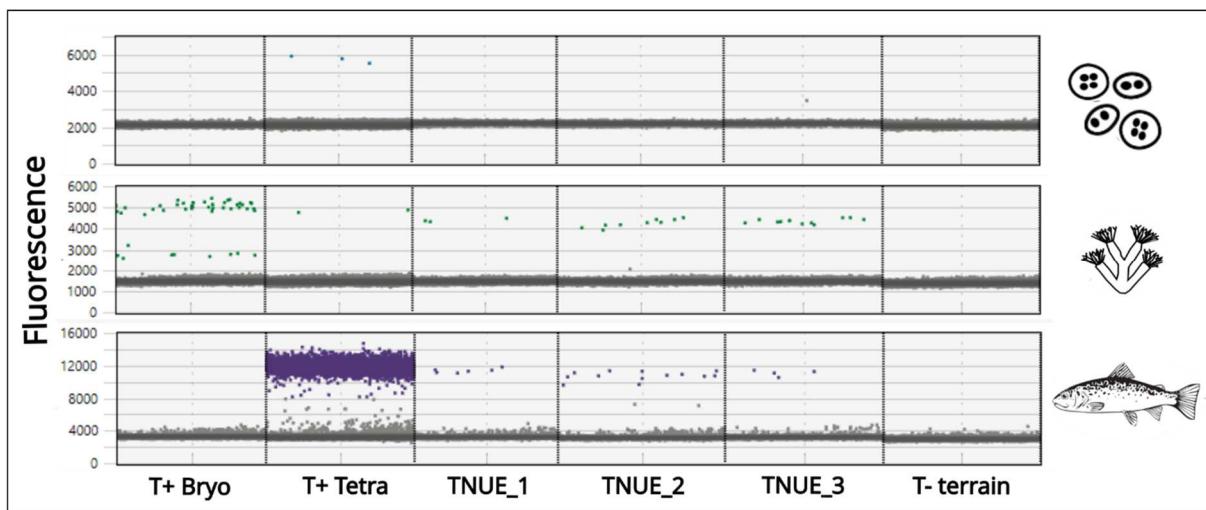


Figure 5 : Illustration des résultats ddPCR sur le logiciel : en bleu clair les gouttelettes positives pour la détection de *T. bryosalmonae* (présentes uniquement sur le témoin positif), en vert les gouttelettes positives pour la détection de *F. sultana*, en violet les gouttelettes positives pour la détection de *S. trutta*, et en gris les gouttelettes négatives (niveau de fluorescence basal pour chaque canal). Les deux premiers échantillons sont des témoins positifs (tissu de bryozoaire et échantillon environnemental positif aux 3 espèces), les trois suivants des échantillons environnementaux, et un témoin de terrain négatif.

Des témoins négatifs d'extraction et de ddPCR ont été intégrés aux analyses afin d'évaluer des contaminations potentielles introduites par l'opérateur ainsi que la présence de contaminations croisées entre échantillons. Les témoins positifs et négatifs ont permis de définir un signal de fluorescence dit basal pour permettre la validation des detections positives (Figure 5).

Pour chaque station, la stabilité du signal ADNe a été évaluée en comparant les résultats des répliques qui ont ensuite été moyennés. Les résultats sont rendus en nombre de copie de gène de la cible par μL de réaction par L d'eau filtrée.

4 Résultats et interprétation

4.1.1 Validation des données

Un contrôle qualité des runs de ddPCR a été réalisé pour s'assurer qu'un nombre suffisant de gouttelettes soit obtenu pour chaque échantillon ($>10\ 000$) et ainsi permettre une profondeur d'analyse suffisante. Lorsque ce nombre n'était pas atteint, les échantillons concernés sont réanalysés jusqu'à l'obtention d'un nombre suffisant de gouttelettes.

Afin de valider les runs pour les espèces cibles, des témoins positifs constitués d'extrait ADN de tissu du bryozoaire *F. sultana*, et d'un échantillon environnemental connu déjà connu pour être positif à *T. bryosalmonae* et *S. trutta* ont été testés et ont donné des résultats positifs.

