



# Protocole d'hygiène pour le contrôle des maladies des amphibiens dans la nature à destination des opérateurs de terrain

Rédaction : **Claude Miaud**<sup>1</sup>

avec le soutien financier de **l'Agence de l'Eau Rhône-Méditerranée-Corse**  
convention n° 2011-5519



<sup>1</sup> UMR 5175 Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive, laboratoire Biogéographie et Ecologie des vertébrés (EPHE), Montpellier, France

# Protocole d'hygiène pour le contrôle des maladies des amphibiens dans la nature à destination des opérateurs de terrain

Claude Miaud

avec le soutien financier de l'Agence de l'Eau Rhône-Méditerranée-Corse  
convention n° 2011-5519

Ce document doit être référencé comme suit : 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), 7 p.

## **Contexte :**

L'objectif de ce document est de fournir aux personnes travaillant sur les amphibiens, ou plus largement en milieu aquatique, un ensemble de mesures de précaution à mettre en œuvre lors de leurs campagnes de terrain. Bien que ciblées sur la chytridiomycose, ces précautions permettront également de limiter la dissémination d'autres maladies (ranaviroses) ou d'espèces végétales ou animales envahissantes.

## **Ce document doit permettre :**

- De prévenir ou réduire les risques de transferts d'organismes pathogènes au sein et entre les populations amphibiens dans la nature,
- Permettre l'identification et amener une procédure appropriée lors de la découverte d'amphibiens morts ou malades dans la nature.

## **Quel lecteur pour ce document ?**

Ce protocole est proposé pour tous les professionnels de l'environnement, chercheurs, gestionnaires d'espaces, naturalistes professionnels et amateurs, étudiants, etc., (appelés par la suite opérateurs de terrain) qui fréquentent les milieux aquatiques et en particulier réalisent des observations et/ou études sur les amphibiens.

Ce protocole devrait en particulier être diffusé auprès des professionnels et amateurs qui contactent et manipulent régulièrement des amphibiens sur le terrain.

L'objectif de ce document est aussi de faire la promotion de l'utilisation d'un protocole d'hygiène lors d'observations et d'études dans la nature. Ce protocole est susceptible de modifications au fur et à mesure des avancées de la connaissance sur les maladies des amphibiens, mais son application doit devenir une règle pour toute action qui nécessite la manipulation des amphibiens sur le terrain.

## 1 – Mise en œuvre générale sur le terrain

Les opérateurs de terrain qui travaillent sur les amphibiens et les manipulent fréquentent souvent plusieurs sites aquatiques. Il est donc nécessaire de définir les limites entre les sites fréquentés et prendre des mesures pour limiter la diffusion des pathogènes potentiels :

1. Si l'intervention est réalisée sur des sites où la présence de l'agent pathogène est suspectée (observation de mortalités d'amphibiens, présence d'espèces exotiques, etc.), ou avérée, il est impératif d'appliquer rigoureusement le protocole d'hygiène.
2. Si plusieurs sites aquatiques doivent être visités au cours d'une même campagne de terrain, désinfecter le matériel entre chaque site. Lors d'intervention sur une pièce d'eau importante (marais, rivière, grand lac ...), désinfecter régulièrement le matériel.
3. Avant toute sortie sur le terrain, il est indispensable de s'assurer que l'ensemble du matériel qui va être utilisé (bottes, wadders, époussette, etc.) a été correctement désinfecté. En cas de doute, désinfectez-le.
4. Il existe dans le commerce plusieurs produits désinfectants efficaces pour éliminer les chytrides et les ranavirus (alcool à 70 %, eau de javel). Néanmoins, pour des raisons d'efficacité sur la plupart des agents infectieux (bactéries, virus et champignons), et de respect de l'environnement, nous recommandons l'utilisation du Virkon® ou du F10®. Le rejet de ces désinfectants dans l'environnement doit être limité. Le fabricant recommande l'élimination du Virkon par les réseaux d'eaux usées. Avant utilisation, lire les instructions d'usage fournies par le fabricant ([www.dupont.com](http://www.dupont.com)) et (<http://www.meadowsah.com/home/f10-technical-information.html>).
5. En cas de manipulation d'amphibiens, il est recommandé d'utiliser des gants jetables non poudrés. Dans la mesure du possible, les individus capturés doivent être maintenus individuellement (« un sac = un amphibien ») dans des sacs plastique à fermeture zip, boîtes plastiques, etc. afin de limiter les contacts et les risques de transmission de pathogène entre animaux.

