

## Biosécurité en milieu humide : bonnes pratiques d'intervention sur les amphibiens sauvages

Camille SANDOR, Florence MATUTINI, Anouk DECORS,  
Olivier CARDOSO, Hugo SENTENAC, Sylvain LARRAT,  
Françoise POZET, Mélanie BERTHET & Loïc PALUMBO

DIRECTEUR DE LA PUBLICATION / *PUBLICATION DIRECTOR*: Gilles Bloch,  
Président du Muséum national d'Histoire naturelle

RÉDACTEUR EN CHEF / *EDITOR-IN-CHIEF*: Jean-Philippe Siblet

ASSISTANTE DE RÉDACTION / *ASSISTANT EDITOR*: Sarah Figuet ([naturae@mnhn.fr](mailto:naturae@mnhn.fr))

MISE EN PAGE / *PAGE LAYOUT*: Sarah Figuet

COMITÉ SCIENTIFIQUE / *SCIENTIFIC BOARD*:

Luc Abbadie (UPMC, Paris)  
Luc Barbier (Parc naturel régional des caps et marais d'Opale, Colémbert)  
Aurélien Besnard (CEFE, Montpellier)  
Hervé Brustel (École d'ingénieurs de Purpan, Toulouse)  
Patrick De Wever (MNHN, Paris)  
Thierry Dutoit (UMR CNRS IMBE, Avignon)  
Éric Feunteun (MNHN, Dinard)  
Romain Garrouste (MNHN, Paris)  
Grégoire Gautier (DRAAF Occitanie, Toulouse)  
Olivier Gilg (Réserves naturelles de France, Dijon)  
Frédéric Gosselin (Irstea, Nogent-sur-Vernisson)  
Patrick Haffner (PatriNat, Paris)  
Frédéric Hendoux (MNHN, Paris)  
Xavier Houard (OPIE, Guyancourt)  
Isabelle Le Viol (MNHN, Concarneau)  
Francis Meunier (Conservatoire d'espaces naturels – Hauts-de-France, Amiens)  
Serge Muller (MNHN, Paris)  
Francis Olivereau (DREAL Centre, Orléans)  
Laurent Poncet (PatriNat, Paris)  
Nicolas Poulet (OFB, Vincennes)  
Jean-Philippe Siblet (PatriNat, Paris)  
Laurent Tillon (ONF, Paris)  
Julien Touroult (PatriNat, Paris)

COUVERTURE / *COVER*:

Photographie de trois Rainettes méridionales (*Hyla meridionalis* (Böttger, 1874)) sur des brins d'herbe. Crédit photo: Hugo Sentenac / Université Toulouse 3-Paul Sabatier.

*Naturae* est une revue en flux continu publiée par les Publications scientifiques du Muséum, Paris  
*Naturae* is a fast track journal published by the Museum Science Press, Paris

Les Publications scientifiques du Muséum publient aussi / *The Museum Science Press* also publishes:  
*Adansonia*, *Zoosystema*, *Anthropozoologica*, *European Journal of Taxonomy*, *Geodiversitas*, *Cryptogamie* sous-sections *Algologie*, *Bryologie*, *Mycologie*, *Comptes Rendus Palevol*.

Diffusion – Publications scientifiques Muséum national d'Histoire naturelle  
CP 41 – 57 rue Cuvier F-75231 Paris cedex 05 (France)  
Tél.: 33 (0)1 40 79 48 05 / Fax: 33 (0)1 40 79 38 40  
[diff.pub@mnhn.fr](mailto:diff.pub@mnhn.fr) / <https://sciencepress.mnhn.fr>

© Cet article est sous licence Creative Commons Attribution 4.0 International License. (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)  
ISSN (électronique / electronic) : 2553-8756

# Biosécurité en milieu humide: bonnes pratiques d'intervention sur les amphibiens sauvages

## **Camille SANDOR**

Office français de la Biodiversité, Direction de la Recherche et de l'Appui scientifique,  
9 Avenue Buffon, F-45100 Orléans (France)  
[camillesandor@gmail.com](mailto:camillesandor@gmail.com)

## **Florence MATUTINI**

Office français de la Biodiversité, Direction de la Recherche et de l'Appui scientifique,  
5 Impasse de Saint-Thibault, F-78610 Auffargis (France)  
[florence.matutini@ofb.gouv.fr](mailto:florence.matutini@ofb.gouv.fr)

## **Anouk DECORS Olivier CARDOSO**

Office français de la Biodiversité, Direction de la Recherche et de l'Appui scientifique,  
9 Avenue Buffon, F-45100 Orléans (France)  
[anouk.decors@ofb.gouv.fr](mailto:anouk.decors@ofb.gouv.fr)  
[olivier.cardoso@ofb.gouv.fr](mailto:olivier.cardoso@ofb.gouv.fr)

## **Hugo SENTENAC**

Laboratoire Écologie fonctionnelle et Environnement,  
Université de Toulouse, CNRS, Toulouse INP, Université Toulouse 3-Paul Sabatier,  
118 route de Narbonne – Bâtiment 4R1, F-31062 Toulouse cedex 9 (France)  
[hugosentenac@gmail.com](mailto:hugosentenac@gmail.com)

## **Sylvain LARRAT**

Consultant scientifique vétérinaire  
Le Guernic, F-56330 Pluvigner (France)  
[sylvainlarrat@yahoo.fr](mailto:sylvainlarrat@yahoo.fr)

## **Françoise POZET**

Représentante pour l'ADILVA Laboratoire départementale d'analyse 39  
59 rue du Vieil Hôpital, F-39802 Poligny cedex 02 (France)  
[fpozet@jura.fr](mailto:fpozet@jura.fr)

## **Mélanie BERTHET**

Parc zoologique du Muséum de Besançon  
99 Rue des Fusillés de la Résistance, F-25000 Besançon (France)  
[melanie.berthet@citadelle.besancon.fr](mailto:melanie.berthet@citadelle.besancon.fr)

## **Loïc PALUMBO**

Office français de la Biodiversité, Direction de la Recherche et de l'Appui scientifique,  
9 Avenue Buffon, F-45100 Orléans (France)  
[loic.palumbo@ofb.gouv.fr](mailto:loic.palumbo@ofb.gouv.fr)

---

Soumis le 29 septembre 2023 | Accepté le 7 février 2024 | Publié le 25 septembre 2024

Sandor C., Matutini F., Decors A., Cardoso O., Sentenac H., Larrat S., Pozet F., Berthet M. & Palumbo L. 2024. — Biosécurité en milieu humide : bonnes pratiques d'intervention sur les amphibiens sauvages. *Naturae* 2024 (14): 273-305. <https://doi.org/10.5852/naturae2024a14>