Les témoins négatifs de terrain, d'extraction et de ddPCR ont tous donné des résultats négatifs pour la détection de *T. bryosalmonae*, *F. sultana* et *S. trutta* comme illustré sur la Figure 6. Aucune contamination des échantillons n'a ainsi pu être mise en évidence.

L'ensemble de ces contrôles qualité étant conformes, l'analyse des résultats obtenus en ddPCR pour les échantillons ADNe a pu être réalisée.

4.1.2 Résultats de détection par ddPCR

Les résultats moyennés des réplicas de terrain pour chaque station sont présentés dans la Table 2 et ramenés après correction par les différents facteurs de dilution à un nombre de copies d'ADN présentes par litre d'eau filtrée, en estimant un volume filtré de 20L par cartouche.

*Table 1 : Résultats de l'amplification ciblée de l'ADN de *S. trutta*, *F. sultana* et *T. bryosalmonae* en nombre de copies d'ADN détectées par litre d'eau filtrée. Le nombre de réplicas de terrain positifs est également reporté.*

Code site	<i>T. bryosalmonae</i> 1		<i>T. bryosalmonae</i> 2		<i>F. sultana</i>		<i>S. trutta</i>	
	Copies d'ADN*	Replicas positifs	Copies d'ADN*	Replicas positifs	Copies d'ADN*	Replicas positifs	Copies d'ADN*	Replicas positifs
AUT3	1,16E+01	2/2	2,16E+02	2/2	2,46E+03	2/2	1,22E+02	2/2
AUT4	1,48E+01	2/2	8,59E+01	2/2	3,44E+03	2/2	1,37E+02	2/2
AUT6	2,80E+01	2/2	2,30E+02	2/2	2,85E+03	2/2	4,11E+02	2/2
AUT9	8,55E+01	2/2	5,68E+02	2/2	2,89E+03	2/2	4,24E+02	2/2
AUT12	1,42E+02	2/2	1,16E+03	2/2	1,76E+03	2/2	1,06E+03	2/2
AUT15	0	0/2	2,89E+00	1/2	1,58E+01	1/2	1,56E+03	2/2
GEZ	0	0/2	0	0/2	0	0/2	4,70E+02	2/2
GROU	5,36E+01	2/2	5,32E+02	2/2	2,89E+02	2/2	4,81E+03	2/2
MAR	0	0/2	2,90E+00	1/2	0	0/2	8,64E+00	2/2
QUI	0	0/2	0	0/2	0	0/2	4,68E+02	2/2

*Les résultats sont présentés en nombre de copies d'ADN cible par litre d'eau filtrée

➤ Signal ADNe Truite fario *Salmo trutta* (témoin environnemental)

L'ADN de la truite fario a bien été détecté sur l'ensemble des stations. Ce témoin environnemental permet, en plus des témoins positifs et négatifs, de valider la bonne conservation des échantillons extraits en 2023 et l'efficacité de la détection du signal ADNe au cours de cette étude. Le signal est répétable sur les 2 cartouches. La concentration d'ADN détectée est relativement faible sur le Marleux.

➤ Signal ADNe Bryozoaire *Fredericella sultana*

Le signal ADNe du bryozoaire *F. sultana* a été détecté sur 7 des 10 stations échantillonées (Table 1, Figure 6). De la même façon que pour *S. trutta*, les signaux étaient très répétables avec l'ensemble des réplicas de terrain positifs lorsque l'espèce est détectée sur la station, sauf pour la station la plus amont de l'Authie (AUT15) où seulement un réplica était positif. L'absence de détection du bryozoaire sur la Quilienne et le Marleux, encore plus en amont, suggère que le bryozoaire est moins présent sur l'amont du système étudié. Les concentrations relevées sur les différentes stations semblent plus importantes sur les stations aval, à partir de AUT12 (Figure 6), ce qui pourrait indiquer une plus forte densité des colonies de bryozoaires à l'aval.

