

# Synthèse bibliographique

## Connaissances de base pour comprendre et lutter contre les maladies émergentes des amphibiens dans la nature



Revue d'articles et de publications scientifiques réalisée par LPO FC, 2018

Financement



AGIR pour la  
BIODIVERSITÉ  
FRANCHE COMTE

## Développement /Survie / Mortalité des Pathogènes des amphibiens : généralités

Les pathogènes peuvent conduire à l'extinction des espèces hôtes si 1) il existe plusieurs espèces hôtes de susceptibilité variable, 2) le pathogène persiste une longue période en-dehors de l'hôte via un ou plusieurs réservoirs, 3) l'agrégation d'adultes reproducteurs et de larves facilite leur transmission.

- Persistance des pathogènes en-dehors de leurs hôtes par le biais d'autres organismes « réservoirs » (dont amphibiens, notamment larves et individus hivernant à l'eau, espèces résistantes et/ou excrétrices comme *Xénope lisse*) ET dans l'environnement (eau, sédiments, végétation, sécrétions d'individus contaminés tels que fèces, mues, etc.).
- Transmission horizontale des pathogènes \*directe : contact animal sain/animal infecté (chocs, morsures, prédation, amplexus) ET/OU \*indirecte par l'eau et les sédiments infectés.
- Transmission verticale (individus reproducteurs -> descendance) pas encore connue.
- Autres modes de dissémination : mouvements de vertébrés ectothermes (migrations naturelles, déplacements par l'homme, régurgitations par des prédateurs, etc.), déplacements d'eau et de sédiments contaminés (hommes, oiseaux via pattes, plumes, becs souillés, etc.). Comparativement aux « vecteurs naturels » (amphibiens, oiseaux d'eau, etc.) nous pouvons disperser les agents pathogènes sur de bien plus longues distances (commerce international d'animaux vivants) et en grandes quantités (déplacements de matériaux d'extraction à partir des masses d'eau).
- Conjonction facteurs individuels et environnementaux = variations de gravité lors d'infections
- Facteurs environnementaux augmentant la sensibilité des amphibiens aux pathogènes : toute sorte de stress diminuant l'immunité des amphibiens tels que \*saisons froides du fait de leur ectothermie, \*présence de polluants du fait d'une perméabilité cutanée importante, \*surpopulation dans les élevages et/ou \*baisse du niveau des eaux alliant un stress à une augmentation de la concentration en pathogènes et des contacts entre individus.
- Infections possibles à tous les stades de développement sauf œuf en l'état actuel des connaissances.

[Van Rooij et al., 2017](#)

[Miaud et al., 2016](#)

[Millerioux et al., 2012](#)

## Développement /Survie / Mortalité des Ranavirus et des chytrides Bd et Bsal

→ Résistance à la dessiccation : Ranavirus >>Bsal > Bd

### Ranavirus

- Multiplication des cellules virales dans cytoplasme + noyau cellules hôtes
- 12°C < Développement du virus < 32°C
- Capacité de survie sur surfaces sèches ≥ 200j
- Mort des individus suite à infection en 10-15 jours

La chytridiomycose est aujourd'hui considérée comme « la pire maladie infectieuse jamais renseignée parmi les vertébrés du fait du nombre très important d'espèces impactées et de sa propension à conduire à l'extinction des populations infectées » (UICN, 2007).

### Bd

- Développement du champignon en 2 phases : zoospore, phase mobile responsable de la transmission et spore enkystée à l'origine de la maturation.
- Développement complet en 4-5 jours (en conditions optimales) à partir de la kératine de l'épiderme des jeunes métamorphosés et des amphibiens adultes (anoures et urodèles) et sur les pièces buccales des têtards (infection non mortelle chez têtards).
- Préférendum thermique Bd = 22°C
- 17°C < Développement de Bd < 25°C
- Arrêt développement : T°C < 10°C et T°C ≥ 28°C
- Mort des zoospores à 37°C pendant 4h
- Dans l'environnement présence uniquement de la phase mobile (les zoospores).