## RÉSUMÉ

Les amphibiens représentent, parmi les vertébrés, la classe qui décline le plus sur Terre. Les causes de ces déclin incluent entre autres les changements climatiques, la destruction des habitats, la pollution et des maladies infectieuses émergentes. Monitorer et protéger les populations d'amphibiens implique souvent des interventions humaines au sein leur habitat naturel (en général en zones humides), avec parfois des manipulations d'individus. Ces interventions peuvent avoir des conséquences délétères tant sur le plan du bien-être animal que celui de la santé, étant donné les risques non-négligeables de propagation anthropique d'agents infectieux pour les amphibiens ou les autres organismes habitant les mêmes milieux. Le manipulateur risque également de contracter une zoonose ou une maladie à réservoir environnemental hydrique (e.g., leptospirose, salmonellose). Ces risques sont rarement considérés lors de la conception de protocoles d'intervention, alors qu'il est important de les atténuer. L'emploi d'équipements de protection et l'utilisation de substances chimiques biocides à visée de désinfection sont souvent indiqués à cet effet, mais trop souvent considérés comme les seules mesures de biosécurité nécessaires. Ces substances pouvant avoir des effets néfastes pour les milieux naturels, en particulier aquatiques, les conséquences (dont la gestion des effluents) et bénéfiques de leur utilisation sur le terrain doivent être analysés. La présente revue de littérature a pour but de préconiser une liste de bonnes pratiques de manipulation d'individus et de biosécurité visant à limiter les effets négatifs des interventions humaines sur les amphibiens et leurs milieux, tout en diminuant les risques pour les opérateurs.

## MOTS CLÉS

Hygiène,  
zoonoses.

## ABSTRACT

*Biosecurity in wetlands: good practices for intervention on wild amphibians.*

Amphibians are the class of vertebrates declining the most on Earth. The causes of these declines include climate change, habitat destruction, pollution and emerging infectious diseases. Monitoring amphibian populations often requires human interventions in their natural habitat (usually including wetlands), sometimes involving the manipulation of individuals. These interventions can have deleterious consequences in terms of both animal welfare and health, given the non-negligible risks of anthropogenic propagation of infectious agents to amphibians or other organisms inhabiting the same environments. Operators are also at risk of contracting a zoonosis or a disease with an environmental water reservoir (e.g., leptospirosis, salmonellosis). These risks are rarely considered when designing intervention protocols, even though it is important to reduce them. The use of individual protective equipment and biocidal chemicals for disinfection is often indicated for this purpose but often considered as the only biosecurity measures needed. As biocidal substances can have harmful effects on natural environments, particularly aquatic ones, the consequences (including effluent management) and benefits of their use in the field have to be analyzed. The aim of this literature review is to provide a list of biosafety measures and recommendations when handling wild amphibians to reduce the negative effects of human intervention on them and their environments, as well as the risks for operators.

## KEY WORDS

Hygiene,  
zoonosis.

## INTRODUCTION

La classe des Amphibiens, incluant les trois ordres que sont les Anoures, les Urodèles et les Gymnophiones (ces derniers ne sont toutefois pas présents en Europe), compte à l'heure actuelle plus de 8000 espèces dans le monde (<https://amphibiansoftheworld.amnh.org/>, dernière consultation le 1<sup>er</sup> juillet 2024). De nombreuses espèces d'amphibiens dépendent des milieux humides pour la reproduction et pendant leur phase aquatique. De ce fait, les interventions (e.g., inventaires) en France métropolitaine sont souvent réalisées dans ces milieux qui sont donc ciblés dans le cadre de cette étude. Les milieux humides font l'objet de nombreuses définitions. La réglemen-

tation française les définit dans le code de l'environnement comme des « terrains, exploités ou non, habituellement inondés ou gorgés d'eau douce, salée ou saumâtre de façon permanente ou temporaire; la végétation, quand elle existe, y est dominée par des plantes hygrophiles pendant au moins une partie de l'année » (Art. L.211-1, [https://www.legifrance.gouv.fr/codes/article\\_lc/LEGIARTI000041599138](https://www.legifrance.gouv.fr/codes/article_lc/LEGIARTI000041599138), dernière consultation le 8 août 2024). Depuis le 24 juin 2008, ils sont définis et délimités selon la nature des sols et de la végétation (Articles L. 214-7-1 [[https://www.legifrance.gouv.fr/codes/article\\_lc/LEGIARTI000006833137](https://www.legifrance.gouv.fr/codes/article_lc/LEGIARTI000006833137), dernière consultation le 8 août 2024] et R. 211-108 [[https://www.legifrance.gouv.fr/codes/article\\_lc/LEGIARTI000006836803](https://www.legifrance.gouv.fr/codes/article_lc/LEGIARTI000006836803), dernière consultation le



Fig. 1. — Exemple de milieu humide, Venansault (85). Crédit photo : Florence Matutini / Office français de la Biodiversité.

8 août 2024]). La convention de Ramsar, quant à elle, s'appuie sur le traité international de 1971 entré en vigueur en 1975 et adopte une définition plus large que la réglementation française : les zones humides sont alors « des étendues de marais, de fagnes, de tourbières ou d'eaux naturelles ou artificielles, permanentes ou temporaires, où l'eau est stagnante ou courante, douce, saumâtre ou salée, y compris des étendues d'eau marine dont la profondeur à marée basse n'excède pas six mètres » (<http://www.zones-humides.org/entre-terre-et-eau/une-zone-humide-c-est-quoi/les-zones-humides-dans-le-droit-francais-et-inter>, dernière consultation le 1<sup>er</sup> juillet 2024). Dans cette étude nous considérerons comme milieux humides les milieux aquatiques continentaux d'eau douce uniquement (Fig. 1).

Les amphibiens constituent la classe de vertébrés la plus menacée au niveau mondial (Wake & Vredenburg 2008; Luedtke *et al.* 2023). D'après une étude récente, 40,7 % des espèces sont considérées comme menacées dans le monde en 2023 (correspondant aux catégories « en danger critique d'extinction », « en danger » et « vulnérable » de la liste rouge de l'UICN) (Luedtke *et al.* 2023). Avec la fragmentation des habitats, la pollution et les perturbations anthropiques, l'émergence de maladies infectieuses a été identifiée comme l'une des causes majeures de déclin voire d'extinction de populations d'amphibiens dans le monde (Daszak *et al.* 2003; Stuart *et al.* 2004; De Castro & Bolker 2005; Scheele *et al.* 2019; Luedtke *et al.* 2023).