## 2 – Définition d'un site

L'objectif du protocole d'hygiène est de limiter les risques de transmission des pathogènes, et une fréquence élevée de décontamination des matériels participe à cette limitation. Il faut cependant bien prendre en compte l'aspect faisabilité et appropriation du protocole par les opérateurs de terrain : un compromis entre effort de désinfection et risque de propagation doit être trouvé, et il repose sur la définition des limites des sites fréquentés.

En cas de connaissance de la présence de pathogène dans un (des) sites, il(s) devra(ont) faire l'objet d'une visite en fin de la session de terrain.

En cas de prospections dans des sites aquatiques proches (archipel de mares, marais, rivière, etc.) dans une même région, le matériel sera désinfecté par exemple à l'issue d'une demi-journée de terrain.

En cas de prospection entre des régions distantes (changement de bassin versant, etc.), le matériel devra être désinfecté au moment où les opérateurs de terrain quitte la région.

## 3 – Mise en œuvre du protocole de désinfection<sup>1</sup>

**a) Préparer dans un pulvérisateur une solution de Virkon® à 1 %.** Le produit devient inefficace lorsque la coloration rose disparaît. Nous recommandons de préparer une nouvelle solution lors de chaque session de terrain. La solution peut être préparée sur le terrain en utilisant l'eau d'une rivière ou d'un étang (Le Virkon® disponible en sachet de poudre ou en pastille). Pour le **F10**, il existe des formules prêtes à l'usage en pulvérisateur. Sinon, préparer la solution suivant la recommandation de dilution du fabricant. Préférer la version F10FC, qui ne nécessite pas de rinçage.

**b)** En quittant un site et avant de se rendre sur un nouveau (voir le point 2), **nettoyer le matériel** (bottes, wadders, époussette...) à l'aide d'une brosse afin de retirer boues et débris.

**c) Pulvériser la solution de désinfectant sur l'ensemble du matériel** ayant été au contact de l'eau et **laisser agir pendant 5 minutes** avant réutilisation (de préférence jusqu'à ce que le matériel soit sec). Le petit matériel ayant été au contact avec des amphibiens (balances, ciseaux,...) peut être désinfecté par immersion dans le désinfectant ou avec des lingettes imprégnées d'alcool à 70%. Ne pas rincer l'équipement afin d'éviter que le désinfectant ne soit introduit dans l'environnement. Si besoin, le matériel peut être rincé au retour du terrain.

---

<sup>1</sup> Adapté de « Protocole d'hygiène pour limiter la dissémination de la Chytridiomycose lors d'interventions sur le terrain » par T. Dejean, C. Miaud et D. Schmeller, 2009 pour la Société Herpétologique de France (lashf.fr)

**d) Pulvériser du désinfectant sur les semelles** de vos bottes ou chaussures de marche avant de quitter le site.

**e) Stocker le matériel désinfecté dans des sacs plastiques jetables** puis dans un bac plastique dans le véhicule.

**f) Désinfecter vos mains** à l'aide de lingettes imprégnées d'alcool à 70 % ou d'une solution hydro-alcoolique.

**g) Au retour du terrain**, placer l'ensemble du matériel jetable (gants, sacs, etc...) dans un sac poubelle avant de le jeter. Les vêtements peuvent être désinfectés régulièrement par un lavage en machine à 60°C.

La transmission des pathogènes via les véhicules est peu probable. Si un véhicule a circulé dans des sites aquatiques peuplés par des amphibiens, une procédure de désinfection (pulvérisation de désinfectant) peut être appliquée.

#### **4 – Liste du matériel nécessaire**

- Brosse
- Pulvérisateur
- Virkon® (pastilles) ou F10 (*disponible notamment dans les cabinets vétérinaires*)
- Gants jetables non poudrés (*pour préparer la solution Virkon® et en cas de manipulation d'amphibiens*)
- Lingettes imprégnées d'alcool à 70° ou solution hydro-alcoolique (*disponibles en grandes surfaces et pharmacies*)
- Sacs plastiques jetables de différentes tailles (*à jeter à la fin de chaque campagne de terrain*)
- Bac plastique de stockage (*restant dans le véhicule et régulièrement désinfecté*)

*(Si vous manquez de Virkon® ou F10 au cours de votre campagne de terrain, et que le produit n'est pas disponible localement, vous pouvez le remplacer par de l'alcool à 70°).*