### Bsal

- Développement du champignon en 2 phases : zoospore, phase mobile responsable de la transmission et spore enkystée à l'origine de la transmission et de la maturation.
- Développement complet en 4-5 jours (en conditions optimales) à partir de la kératine de l'épiderme des urodèles adultes essentiellement.
- Préférendum thermique Bsal = 15°C
- 10°C < Développement de Bsal < 25°C
- Arrêt développement : T°C < 5°C
- Mort des zoospores à 25°C
- Dans l'environnement : survie des zoospores = quelques jours mais survie des spores enkystées = plusieurs mois.
- Contamination par contact sur le sol possible 48h après le passage d'un animal infecté.
- Transmission de Bsal et infection entre individus infectés -> individus sains en 8h
- Mort par asphyxie des animaux infectés en 2 semaines.
- Pas de défense immunitaire même à faible dose.
- Risque infection individus exposés = 33%
- Mortalité ~100% des individus contaminés
- Chance de survie = 13% après 10j exposition

## Impacts Ranavirus sur vertébrés

- Nombreuses espèces divisées en plusieurs souches (en Europe, 2 espèces : Frog Virus 3 (FV3) et Common Midwife Toad Virus (CMTV), en France uniquement CMTV identifié).
- Infections et déclin nombreux vertébrés ectothermes : poissons, reptiles (lézards, serpents, tortues), amphibiens (grenouilles, crapauds, salamandres, tritons).
- Eclotions de maladie très courantes partout dans le monde : si les Ranavirus sont présents, la ranavirose se déclare dans la plupart des cas.
- Mortalités massives sur amphibiens sauvages dues aux Ranavirus : Amérique du Nord + du Sud, Japon, Europe (Royaume-Unis, Espagne, Portugal, Danemark, Pays-Bas, France – Parc du Mercantour au Sud des Alpes)
- Mortalités soudaines, généralement sans être précédées de signes cliniques
- Suspicion Ranavirose sans autopsie : hémorragies de la peau et des membres, ulcères et érythèmes cutanés + troubles du comportement
- En Europe, CMTV et FV3 ont infecté la plupart des espèces d'anoures et d'urodèles (*Bufo bufo*, *Rana temporaria*, *Pelophylax sp.*, *Lissotriton vulgaris*, *Lissotriton helveticus*, *Triturus marmoratus*, *Salamandra salamandra*)
- En France : CMTV infection et mortalités massives sur *Rana temporaria*
- Transmission possible Ranavirus entre poissons -> amphibiens
- Peuvent entraîner la mort de 90 à 100% des pop. en touchant simultanément ++ sp. et taxons
- Spécificités écologiques des populations d'altitude d'amphibiens contribuent à augmenter leur risque d'exposition aux Ranavirus : occupent en permanence les sites aquatiques utilisés pour l'hivernage et la reproduction.
  - ⇒ Persistance des Ranavirus en-dehors de leurs hôtes par le biais de réservoirs comme les larves de Triton alpestre ou d'Alyte accoucheur qui restent très longtemps à l'eau en montagne.

## Impacts Bd sur vertébrés

- Infections > 442 sp. amphibiens (grenouilles, crapauds, salamandres, tritons)  
+ Découverte en laboratoire infection possible du Poisson-zèbre par Bd
- Déclin et/ou disparition complète > 200 sp. amphibiens à l'échelle mondiale (surtout grenouilles)
- Présence sur l'ensemble des continents (sauf Antarctique et déserts où les amphibiens n'existent pas)
- Réduction des effectifs d'espèces locales jusqu'à 40% en moins de 2 semaines
- Eclotions de maladie peu courante : si Bd est présent, la chytridiomycose ne se déclare pas fréquemment.
- Suspicion Chytridiomycose suite infection Bd sans autopsie : successions excessives de mues, ulcères cutanés, érosion de la peau, bourrelets de peau + troubles du comportement