Les déclinés de populations d'anoures et d'urodèles observés en Europe au cours de ces dernières années poussent les scientifiques et naturalistes à surveiller l'évolution des populations d'amphibiens, qui sont des espèces protégées en France à l'exception des espèces exotiques envahissantes (EEE) (Ministère de la transition écologique et de la cohésion des territoires 2021), mais aussi à investiguer et surveiller la présence et la dynamique épidémiologique des maladies d'intérêt. Les interventions en milieux humides se multiplient, augmentant ainsi les manipulations d'amphibiens lors d'opérations de surveillance, d'inventaire, de préservation (type crapauduc) ou d'études ciblées.

Pour limiter la propagation des agents infectieux mais aussi le transport des espèces exotiques envahissantes animales et végétales par l'humain lors de ces activités, il convient de mettre en place des mesures de biosécurité au cours des interventions tout en respectant l'intégrité écologique des milieux et les organismes qui s'y trouvent. Bien que certains principes soient généraux et applicables à de nombreux cas, les mesures de biosécurité doivent être adaptées au regard de la diversité des traits fonctionnels qui caractérisent les espèces ciblées par l'intervention. En effet, les modes de vie et de déplacement, les cycles biologiques et bien d'autres caractéristiques des amphibiens peuvent se révéler très différents d'une espèce à l'autre (voire d'une population à l'autre). Les milieux diffèrent

aussi dans leurs constituants biotiques et abiotiques, leurs structures et leurs fonctionnements. Il convient alors de rester prudent face aux généralisations lorsque l'on parle de biosécurité, en particulier concernant la classe des Amphibiens dans son ensemble. Par ailleurs, la sécurité des manipulateurs face aux risques de zoonoses et de maladies hydriques est souvent trop peu considérée dans les protocoles d'intervention, alors que ce risque devrait être pris en compte et atténué. La biosécurité comprend ainsi l'ensemble de mesures préventives et réglementaires visant à réduire les risques de diffusion et de transmission de maladies infectieuses, chez l'humain, l'animal et le végétal (<https://agriculture.gouv.fr/biosecurite-un-enjeu-majeur-pour-securiser-les-elevages-face-aux-epizooties>, dernière consultation 1<sup>er</sup> juillet 2024).

Cette étude a pour objectif de réaliser une revue de la littérature scientifique concernant les bonnes pratiques de manipulation des amphibiens et de biosécurité dans ces milieux si particuliers. Ainsi, nous identifions les mesures préventives pertinentes à mettre en place pour réduire les risques pour l'animal, la population suivie, les milieux et l'humain, afin d'en proposer une synthèse pratique.

## MANIPULATIONS DES AMPHIBIENS

### CADRE RÉGLEMENTAIRE, BIEN-ÊTRE ANIMAL ET ÉTHIQUE D'INTERVENTION

Compte tenu du statut réglementaire des amphibiens (i.e. espèces protégées sauf les espèces exotiques envahissantes), il est nécessaire que les manipulations soient réalisées dans le cadre d'autorisations réglementaires adéquates, décrites par l'arrêté du 18 décembre 2014 fixant « les conditions et limites dans lesquelles des dérogations à l'interdiction de capture de spécimens d'espèces animales protégées peuvent être accordées par les préfets pour certaines opérations pour lesquelles la capture est suivie d'un relâcher immédiat sur place » (<https://www.legifrance.gouv.fr/loda/id/JORFTEXT000030045861/>, dernière consultation le 1<sup>er</sup> juillet 2024). Pour cela, une demande de dérogation préalable à toute capture est à faire valider par la préfecture du département du lieu de réalisation de l'intervention (<https://www.service-public.fr/particuliers/vosdroits/R2501>, dernière consultation le 1<sup>er</sup> juillet 2024). Le respect de la réglementation en vigueur fait partie intégrante des bonnes pratiques d'intervention.

Les amphibiens étant sensibles aux manipulations (voir la partie « Manipulation et particularités physiologiques des amphibiens »), il est nécessaire que ces dernières soient limitées au maximum. Lorsque qu'elles sont réalisées, elles doivent systématiquement faire l'objet d'une évaluation bénéfices-risques et les protocoles sont à optimiser pour obtenir des résultats exploitables en limitant le nombre d'individus manipulés au minimum nécessaire (Gray *et al.* 2017). Il est admis que les amphibiens ressentent la douleur (De Iuliis & Pulerà 2019). La considération du bien-être animal au cours des interventions est essentielle et les interventions douloureuses ou stressantes sont à éviter. Les cadres réglementaires et éthiques encadrant l'Utilisation d'Animaux de la Faune

sauvage (UAFS) préconisent ainsi le principe des 3 R (Remplacer, Réduire, Raffiner) pour les utilisations d'animaux à des fins scientifiques expérimentales. Dans le cas de procédures impliquant une plaie, certains auteurs préconisent l'utilisation de gels anesthésiants locaux (Department of Environment and Heritage Protection 2016; Gray *et al.* 2017). Les interventions à visée diagnostique (i.e. dans le but de déterminer la cause, l'étiologie, de la maladie) de type amputation ou biopsie (« clipping »), peuvent dans certains cas être remplacées par des méthodes alternatives, comme par exemple l'écouvillonnage cutané, qui sera moins traumatique et invasif. Le choix du type de prélèvement doit tenir compte des objectifs scientifiques à atteindre et du bien-être des individus prélevés (Puschendorf & Bolaños 2006; Hyatt *et al.* 2007; Skerratt *et al.* 2008; Shin *et al.* 2014; DiRenzo *et al.* 2018; Ford *et al.* 2022; Sentenac *et al.* 2023).

### MANIPULATION ET PARTICULARITÉS PHYSIOLOGIQUES DES AMPHIBIENS

La peau des amphibiens joue un rôle essentiel dans la thermorégulation, la respiration et l'osmorégulation, en plus des rôles habituels existant chez les autres vertébrés (Miller & Fowler 2015; Norton *et al.* 2019). Pour ce faire, elle est généralement plus perméable et plus fine (Wright & Whitaker 2001) ce qui rend les amphibiens extrêmement sensibles à de nombreuses substances et ce, à des niveaux bien tolérés et sans effets nocifs par les reptiles, les oiseaux et les mammifères. Les savons, les lotions, les huiles naturelles, la fumée de tabac, les insecticides ainsi que de nombreux antiseptiques et désinfectants courants sont de ce fait toxiques pour les amphibiens (Norton *et al.* 2019).

De plus, le microbiote cutané des amphibiens possède des effets protecteurs nombreux et est à considérer comme un composant à part entière du système immunitaire (Bernardo-Cravo *et al.* 2020). Les variations individuelles de sensibilité aux agents infectieux dépendent, entre autres, de la composition de ce microbiote, notamment vis-à-vis des chytridiomycoses (probablement valable également pour d'autres maladies cutanées).