➤ Signal ADNe Myxozoaire *Tetracapsuloides bryosalmonae*

Le signal ADNe de *T. bryosalmonae* a été détecté sur 8 des 10 stations prospectées. Deux marqueurs situés sur des régions génétiques différentes ont été utilisés pour cette espèce afin de maximiser la sensibilité de sa détection. Le signal est répétable sur les 2 marqueurs pour la majorité des stations positives, sauf pour AUT15 et le Marleux pour lesquelles un seul réplica est positif sur le marqueur 2. La concentration détectée étant très faible et non répétable, il s'agit seulement d'une suspicion de détection sur ces deux stations. Le signal de *T. bryosalmonae* n'a pas été détecté sur la Gezaincourtoise ni sur la Quilienne.

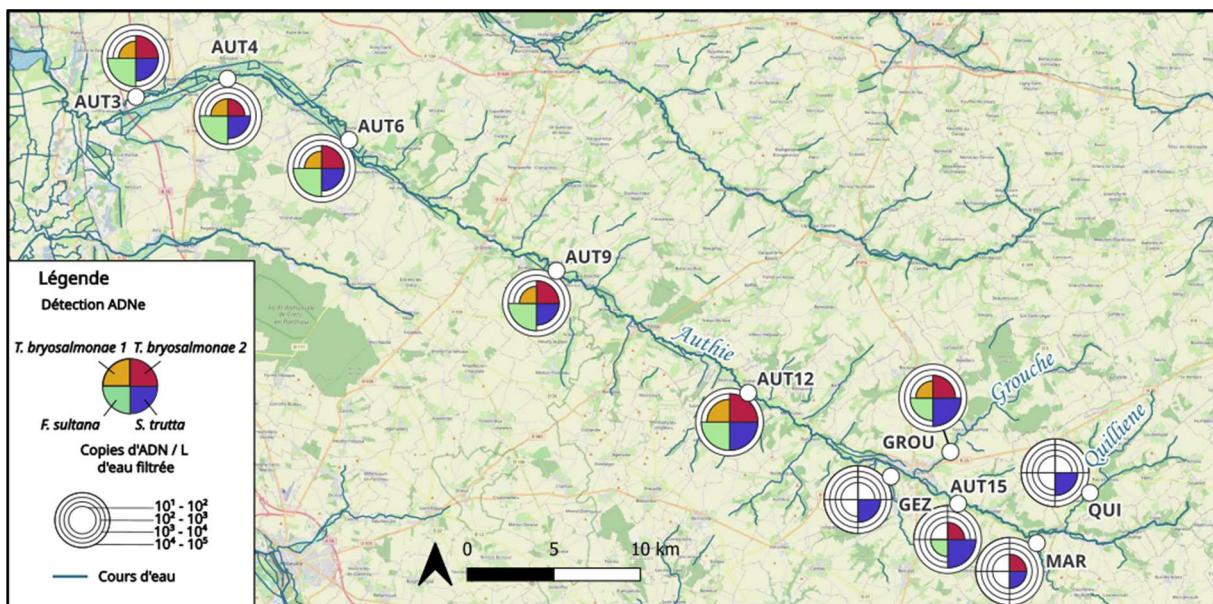


Figure 6. Cartographie de la distribution de la truite fario *Salmo trutta*, du bryozoaire *Fredericella sultana* et du parasite *Tetracapsuloides bryosalmonae* selon leur détection par recherche d'ADNe en ddPCR sur les 10 stations échantillonnées. Chaque quart de cercle correspond à une espèce, et sa taille correspond à l'ampleur de la concentration d'ADNe détectée (échelle logarithmique). La présence de *T. bryosalmonae* a été recherchée à l'aide de deux marqueurs différents pour augmenter la sensibilité de l'analyse. Fond de carte : ©OpenStreetMap.

5 Conclusion et Perspectives

Les extraits ADN transmis par la FDAAPPMA 62 issus d'une étude de 2023 ont bien pu être analysés, et la truite fario, témoin environnemental de l'étude a bien été détectée sur toutes les stations.

Le bryozoaire *F. sultana*, hôte principal du parasite *T. bryosalmonae* responsable de la PKD des salmonidés est présent sur la majeure partie du réseau hydrographique étudié, avec néanmoins un plus faible signal sur l'amont de l'Authie, et une absence de détection sur 3 des affluents, indiquant de potentielles plus faibles densités sur l'amont du système. Cette détection concorde avec la détection de la colonie sur la station de vidéo-comptage de Douriez, située juste à l'aval d'AUT6. Le secteur étudié est propice au développement du parasite *T. bryosalmonae* qui bénéficie de toutes les ressources nécessaires pour boucler son cycle de vie.