En quelques chiffres :

- En Amérique du Sud et Australie, vitesse de propagation jusqu'à 282 km/an
- Entre 2004 et 2008, le nombre de grenouilles à pattes jaunes adultes des montagnes de Californie a chuté de 90%. Même régression constatée en 3 ans chez les populations d'Alyte accoucheur d'un parc naturel en Espagne. En France, 80 % des Alytes accoucheurs infectés à la métamorphose dans plusieurs lacs des Pyrénées (Béarn et Néouvielle).
- En France :
  - Bd présent dans toutes les régions : occurrence globale = 32 % et prévalence moyenne dans les sites de présence = 16%,
  - sur la plupart des espèces : 11 anoures et 7 urodèles avec des prévalences variées généralement plus importantes chez les grenouilles « vertes » (rôle de réservoirs)

## Impacts Bsal sur vertébrés

- Infections limitées aux urodèles : Salamandre tachetée et Triton alpestre (sans mortalité massive associée), essentiellement adultes
- Populations d'anoures tels que Alyte accoucheur sont des porteuses saines
- Eclotions de maladie systématiques mais pour le moment restreintes géographiquement : si Bsal est présent, la chytridiomycose se déclare systématiquement.
- Propagation de l'Asie à l'Europe où la maladie a engendré la mortalité de + de 96% des pop. sauvages de salamandre tachetée
- En 4 ans extension aux populations sauvages de Salamandre tachetée des Pays-Bas (2012) -> Belgique (2013) + Allemagne et Angleterre chez terrariophiles uniquement pour le moment
- Aux Pays-Bas : 96 % des populations de Salamandre tachetée décimés entre 2010 et 2013
- Suspicion Chytridiomycose suite infection Bsal sans autopsie : ulcères cutanés, érosion de la peau, bourrelets de peau + troubles du comportement

## Définition d'un site

La définition du terme « **site** » peut varier selon l'ampleur du projet, les caractéristiques géographiques de la zone et les communautés écologiques.

Dans les milieux aquatiques, les sites ci-dessous sont considérés comme étant des sites distincts :

- terres humides, étangs, lacs ou autres plans d'eau séparés par des zones terrestres ;
- chaque affluent d'une rivière ou d'un ruisseau ;
- chaque emplacement en amont dans une rivière ou un ruisseau ; il n'est pas nécessaire de décontaminer entre chaque endroit lorsque le travail dans les rivières ou les ruisseaux suit une direction en aval.


Dans les milieux terrestres, les sites ci-dessous sont considérés comme étant des sites distincts :

- zones divisées par d'importantes barrières géographiques (p. ex. lacs ou grandes rivières, falaises, vaste plaine céréalière ou grandes autoroutes) ;
- zones situées à un kilomètre ou plus d'un habitat non convenable (p. ex. terres agricoles, établissements urbains) ou à trois kilomètres d'un habitat convenable (p. ex. habitat naturel perméable aux déplacements d'espèces d'amphibiens ou de reptiles). Ces distances sont fondées sur les distances de séparation minimales de NatureServe.

Dans un site, il est recommandé que les gants et autres équipements (p. ex. outils de mesure) soient changés ou désinfectés entre les manipulations de chacun des animaux, à moins que ces animaux aient déjà été en contact étroit les uns avec les autres (p. ex. dans le même piège-fosse). Vous devez porter des gants pour manipuler des amphibiens afin de protéger leur peau sensible contre les substances chimiques, l'huile et la sueur qui se trouvent sur vos mains. Si vous ne pouvez pas en porter, vous devez laver et désinfecter vos mains entre chaque individu.