Compte tenu de la fragilité, de la perméabilité cutanée et des rôles importants de la peau des amphibiens, les manipulations, en particulier lorsqu'il y a des contacts avec la peau humaine ou avec des produits irritants, doivent être évitées. La capacité à se mouvoir des amphibiens ainsi que l'humidité cutanée de certaines espèces les rendent parfois difficiles à contenir, amenant le manipulateur à serrer l'animal plus fort. Une contention trop forte peut induire une suffocation, les amphibiens ne possédant pas de diaphragme.

### RECOMMANDATIONS POUR LES INTERVENTIONS NÉCESSITANT DES MANIPULATIONS

#### *Maintien des individus*

Les temps de manipulation doivent être réduits pour diminuer les risques de transmission d'agents infectieux et le stress généré (Speare *et al.* 2004; Phillott *et al.* 2010; Department of Environment and Heritage Protection 2016; Gray *et al.*

2017; Pessier & Mendelson 2017). L'utilisation de contenants permet de réduire les temps de contact et de manipulation (Phillott *et al.* 2010; Gray *et al.* 2017). Les prélèvements non létaux (écouvillons, « clipping ») peuvent être réalisés sans toucher l'animal : les individus sont alors placés dans des contenants à usage unique et adaptés (e.g., sac plastique Ziploc®) ou dans des bacs/récipients lavables dès que possible après leur capture. Certains auteurs préconisent de désinfecter et rincer abondamment les bacs de maintien entre chaque individu (Phillott *et al.* 2010; Kast & Hanna 2012; Gray *et al.* 2017). Il est aussi recommandé d'éviter d'utiliser des récipients en plastique qui n'ont pas uniquement contenu de l'eau afin de minimiser les risques de présence de composés toxiques. Suite aux manipulations, les amphibiens doivent être relâchés au plus vite et sur le même lieu que celui de la capture (Johnson *et al.* 2003; Webb *et al.* 2007; Department of Environment and Heritage Protection 2016; Gray *et al.* 2017). Des temps de maintien prolongés, e.g., supérieurs à 60 minutes, nécessiteront des changements d'eau réguliers (Phillott *et al.* 2010). De plus, sur ces temps longs, il peut être nécessaire de maintenir une température stable et donc *a minima* de garder les récipients à l'ombre, voire d'oxygéner l'eau et de prévoir une gestion des composés azotés en fonction des espèces, des stades et des volumes d'eau utilisés.

Les adultes ne doivent pas être détenus en groupe afin de ne pas créer une surdensité artificielle, même temporaire, qui pourrait augmenter le risque de transmission d'agents infectieux et créer un stress supplémentaire (Speare *et al.* 2004; Phillott *et al.* 2010; Kast & Hanna 2012; Gray *et al.* 2017). De même, les pièges et nasses doivent être vérifiés fréquemment afin que les densités de capture n'augmentent pas de manière artificielle (Gray *et al.* 2017). En revanche, les têtards d'une même zone (quelques mètres), d'un même plan d'eau ou d'une même section de cours d'eau pourraient *a priori* être hébergés pendant de courtes périodes dans un contenant commun dans la mesure où ils sont souvent grégaires (et en forte densité) dans le milieu naturel (Speare *et al.* 2004; Phillott *et al.* 2010). Les têtards peuvent facilement être blessés lors des captures, ainsi que par les mouvements de l'eau dans les récipients. Une manipulation brutale peut générer des traumatismes cutanés et créer des voies d'entrée pour les agents infectieux (Gray *et al.* 2017). Certains organismes habituellement commensaux ou environnementaux peuvent devenir pathogènes chez des individus stressés, qui deviennent donc plus à risque de déclarer une infection clinique (Carey *et al.* 1999; Daszak *et al.* 2003; Miller & Fowler 2015).

#### *Procédure impliquant une plaie*

La création de plaies, induite lors de procédures d'amputation par exemple, représente une voie d'entrée pour les agents infectieux potentiellement pathogènes. La plupart des désinfectants courants sont à proscrire du fait de leur toxicité pour ces espèces : les scrubs chirurgicaux, la Bétadine® ou autres produits à base de povidone iodée, la chlorhexidine, la plupart des dérivés d'ammonium quaternaire, le chlore, l'alcool et l'ammoniac sont ainsi reconnus comme toxiques (Norton *et al.* 2019). La seule préparation appropriée disponible sur le

marché pour désinfecter les plaies est le spray Bactine® (0,14 % p/p de chlorure de benzalkonium et 2,6 % p/p de chlorhydrate de lidocaïne dans une base sans alcool) qui a été utilisé avec succès pour traiter les blessures des amphibiens (Martin & Hong 1991; Phillott *et al.* 2010). Une désinfection cutanée ainsi que du matériel est à réaliser avant et après toute procédure impliquant une plaie (Phillott *et al.* 2010; Department of Environment and Heritage Protection 2016). Cependant, du fait du caractère hydrosoluble de cet antiseptique, la protection conférée est rapidement perdue une fois l'individu relâché dans l'eau. Pour que ces traitements soient efficaces, un temps de maintien prolongé de 60 minutes est nécessaire avant que les animaux ne soient relâchés à proximité de l'eau (Phillott *et al.* 2010), nécessitant de prendre les précautions décrites précédemment. De plus, les risques associés à une mise au sec prolongée sont à prendre en compte sur certaines espèces ou certains stades de développement.

Il est également conseillé de sceller les plaies après désinfection pour minimiser l'entrée des agents infectieux à l'aide de composé cyanoacrylate tel que le Vetbond® et de ne pas utiliser d'autres produits ou colles qui peuvent s'avérer toxiques. Le Vetbond® peut être appliqué en surface de la peau (mais l'efficacité est diminuée) ou directement dans la plaie. Ce scellement est efficace et entraîne la formation d'un corps étranger non résorbable, qui sera alors expulsé en seconde intention (Phillott *et al.* 2010; Department of Environment and Heritage Protection 2016).

## LES DANGERS SANITAIRES ET LEURS IMPACTS EN MILIEUX HUMIDES

### STATUT DE PRÉSENCE ET RÉGLEMENTATION DES AGENTS PATHOGÈNES DES AMPHIBIENS

Les principales maladies à enjeux de conservation pour les amphibiens sont les chytridiomycoses dues à *Batrachochytrium dendrobatidis* Longcore, Pessier & D.K.Nichols, 1999 (Bd) ou *Batrachochytrium salamandrivorans* (Martel A., Blooi M., Bossuyt F., Pasmans F. 2013) (Bsal) et les ranaviruses avec les ranavirus Common Midwife Toad Virus (CMTV) et le Frog Virus 3 (FV3) en Europe (Daszak *et al.* 2003; Dejean *et al.* 2010; Teacher *et al.* 2010; Miaud 2013; Price *et al.* 2014; Miaud *et al.* 2016; Saucedo *et al.* 2019).