## 5 – Conduite à tenir en cas d'observation d'amphibiens malades ou morts<sup>2</sup>

La connaissance sur les maladies des amphibiens passe par la collecte de données sur le terrain. Les amphibiens malades ou morts (sauf dans le cas de mortalités attribuées à une cause évidente comme la prédation ou l'écrasement sur les routes) devraient être collectés suivant un protocole standard :

### 5.1 Signes cliniques chez les amphibiens malades ou mourants

Il n'y a pas de signes cliniques spécifiques des infections à chytrides ou ranavirus. On peut lister :

- Sur l'apparence générale :
  - Epiderme dorsal assombri, taché
  - Epiderme dorsal rosâtre, rougeâtre
  - Lésions cutanées (plaies)
  - Gonflement des membres (postérieurs)
  - Apparence amaigrie
  - Infection des yeux
  
- Sur les comportements :
  - Mouvements léthargiques des membres (postérieurs)
  - Absence de comportement de fuite
  - Exposition au jour pour des espèces nocturnes ou discrètes
  - Faible ou absence de réaction si touché

### 5.2 Protocole de collecte et de stockage

L'usage de gants jetables est très recommandé lors de la manipulation d'amphibiens morts ou malades.

Les animaux doivent être maintenus et/ou stockés dans des récipients individuels.

Les individus morts doivent être conservés le plus au frais possible pendant la session de terrain, puis congeler.

Les animaux morts peuvent aussi être fixés sur le terrain à l'alcool 70° (min). Si possible, ouvrir l'animal et le placer dans un contenant d'un volume au moins égal à 10 fois le volume du spécimen.

Si beaucoup de spécimens sont récoltés, certains peuvent être fixés et d'autres congelés.

Les récipients utilisés doivent informer sur la date de prélèvement, le lieu, la date et l'identité du préleveur (et si possible ses coordonnées).

---

<sup>2</sup> Adapté de NSW National Parks and Wildlife Service (2001). Hygiene protocol for the control of disease in frogs. Information Circular Number 6. NSW NPWS, Hurstville NSW

## Remerciements :

A l'ensemble des partenaires du programme Biodiversa (2009-2012) "Race" (coordinateur M. Fischer) pour leur implication dans les études sur les maladies des amphibiens d'Europe. L'ensemble des opérateurs de terrain qui alimentent la connaissance sur ces maladies par leur vigilance et leurs prélèvements sur le terrain.

## Références :

- DEJEAN T., MIAUD C. & M. OUELLET, 2007 - Proposition d'un protocole d'hygiène pour réduire les risques de dissémination d'agents infectieux et parasitaires chez les amphibiens lors d'intervention sur le terrain. **Bulletin de la Société Herpétologique de France** 122 : 40-48.
- DEJEAN T., MIAUD C., OUELLET M., 2010 - La chytridiomycose : une maladie émergente des amphibiens. **Bulletin de la Société Herpétologique de France** 134 : 27-46.
- FISHER MC, SCHMIDT BR, HENLE K, SCHMELLER DS, BOSCH J, AANENSEN DM, MIAUD C, GARNER TWJ, 2012. RACE: Risk assessment of chytridiomycosis to European Amphibian Biodiversity. **FrogLog** 101: 45-47.
- MIAUD C., 2013 – Un champignon menace les amphibiens. Qu'avons-nous appris de la Chytridiomycose ? **Le Courrier de la Nature** 277 : 30-36.
- MILLERIOUX M., DEJEAN T., MIAUD C. & ARTOIS M. 2012 - Les infections à Ranavirus chez les amphibiens. **Bulletin de la Société Herpétologique de France** 141: 23-46.
- NSW National Parks and Wildlife Service (2001). Hygiene protocol for the control of disease in frogs. Information Circular Number 6. NSW NPWS, Hurstville NSW ([www.npws.nsw.gov.au/wildlife/licence/frog.html](http://www.npws.nsw.gov.au/wildlife/licence/frog.html)).
- VACHER J.P., C. MIAUD & T. DEJEAN, 2013 - Une nouvelle espèce pour la fonge d'Alsace : découverte de *Batrachochytrium dendrobatidis* Longcore, Pessier & Nichols, 1999 (Fungi: Rhizophydiales), champignon parasite des Amphibiens. **Bulletin de la Société d'Histoire Naturelle et d'Ethnographie de Colmar** 71 : 39-48.