[Groupe de travail canadien sur la santé de l'herpétofaune., 2017](#)

## DÉSINFECTION EFFICACE DE SON MATÉRIEL

- **Virkon S<sup>®</sup>** - dilution 1% - contact 5 min.
- **Eau de javel** ( à 4% de NaCl) – dilution 1:5 - contact 1 min.
- **Ethanol 70%** – aucune dilution - contact 1 min.

**DESTRUCTION TOTALE** *Ranavirus / Bd / Bsal*

=> **Solutions préparées en faibles doses, changées régulièrement (utilisables dans les 5 jours).**

- Vêtements – machine à  $\geq 60$  °C  $\geq 30$  min.
- Hygiène des mains : port de gants à usage unique non poudrés, gel désinfectant non parfumé aux propriétés fongicide, virucide, bactéricide

*Van Rooij et al., 2017*

## Avantages / Limites PRODUITS DÉSINFECTANTS

- ➔ Assurance de détruire l'ensemble des pathogènes
- ➔ Impossibilité de montrer que les désinfectants n'ont pas d'effet sur les écosystèmes : l'absence d'effet détectable ne signifie pas l'absence totale d'effet (ex : lésions internes des tissus)
- ➔ Produits chimiques donc usage prudent et raisonné (limiter au maximum les quantités introduites dans l'environnement et les sites aquatiques)
  - => Dilution des produits bruts
  - => Désinfection du matériel par pulvérisation plutôt que trempage
  - => Utilisation en-dehors de toutes zones humides
- ➔ Impacts des désinfectants sur le zooplancton et les amphibiens : tests réalisés avec des « hautes doses » en désinfectants introduits directement dans les sites aquatiques (espèces cibles : *Rana temporaria*, *Rana arvalis*, *Bufo bufo*)

### Résultats

#### **Virkon S<sup>®</sup>**

- décomposition rapide dans le milieu
- pas d'effet significatif mesurable sur les têtards (survie et développement) et le zooplancton
- limite de manière non significative le développement embryonnaire des amphibiens

#### **Eau de javel**

- 100% mortalité têtards et zooplancton

#### **Ethanol**

- affecte les couches épidermiques des amphibiens

*Schmidt et al., 2009*

*Hangartner & Laurila., 2012*



## VERS DES MOYENS DE LUTTE ?

- Mesures de vigilance, d'alerte et d'hygiène systématiques et rigoureuses : réseaux d'épidémiologie-surveillance à tous les échelons et interconnectés.  
Objectif : réduire la dissémination des agents pathogènes et « gagner » du temps en alimentant la recherche pour trouver de nouvelles solutions conservatoires et permettre aux amphibiens de s'adapter.
- Amélioration en continu de la connaissance de la problématique.
- Certification des animaux faisant l'objet d'échanges commerciaux par autorités vétérinaires (pour info, en 8 ans ce sont + de 20 millions de Grenouille taureau en circulation dans le monde entier à partir des Etats-Unis, essentiellement destinées l'alimentation).
- Réglementation interdisant l'importation d'espèces asiatiques (exemples réussis aux Etats-Unis et au Canada).
- Lutte biologique : élevage puis introduction dans habitats aquatiques de prédateurs (dont zooplanctons) des spores de Bd-Bsal
- Elimination de Bd en milieu naturel : expérience réussie sur l'île de Majorque (Madrid) où Bd fut introduit accidentellement via un programme de réintroduction de l'alyte endémique. Mesures d'éradication testées entre 2009 et 2012 sur les 5 mares contaminées. Vidange des mares + exposition simple au soleil = échec. Vidange des mares + exposition simple au soleil + application Virkon S dans mares et sur rochers environnants = élimination du pathogène et reconstitution actuelle de la population.
- Conservation ex-situ via élevages individus sains en captivité pour une réintroduction sur sites après éradication des pathogènes.
- Soins aux salamandres infectées par Bsal en laboratoire : maintien des individus à T°C constante de 25°C pendant 10j ou traitement avec 2 fongicides pour les autres espèces.
- Peptides antimicrobiens du mucus cutané + système immunitaire des amphibiens : création de vaccins ??
- Développement de résistance des individus et coexistence durable hôte-pathogènes