La présence en France métropolitaine de l'agent pathogène Bd, responsable de chytridiomycose, ainsi que des ranavirus, notamment le CMTV, est avérée depuis plus de 10 ans. Cependant, leur distribution géographique est difficile à déterminer, bien qu'*a priori* assez étendue (Miaud 2013; Miaud *et al.* 2016, 2019). À ce jour, Bsal est considéré comme absent de France métropolitaine suite à une enquête européenne de 2017 (<http://bsaleurope.com/european-distribution/>, dernière consultation le 1<sup>er</sup> juillet 2024). Cependant, il n'y a actuellement pas de recherche effective de cet agent pathogène sur le territoire pour avérer cette absence. Le risque d'introduction de Bsal est néanmoins élevé compte tenu de sa présence dans des pays européens proches (Pays-Bas, Belgique, Allemagne, Espagne et en captivité au Royaume-Uni) et du commerce d'espèces

aquatiques (Martel *et al.* 2013, 2014, 2020; Cunningham *et al.* 2015; Spitzen-van der Sluijs *et al.* 2016). Concernant les alloherpèsavirus *Bufovirid herpesvirus 1* (BfHV1) et *Batravirus Ranidallo 3* (RHV3, Martin & Hong 1991; Philott *et al.* 2010), leur présence en France semble avérée (Palumbo 2022) mais leur distribution n'est pas connue et encore peu de recherches sont menées sur ces agents pathogènes (Origgi *et al.* 2017, 2018, 2021; Origgi & Taugbøl 2023). Si les bactéries *Brucella* spp. ont été mises en évidence en France métropolitaine en 2022 sur des Grenouilles rieuses (*Pelophylax ridibundus* (Pallas, 1771)) (ANSES : Laboratoire de santé animale de Maisons-Alfort 2022), peu de données existent à ce sujet et la présence des mycobactéries spécifiques des amphibiens demeure quant à elle inconnue. Il convient de surveiller ces agents pathogènes pour des questions de santé publique. Enfin, de nombreux parasites circulent dans les populations d'amphibiens et de potentielles maladies non encore caractérisées peuvent être présentes dans certaines populations, nécessitant des mesures de prévention globales.

L'agent pathogène Bsal est réglementé par la Loi Santé Animale (LSA) (Règlement d'exécution (UE) 2018-1882, commission du 3 décembre 2018), où il est répertorié dans les catégories D « maladie répertoriée à l'égard de laquelle des mesures s'imposent en vue d'en empêcher la propagation en cas d'entrée dans l'Union ou de mouvements entre les États membres » et E « une maladie répertoriée à l'égard de laquelle une surveillance est nécessaire au sein de l'Union » (<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/PDF/?uri=CELEX:32018R1882&from=EN>, dernière consultation le 8 août 2024). De plus, les chytridiomycoses et ranaviroses appartiennent à la liste WAHIS (World Animal Health Information System ou Système mondial d'informations zoosanitaires des maladies émergentes et affectant la faune sauvage, <https://www.woah.org/en/what-we-do/animal-health-and-welfare/animal-diseases/>, dernière consultation 1<sup>er</sup> juillet 2024). Ces maladies sont également inscrites sur la liste de l'Organisation mondiale de la Santé animale (OMSA) comme maladies à déclaration obligatoire. Les autres agents pathogènes ne sont pas concernés par ces statuts réglementaires et internationaux et aucun des agents pathogènes des amphibiens n'est responsable d'une maladie humaine à déclaration obligatoire en France.

La mise en place de mesures de préventions vis-à-vis de l'introduction et la propagation de Bsal (catégorie D, LSA) ainsi que l'importance des autres agents pathogènes en termes de menaces, dans un objectif de protection des espèces à enjeux de conservation, nécessite de considérer avec attention le risque de transmission lors des interventions sur des individus sauvages.

#### IMPACT DES MALADIES SUR LA CONSERVATION CHEZ LES AMPHIBIENS

À l'échelle individuelle, l'impact des agents infectieux sur la survie, la reproduction ou la croissance des individus atteints est dépendant d'un grand nombre de facteurs. En effet, un agent infectieux n'est pas systématiquement pathogène et ne débouche donc pas forcément sur une expression clinique.

La probabilité de déclarer une maladie suite à la contamination par un agent infectieux dépend ainsi d'une multitude d'éléments (James *et al.* 2015). Parmi ces facteurs on retrouve :

- ceux concernant l'hôte : son état de santé, sa génétique et sa susceptibilité individuelle, qui peut également être variable d'une espèce ou d'un stade à l'autre (Briggs *et al.* 2010; Duffus *et al.* 2013; Medina *et al.* 2015; Earl *et al.* 2016; Oswald *et al.* 2020), la composition de son microbiote (Becker *et al.* 2015) et l'existence de co-infections;

- les conditions environnementales notamment la température (Nazir *et al.* 2012; Stegen *et al.* 2017) et des conditions de vie suboptimales entraînant un stress immunitaire;

- l'agent infectieux en lui-même, incluant les différences de virulence entre certaines souches (Berger *et al.* 2005; Dang *et al.* 2017; Greener *et al.* 2020).

À l'échelle d'une population, cet impact est bien évidemment dépendant des effets individuels de l'infection, mais aussi des modalités de la transmission inter-individuelle, de la densité de la population et de la persistance des agents infectieux dans le milieu extérieur. Cet impact est considéré comme sévère pour Bd, Bsal et les ranavirus dans la mesure où ces agents infectieux sont responsables de nombreux déclinés observés au cours de ces dernières années (Teacher *et al.* 2010; Van Rooij *et al.* 2012, 2015; Martel *et al.* 2013, 2014; Spitzen-van der Sluijs *et al.* 2013; Price *et al.* 2014; Earl *et al.* 2016; Brannelly *et al.* 2018; Campbell *et al.* 2020). Concernant les autres agents infectieux, l'impact sur la conservation est difficile à évaluer car les données sont peu nombreuses.

Enfin, l'impact d'une maladie sur une population dépend en grande partie de l'existence ou non d'une coévolution historique entre l'agent infectieux et l'hôte, résultant souvent en une moindre pathogénicité. L'absence de telle coévolution entre les hôtes et les agents pathogènes récemment introduits dans un milieu peut être à l'origine de mortalités massives dans les populations naïves (Cunningham *et al.* 2003). Ce phénomène de « pollution » par les agents pathogènes a souvent été la raison pour laquelle certaines maladies sont à enjeu de conservation.