Ce dernier a été détecté de façon répétable sur 6 des stations échantillonnées (aval de l'Authie et Grouche), et de façon plus anecdotique sur la station la plus en amont de l'Authie, et sur le Marleux. Sa détection indique une suspicion de présence qui serait à confirmer.

L'ensemble de ces résultats suggère que les populations de truite fario du secteur étudié sont susceptibles de développer la maladie rénale proliférative si les conditions environnementales favorables à son développement se présentent (notamment plusieurs jours consécutifs avec une température $>15^{\circ}\text{C}$ au cours de la période estivale). Les stations plus en amont présentent de plus faibles détections (voire une absence de détection pour la Gezaincourtoise et la Quilienne), ce qui suggère une concentration des foyers d'infection plutôt sur l'aval du cours d'eau. Le test d'un troisième marqueur présumé plus sensible pourrait permettre de confirmer cette tendance (Stelzer et al., 2024).

6 Bibliographie

Bruneaux, M., Visse, M., Gross, R., Pukk, L., Saks, L., & Vasemägi, A. (2017). Parasite infection and decreased thermal tolerance : Impact of proliferative kidney disease on a wild salmonid fish in the context of climate change. *Functional Ecology*, 31(1), 216-226. doi:10.1111/1365-2435.12701

Burkhardt-Holm, P., & Scheurer, K. (2007). Application of the weight-of-evidence approach to assess the decline of brown trout (*Salmo trutta*) in Swiss rivers. *Aquatic Sciences*, 69(1), 51-70. doi:10.1007/s00027-006-0841-6

Carraro, L., Hartikainen, H., Jokela, J., Bertuzzo, E., & Rinaldo, A. (2018). Estimating species distribution and abundance in river networks using environmental DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 201813843. doi:10.1073/pnas.1813843115

Doi, H., Uchii, K., Takahara, T., Matsuhashi, S., Yamanaka, H., & Minamoto, T. (2015). Use of Droplet Digital PCR for Estimation of Fish Abundance and Biomass in Environmental DNA Surveys. *PLOS ONE*, 10(3), e0122763. doi:10.1371/journal.pone.0122763

Duval, E. (2022). *Detection, distribution, and impacts of the emerging parasite *Tetracapsuloides bryosalmonae* on wild populations of the brown trout *Salmo trutta** [Thèse de doctorat, 239p]. Université Toulouse III Paul Sabatier.

Duval, E., Blanchet, S., Quéméré, E., Jacquin, L., Veyssiére, C., Lautraite, A., Garmendia, L., Yotte, A., Parthuisot, N., Côte, J., & Loot, G. (2021). Urine DNA (uDNA) as a non-lethal method for endoparasite biomonitoring : Development and validation. *Environmental DNA*, edn3.228. doi:10.1002/edn3.228

Feist, S. W., & Longshaw, M. (2006). Phylum Myxozoa. In P. T. K. Woo, *Fish diseases and disorders* (CAB International, p. 230-296).

Fontes, I., Hartikainen, H., Holland, J., Secombes, C., & Okamura, B. (2017). *Tetracapsuloides bryosalmonae* abundance in river water. *Diseases of Aquatic Organisms*, 124(2), 145-157. doi:10.3354/dao03116

Foott, J. S., & Hedrick, R. P. (1987). Seasonal occurrence of the infectious stage of proliferative kidney disease (PKD) and resistance of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, to reinfection. *Journal of Fish Biology*, 30(4), 477-483. doi:10.1111/j.1095-8649.1987.tb05771.x

Gay, M., Okamura, B., & de Kinkelin, P. (2001). Evidence that infectious stages of *Tetracapsula bryosalmonae* for rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* are present throughout the year. *Diseases of Aquatic Organisms*, 46, 31-40. doi:10.3354/dao046031