## **Ressources bibliographiques et Webographie**

### **Ranavirose**

- Miaud, C., Pozet, F., Curt Grand Gaudin, N., Martel, A., Pasmans, F., and Labrut, S. 2016. RANAVIRUS CAUSES MASS DIE-OFFS OF ALPINE AMPHIBIANS IN THE SOUTHWESTERN ALPS, France. *Journal of Wildlife Diseases*, 52(2), pp. 242–252.
- Millerioux M, Dejean T, Miaud C & Artois M. 2012. Les infections à Ranavirus chez les amphibiens. *Bull. Soc. Herp. Fr.* 141 : 23 – 46.

### **Chytridiomycose**

- Bower, D.S., Lips, K.R., Schwartzkopf, L., Georges, A. and Clulow, S. 2017. Amphibians on the brink. Preemptive policies can protect amphibians from devastating fungal diseases. *Science* 357:454-455.
- Dejean T, Miaud C & Ouellet M. 2010. La chytridiomycose : une maladie émergente des amphibiens. *Bull. Soc. Herp. Fr.* 134 : 27 – 46.
- Miaud, C. 2013. Un champignon menace les amphibiens, qu'avons-nous appris de la chytridiomycose ? *Le courrier de la Nature.* 277 : 30-36.
- Van Rooij, P., Martel, A., Haesebrouck, F. and Pasmans, F. 2015. Amphibian chytridiomycosis: a review with focus on fungus-host interactions. *Veterinary Research* (2015). 46:137.

### **Chytrides**

#### *Bd - Batrachochytrium dendrobatidis*

- Miaud, C., Montgelard, C. 2015. Prévalence et identification génétique d'un champignon parasite des Amphibiens dans l'herpétofaune d'Alsace. UMR 5175 CENTRE D'ÉCOLOGIE FONCTIONNELLE ET ÉVOLUTIVE Laboratoire Biogéographie et Écologie des vertébrés (EPHE) et BUFO Alsace, 33p.

#### *Bsal – Batrachochytrium salamandrivorans*

- Stegen, G., Pasmans, F., Schmidt, B.R., Rouffaer, L.O., Van Praet, S., Schaub, M., Canessa, S., Laudelout, A., Kinet, T., Adriaensen, C., Haesebrouck, F., Bert, W., Bossuyt, F., Martel, A., 2017. Drivers of salamander extirpation mediated by *Batrachochytrium salamandrivorans*. *Nature* 544, 353–356. doi:10.1038/nature22059
- Yap, T., Nguyen, T., Serr, M., Shepack, A., Vredenburg, T., 2017. *Batrachochytrium salamandrivorans* and the Risk of a Second Amphibian Pandemic . *EcoHealth* DOI: 10.1007/s10393-017-1278-1.
- Protocole en ligne : <https://bsalinfoeurope.wixsite.com/eubsalmitigation2017/>

**[What Bsal infection looks like, how to report suspected cases and what to do to prevent Bsal infections.](#)**

## Protocoles d'hygiène

- Dejean T, Miaud C & Schmeller D. 2010. Protocole d'hygiène pour limiter la dissémination de la Chytridiomycose lors d'interventions sur le terrain. Bull. Soc. Herp. Fr. 134 : 47-50.
- Groupe de travail canadien sur la santé de l'herpétofaune. 2017. Protocole de décontamination pour le travail sur le terrain avec les amphibiens et les reptiles au Canada. 8 pp + ii
- Miaud C. 2014. Protocole d'hygiène pour le contrôle des maladies des amphibiens dans la nature à destination des opérateurs de terrain. Agence de l'Eau Rhône-Méditerranée-Corse, Université de Savoie et Ecole Pratique des Hautes Etudes( eds), 7p.
- Murray, K., Skerratt, L., Marantelli, G., Berger, L., Hunter, D., Mahony, M. and Hines, H. 2011. Hygiene protocols for the control of diseases in Australian frogs. A report for the Australian Government Department of Sustainability, Environment, Water, Population and Communities.
- ONEMA. 2015. Protocole de décontamination et d'hygiène. Méthode de décontamination préconisée après toute activité dans l'eau pour éviter le dissémination d'agents pathogènes et d'espèces allochtones dans les milieux aquatiques. V2015-1.0
- Reptile, Amphibian, and Fish Conservation the Netherlands. 2017. DISINFECTION PROTOCOL FIELDWORK.
- Protocoles en ligne : <https://bsalinfoeurope.wixsite.com/eubsalmitigation2017/>