#### CARACTÉRISTIQUES DE TRANSMISSION DES AGENTS PATHOGÈNES DES AMPHIBIENS

##### *Les espèces concernées*

Les études les plus récentes montrent que l'infection à Bd touche plus de 11 000 espèces dans le monde, avec dans l'étude d'Olson *et al.* (2021) 1375 espèces positives (pouvant donc être infectées mais n'étant pas toutes susceptibles de développer une maladie) parmi les 2525 échantillonnées (soit 55 %) dans 93 des 134 pays étudiés (soit 69 %) (Castro Monzon *et al.* 2020; Olson *et al.* 2021).

Le nombre d'espèces atteintes n'est pas encore bien étudié pour Bsal dont l'émergence est récente et localisée à l'Europe. Toutefois les urodèles semblent principalement touchés, avec des manifestations cliniques, et les anoures sont, dans une moindre mesure, concernés mais de façon acclinique. En Europe, Bsal est ainsi retrouvé, entre autres, chez la Salamandre tachetée (*Salamandra salamandra* (Linnaeus, 1758)) (Fig. 2), le Triton alpestre (*Ichthyosaura alpestris* (Laurenti, 1768)), le Triton





Fig. 2. — Salamandre tachetée (*Salamandra atra* (Linnaeus, 1758)), espèce sensible à Bsal. Crédit photo : Florence Matutini / Office français de la Biodiversité.

commun (*Lissotriton vulgaris* (Linnaeus, 1758)) et le Triton marbré (*Triturus marmoratus* (Latreille, 1800)) (Martel *et al.* 2014, 2020 ; Catenazzi 2015 ; Van Rooij *et al.* 2015 ; Spitzen-van der Sluijs *et al.* 2016 ; Yap *et al.* 2017).

Les ranavirus sont eux aussi assez largement retrouvés parmi les espèces d'amphibiens (Herath *et al.* 2021) et sont présents sur tous les continents abritant des amphibiens à l'exception de l'Afrique (d'après les connaissances actuelles). En 2015, ils sont isolés chez 105 espèces appartenant à 18 familles d'amphibiens dans 25 pays (Duffus *et al.* 2015). Toutefois les différentes espèces virales présentent des tropismes d'hôtes différents. Les virus FV3 semblent affecter préférentiellement les anoues, bien que retrouvés chez des urodèles (Clark *et al.* 1968). Les virus CMTV semblent quant à eux infecter aussi bien des espèces d'urodèles que d'anoues (Balseiro *et al.* 2009, 2010). Le stade de développement de l'amphibien peut également être un facteur de variation de sensibilité aux espèces virales de ranavirus (Cullen *et al.* 1995 ; Cunningham *et al.* 1996 ; Mao *et al.* 1999 ; Jancovich *et al.* 2001 ; Duffus *et al.* 2013).

Pour les alloherpèsvirus, l'état actuel des connaissances ne permet pas de définir un spectre d'hôte précis. Deux espèces sauvages au moins sont sensibles à ces agents pathogènes : le Crapaud commun (*Bufo bufo* (Linnaeus, 1758)) avec BfHV-1 et la Grenouille rousse (*Rana temporaria* Linnaeus, 1758) avec RHV-3 (Fig. 3) (Origgi *et al.* 2017, 2018).

#### Transmission inter-individuelle

Pour Bd et Bsal la transmission se fait par contact direct avec des amphibiens infectés (notamment lors de l'accouplement) ou indirect *via* les zoospores motiles, libres dans le milieu aquatique ou encore par translocation *via* d'autres espèces (Longcore *et al.* 1999 ; Rowley & Alford 2007 ; Reeder *et al.* 2012 ; Garmyn *et al.* 2012 ; Martel *et al.* 2014 ; Courtois *et al.* 2017 ; Castro Monzon *et al.* 2020).

Plus la pression infectieuse, c'est-à-dire l'abondance de zoospores dans le milieu, est importante, plus la probabilité de transmission indirecte le sera également (Briggs *et al.* 2010). Courtois *et al.* (2017) montrent qu'en condition naturelle dans les lacs d'altitude, le contact physique avec un hôte infecté n'est pas nécessaire pour une infection par Bd et que tous les têtards *Alytes* accoucheurs (*Alytes obstetricans* (Laurenti, 1768)) naïfs sont infectés après quatre semaines, lorsqu'ils sont maintenus à 1,5 m d'un groupe de têtards infectés. Cependant, le contact physique entraîne une propagation plus rapide, des charges de Bd plus élevées et par conséquent, des taux de mortalité plus élevés (Courtois *et al.* 2017). Piotrowski *et al.* (2004) montrent que plus de 95 % des zoospores de Bd cessent de bouger dans les 24 h et nagent sur moins de deux centimètres sous hotte. Elles restent cependant viables dans un état de développement ralenti. Ces résultats restent expérimentaux mais suggèrent qu'en eau stagnante, les



FIG. 3. — Grenouille rousse (*Rana temporaria* Linnaeus, 1758), espèce sensible à RHV-3. Crédit photo: Aurelien Daloz / Office français de la Biodiversité.

zoospores sont incapables de nager sur de longues distances (> 2 cm). Dans la nature, les mouvements d'eau (cycle de convections journaliers, vents, courants) pourraient permettre aux zoospores de se propager sur de plus longues distances mais elles peuvent aussi faire l'objet de prédation par d'autres organismes (Schmeller *et al.* 2014). Sur la base de résultats expérimentaux, les zoospores de Bd possèderaient également une capacité d'attraction à certaines substances, notamment les sucres, protéines et acides aminés, qui leur permettrait de rejoindre leur hôte par chimiotaxie (Moss *et al.* 2008).

La virulence soutenue de Bsal est favorisée par le fait qu'en plus des spores motiles, un deuxième type de spores infectieuses dites « enkystées » libres (à paroi plus épaissies) a été mis en évidence *in vitro* et *in vivo*, avec des stratégies d'infection et de dissémination différentes (persistance plus longue dans le milieu). Alors que les zoospores motiles nagent activement vers leur hôte, les spores « enkystées » flottent à l'interface eau-air et sont capables d'adhérer rapidement à la peau des salamandres (Stegen *et al.* 2017). Ainsi, une période de contact de huit heures serait suffisante pour que la transmission chez le Triton à ventre de feu (*Cynops pyrrhogaster* (Boie, 1826)) soit effective (Martel *et al.* 2014). Des simulations sur la probabilité de transmission de Bsal suggèrent également que plus de 95 % des tritons pourraient être infectés un mois après l'introduction d'un triton infecté, avec un taux de mortalité supérieur à 80 % en trois mois (Malagon *et al.* 2020). De plus, Bsal possède la capacité de se fixer et de se développer sur

des matériaux végétaux compatibles avec l'environnement naturel (Kelly *et al.* 2021). Les variations de capacités saprotrophes (capacité à se nourrir de matière organique morte ou décomposée) suggèrent un potentiel d'adaptation à des conditions environnementales variables, telles que l'absence de la population d'hôtes amphibiens. Bsal aurait donc la capacité de provoquer des déclin successifs, dans le sens où cet agent pathogène pourrait survivre sans ses hôtes amphibiens, les réinfecter lors d'une éventuelle recolonisation et causer à nouveau des mortalités massives empêchant tout recouvrement de population (Kelly *et al.* 2021).