- Bibliographie -

Hartikainen, H., Fontes, I., & Okamura, B. (2013). Parasitism and phenotypic change in colonial hosts. *Parasitology*, 140(11), 1403-1412. doi:10.1017/S0031182013000899

Hartikainen, H., Johnes, P., Moncrieff, C., & Okamura, B. (2009). Bryozoan populations reflect nutrient enrichment and productivity gradients in rivers. *Freshwater Biology*, 54(11), 2320-2334. doi:10.1111/j.1365-2427.2009.02262.x

Hartikainen, H., & Okamura, B. (2015). Ecology and Evolution of Malacosporean-Bryozoan Interactions. In B. Okamura, A. Gruhl, & J. L. Bartholomew, *Myxozoan Evolution, Ecology and Development* (Springer International Publishing, p. 201-216).

Hedrick, R. P., Baxa, D. V., De Kinkelin, P., & Okamura, B. (2004). Malacosporean-like spores in urine of rainbow trout react with antibody and DNA probes to *Tetracapsuloides bryosalmonae*. *Parasitology Research*, 92(1), 81-88. doi:10.1007/s00436-003-0986-3

Hedrick, R. P., MacConnell, E., & de Kinkelin, P. (1993). Proliferative kidney disease of salmonid fish. *Annual Review of Fish Diseases*, 3, 277-290. doi:10.1016/0959-8030(93)90039-E

Mercier, C., Duval, E., Lefort, M., Blanchet, S., Veyssiere, C., & Loot, G. (2025). Temporal Dynamics of a Fish Parasite (*Tetracapsuloides bryosalmonae*) and Its Two Main Hosts in Pyrenean Streams: An Environmental DNA -Based Approach. *Environmental DNA*, 7(3), e70127. doi:10.1002/edn3.70127

Mojarro, A., Hachey, J., Bailey, R., Brown, M., & Doebler, R. (2017, mars 21). *Nucleic Acid Extraction and Sequencing from Low-Biomass Synthetic Mars Analog Soils*. Lunar & Planetary Science XLVIII, Woodlands, Texas.

Okamura, B., Hartikainen, H., Schmidt-Posthaus, H., & Wahli, T. (2011). Life cycle complexity, environmental change and the emerging status of salmonid proliferative kidney disease. *Freshwater Biology*, 56(4), 735-753. doi:10.1111/j.1365-2427.2010.02465.x

Pawlowski, J., Apothéloz-Perret-Gentil, L., & Altermatt, F. (2020). Environmental DNA : What's behind the term? Clarifying the terminology and recommendations for its future use in biomonitoring. *Molecular Ecology*, 29(22), 4258-4264. doi:10.1111/mec.15643

Stelzer, M., Ord, J., Neyrinck, S., Steiner, J., Hartikainen, H., Brys, R., & Schmidt-Posthaus, H. (2024). Optimal detection protocol of *Tetracapsuloides bryosalmonae* by environmental DNA : A comparison of qPCR and ddPCR approaches. *Environmental DNA*, 6(1), e501. doi:10.1002/edn3.501

Sudhagar, A., Kumar, G., & El-Matbouli, M. (2020). The Malacosporean Myxozoan Parasite *Tetracapsuloides bryosalmonae* : A Threat to Wild Salmonids. *Pathogens*, 9(1), 16. doi:10.3390/pathogens9010016

Taberlet, P., Coissac, E., Hajibabaei, M., & Rieseberg, L. H. (2012). Environmental DNA : ENVIRONMENTAL DNA. *Molecular Ecology*, 21(8), 1789-1793. doi:10.1111/j.1365-294X.2012.05542.x

Tops, S., & Okamura, B. (2005). Malacosporean parasites (Myxozoa, Malacosporea) of freshwater bryozoans (Bryozoa, Phylactolaemata) : A review. *Denisia 16, Zugleich Kataloge Der Ö. Landesmuseen Neue Serie*, 28, 287-298.

Wahli, T., Bernet, D., Steiner, P. A., & Schmidt-Posthaus, H. (2007). Geographic distribution of *Tetracapsuloides bryosalmonae* infected fish in Swiss rivers : An update. *Aquatic Sciences*, 69(1), 3-10. doi:10.1007/s00027-006-0843-4