[Disinfection protocol for Bsal fieldwork - Disinfection protocol for heavy machinery.](#)

## Protocole de prélèvement

- Miaud, C. 2016. Conduite à tenir dans le cadre de la surveillance des populations de Salamandres et de tritons. En ligne sur le site « [www.alerte-amphibien.fr](http://www.alerte-amphibien.fr) »

Produits désinfectants

- Van Rooij P, Pasmans F, Coen Y, Martel A (2017) Efficacy of chemical disinfectants for the containment of the salamander chytrid fungus *Batrachochytrium salamandrivorans*. *PLoS ONE* 12 (10): e0186269

Impacts des produits désinfectants sur les têtards et le zooplancton

- Hangartner, S., Laurila, A., (2012). Effects of the disinfectant Virkon S on early life-stages of the moor frog (*Rana arvalis*). *Amphibia-Reptilia* 33: 349-353.
- Schmidt, B.R., Geiser, C., Peyer, N., Keller, N., von Rutte, M. (2009). Assessing whether disinfectants against the fungus *Batrachochytrium dendrobatidis* have negative effects on tadpoles and zooplankton. *Amphibia-Reptilia* 30: 313-319.

## Réseaux de biosurveillance & structures de recherche

- France

- Signalements de mortalité et ressources bibliographiques : <http://www.alerte-amphibien.fr/>

- Groupe de travail national invasions biologiques en milieux aquatiques (AFB & UICN France) : <http://www.gt-ibma.eu/>

Dont rapport d'actualité & références bibliographiques associées à la chytridiomycose :

<http://www.gt-ibma.eu/lintroduction-du-champignon-pathogene-batrachochytrium-salamandrivorans-une-menace-sans-precedent-pour-les-salamandres-europeennes/>

- Canada

-Réseau canadien de la santé de la faune (RCSF) : <http://www.cwhc-rcsf.ca/>

- Pays-Bas

- RAVON, association néerlandaise pour la conservation de l'herpétofaune et de l'ichthyofaune : <http://www.ravon.nl/>

*Nota* : réseau RACE (« Sighting Reptile Amphibian Conservation Europe ») officiellement fondé le 17 juillet 2017 à Nijmegen (Pays-Bas) pour la conservation des amphibiens et des reptiles en Europe

- Belgique

- Université de Gent – page dédiée à Bsal : <https://bsalinfoeurope.wixsite.com/eubsalmitigation2017>

- Université de Liège : <http://www.etho.ulg.ac.be/denoel/recherches-chytrides.html>

### Actualités Bd

- Questions/réponses sur Bd EN ANGLAIS (dont carte de répartition) sur : <http://www.bd-maps.net/>

### Actualités Bsal

- Questions/réponses sur Bsal EN ANGLAIS (dont carte de répartition) sur les sites de RAVON et de l'université de Gent :

<http://www.ravon.nl/English/Research/Bsal/tabid/3820/Default.aspx>

<https://bsalinfoeurope.wixsite.com/eubsalmitigation2017>

- Questions/réponses sur Bsal EN FRANÇAIS (dont cartes de répartition) sur le site de Natagora :

<http://www.natagora.be/index.php?id=salamandre>