Dans le cas des ranavirus, les différentes voies de transmission sont plus ou moins efficaces en fonction de la quantité de virions qu'elles délivrent. Elles se font notamment par contact direct avec un individu infecté. Les virus persistent à l'extérieur de leurs hôtes sous forme de virions nus dans l'environnement ou de virus protégés dans les tissus et carcasses (Brunner & Yarber 2018; Miaud *et al.* 2019; Campbell *et al.* 2020). Les amphibiens sont très sensibles à l'exposition de l'agent infectieux dans l'eau à des concentrations retrouvées naturellement dans l'environnement. Ainsi les *Lithobates sevosus* (Goin & Netting, 1940) (Ranidés) ont montré une mortalité de 100 % à quatre des six stades de vie testés en quelques jours et les Crapauds boréaux (*Anaxyrus boreas* (Baird & Girard, 1852)) ont subi une mortalité de 100 % sous forme de têtards ou de métamorphes en quelques jours également (deux seuls stades testés) (Earl *et al.* 2016).

En ce qui concerne les autres agents pathogènes d'intérêt, il y a peu d'informations disponibles sur les modalités de transmission dans la littérature.

#### Capacité d'expansion vectorielle et réservoirs

Dans le cas de Bd, la présence d'espèces réservoirs est confirmée (Fisher *et al.* 2009; Van Rooij *et al.* 2015; Zumbado-Ulate *et al.* 2019). Certaines espèces d'amphibiens infectés ne sont cliniquement que peu voire non atteintes et peuvent libérer des charges considérables de zoospores dans les plans d'eau, ce qui en fait de potentiels réservoirs si les conditions environnementales sont favorables à la survie des zoospores dans le milieu aquatique (Reeder *et al.* 2012). Les deux espèces exotiques envahissantes en France que sont la Grenouille taureau (*Lithobates catesbeianus* (Shaw, 1802)) et le Xénope lisse (*Xenopus laevis* (Daudin, 1802)), sont des porteurs subcliniques de l'infection à Bd et agissent comme réservoirs, transmettant l'infection à des espèces d'amphibiens naïfs (Weldon *et al.* 2004; Garner *et al.* 2006). Chez les têtards, l'infection reste localisée aux pièces buccales et peu de mortalités sont donc observées. Les têtards sont ainsi capables de maintenir une forte pression d'infection dans le milieu aquatique sur de longues périodes voire d'une année sur l'autre (le stade larvaire peut durer plusieurs années chez certaines espèces et dans certaines conditions environnementales comme un climat froid ou montagnard), faisant ainsi office de réservoir (Briggs *et al.* 2010; Medina *et al.* 2015; Clare *et al.* 2016).

Un vecteur aviaire potentiel a été mis en évidence en 2005, avec une capacité de Bd à s'accrocher et croître sur des plumes *in vitro* en conditions stériles. Il a aussi été montré que Bd est attiré par les doigts kératinisés des oiseaux aquatiques sur lesquels il peut adhérer et même proliférer tant que son environnement reste humide (Garmyn *et al.* 2012). L'importance des oiseaux dans la propagation spatiale n'a cependant pas été évaluée en milieu naturel (Johnson & Speare 2005). L'agent pathogène Bd peut aussi infecter les écrevisses chez qui il peut croître et induire de la mortalité. Les écrevisses sont alors capables de maintenir l'infection pendant plusieurs mois dans leur système digestif et d'infecter *in vitro* des amphibiens naïfs exposés aux écrevisses infectées. Elles sont donc considérées comme espèce réservoir (McMahon *et al.* 2013). Bd est capable *in vitro* d'infecter des parasites internes comme les nématodes *Caenorhabditis elegans* (Mau-pas, 1900) et de causer 70 % de mortalité chez cette espèce en 24 h d'exposition (Shapard *et al.* 2012). L'ADN de Bd a également été trouvé sur des lézards et serpents sauvages. Ces reptiles pourraient être des vecteurs ou des hôtes réservoirs, cependant, il reste à savoir si, bien que capable de transporter l'ADN dans des conditions naturelles, le champignon vivant peut être véhiculé et accomplir son cycle de vie ou persister sur le tégument des reptiles en l'absence d'hôtes amphibiens (Kilburn *et al.* 2011).

Le réservoir de Bsal est composé d'individus et d'espèces d'amphibiens tolérants, pour qui l'infection est asymptomatique (Catenazzi 2015; Van Rooij *et al.* 2015; Stegen *et al.* 2017; Yap *et al.* 2017). Parmi les urodèles, trois espèces de salamandres asiatiques (*Cynops pyrrhogaster* (Boie, 1826),

*Cynops cyanurus* (Liu, Hu & Yang, 1962) et *Paramesotriton deloustali* (Bourret, 1934)) sont ainsi capables d'excréter des zoospores pendant au moins cinq mois sans nécessairement développer de signes cliniques (Martel *et al.* 2014). De même, chez les anoues, les Alytes accoucheurs sont capables de porter *in vitro* l'ADN de Bsal à faible intensité pendant plusieurs semaines après inoculation expérimentale, sans montrer de signe clinique. Pour autant, leur infection s'est révélée suffisante pour assurer la transmission de Bsal aux salamandres sensibles (Stegen *et al.* 2017). Comme les zoospores motiles de Bd, les spores « enkystées » de Bsal flottant à l'interface eau-air sont capables d'adhérer rapidement aux écailles des pattes des oiseaux aquatiques. Cette adhérence passive à des matrices inertes pourrait également favoriser la propagation du champignon sur de grandes distances (Stegen *et al.* 2017).

Les ranavirus profitent de la présence de différents stades de développement des amphibiens au sein d'habitats communs de façon asynchrone dans le temps et avec des taux de létalité différents. Chaque stade sert ainsi de réservoir pour les autres au sein d'un même habitat (Brunner *et al.* 2004). Certaines espèces sont également capables d'être infectées sans présenter de signes cliniques et sont alors suspectées d'être des réservoirs (Balseiro *et al.* 2009; Duffus *et al.* 2019; Herath *et al.* 2021). C'est le cas (entre autres) de la Grenouille taureau, mais aussi de *Pseudacris feriarum* (Baird, 1854), *Anaxyrus americanus* (Holbrook, 1836), *Gastrophryne carolinensis* (Holbrook, 1835), des espèces du genre *Ambystoma* (Tschudi, 1838), et *Notophthalmus viridescens* (Rafinesque, 1820) (Hoverman *et al.* 2011). De plus, une transmission interclasse entre les amphibiens, les reptiles et les poissons est suspectée (Miller *et al.* 2011; Miaud *et al.* 2019). Des vecteurs mécaniques de ranavirus ont été identifiés et la transmission pourrait s'effectuer par des oiseaux (Whittington *et al.* 1996), des moustiques (Gruia-Gray & Desser 1992; Kimble *et al.* 2015) ou encore par des objets inertes utilisés dans le cadre d'activités nautiques (Casais *et al.* 2019).

Pour les herpèsvirus, la capacité d'expansion spatiale vectorielle ainsi que la présence de réservoirs sont inconnues.

#### Persistance des agents pathogènes dans l'environnement

Bd peut survivre dans l'eau et le sol humide de quelques jours à plusieurs mois en fonction des conditions environnementales (Johnson *et al.* 2003; Johnson & Speare 2003, 2005). Il a été montré que Bd survit jusqu'à trois semaines dans l'eau du robinet déchlorée, sept semaines dans les eaux de lac autoclavée, contenant néanmoins des débris organiques qui ont pu servir de support et de nutriments car l'eau n'a pas été filtrée dans cette expérience (Johnson & Speare 2003), et jusqu'à trois mois dans du sable de rivière humide autoclavé sans aucun autre nutriment ajouté (Johnson & Speare 2005). Peu d'éléments sont connus sur la capacité de Bd à persister dans un environnement naturel, exposé aux microorganismes, néanmoins des études en conditions expérimentales montrent que les micro-organismes (bactéries, champignons) et des organismes aquatiques (par exemple, organismes filtreurs tels que les rotifères et ciliés) peuvent réduire rapidement l'abondance du stade infectieux en consommant des zoospores de Bd, ce

qui réduit considérablement la probabilité d'infection (Harris *et al.* 2006; Schmeller *et al.* 2014; Kearns *et al.* 2017). Des isolats de Bd se développent et se reproduisent de 4 à 25 °C et à un pH de 4 à 8. La croissance étant maximale de 17 à 25 °C et à un pH de 6 à 7 mais ceci varie en fonction des souches et lignées. L'exposition des cultures à une température de 30 °C pendant huit jours détruit 50 % des effectifs (Piotrowski *et al.* 2004). Le champignon est donc sensible aux fortes chaleurs et meurt en quatre heures à 37 °C et en 30 minutes à 47 °C. La dessiccation est également mal tolérée et tue les cultures de Bd, bien que de petites quantités d'eau résiduelle semblent permettre une survie jusqu'à trois heures. L'exposition aux ultra-violets (UV) demeure sans effet sur ce champignon (Johnson *et al.* 2003).

L'étude de la survie de Bsal en dehors de son hôte et de sa propagation dans l'environnement reste encore à approfondir (Van Rooij *et al.* 2015), cependant, il a été montré que les spores « enkystées » libres résistent et restent infectieuses pour les Salamandres tachetées pendant au moins 31 jours dans l'eau filtrée des étangs et sont plus résistantes à la prédation par le zooplancton que les spores motiles (Stegen *et al.* 2017). De plus, l'ADN de Bsal peut être retrouvé 200 jours dans un sol forestier après la contamination par un individu infecté, cependant, l'infectiosité secondaire n'a été démontrée que jusqu'à 48 heures après contamination du sol par contact avec un animal infecté (Stegen *et al.* 2017). Les capacités saprotrophiques de Bsal, peuvent permettre à certains isolats de survivre dans l'environnement jusqu'à plus d'un an sans hôte amphibien (Kelly *et al.* 2021) et ainsi de provoquer des déclin successifs. Bsal se développe à des températures basses jusqu'à 5 °C, avec une croissance optimale entre 10 °C et 15 °C et ne survit pas au-delà de 25 °C, une préférence thermique inférieure à celle de Bd (Martel *et al.* 2013). En comparant la dynamique d'infection de Bsal à la température optimale du champignon (15 °C) avec celle à 4 °C, il a été montré que les individus développent quand même une infection létale à 4 °C, malgré une infection dont la charge parasitaire est plus lente à croître, indiquant que l'agent infectieux est capable d'infecter et de tuer les amphibiens sur une large plage de températures (Stegen *et al.* 2017).

Pour les ranavirus, une persistance longue de plusieurs semaines dans les eaux et sédiments a été mise en évidence (Hall *et al.* 2016; Gray *et al.* 2017; Miaud *et al.* 2019). Des études ont également montré que les virions peuvent rester infectieux dans les plans d'eau jusqu'à un ou deux mois (plus que dans les sols) à des températures de l'eau allant de 4 °C à 20 °C et qu'ils sont résistants à la dessiccation (Nazir *et al.* 2012; Saucedo *et al.* 2019). En revanche, Brunner *et al.* (2007) révèlent que l'infectiosité virale dans les sédiments inoculés par les ranavirus ATV-like est perdue en quatre jours lorsque les sédiments sont maintenus au sec. Les configurations expérimentales des deux études expliquent ces différences. Brunner *et al.* (2007) n'ont pas quantifié le virus par titrage mais ont mesuré l'infectiosité virale en exposant des larves de salamandres naïves aux sédiments. Ainsi, bien que présents, la quantité de virus dans les sédiments peut avoir été trop faible pour provoquer une infection (Brunner *et al.* 2007; Nazir *et al.* 2012). Les études diffèrent au sujet des tempéra-

tures. En effet, certaines ont montré une augmentation du risque d'infection quand les températures augmentent dans l'environnement (Hemingway 2009; Campbell *et al.* 2020; Palumbo 2021), quand d'autres montrent le contraire expérimentalement (Rojas *et al.* 2005; Brunner & Yarber 2018). Sur des masses d'eau de grande taille, des variations importantes de températures peuvent être observées entre des eaux profondes et de surfaces. Les chercheurs s'attendent alors à ce que les temps de persistance varient considérablement au sein d'un même habitat. Finalement, les résultats de la littérature semblent converger vers une augmentation du risque autour des 15-25 °C, ce qui correspond à l'optimale de survie des ranavirus (18-29 °C) (Palumbo 2021). Les effets d'autres aspects physiques des environnements aquatiques (pH, turbidité) sur la persistance des ranavirus n'ont pas été explorés. Les micro-organismes aquatiques ainsi que le zooplancton interagissent directement avec les virions et peuvent jouer un rôle important dans l'inactivation des ranavirus en eau douce. En effet, le virus est plus résistant en eau stérile qu'en eau non stérile, mais la mesure dans laquelle la composition et l'abondance des différents organismes aquatiques influencent la persistance des ranavirus reste entière (Nazir *et al.* 2012; Brunner & Yarber 2018). Il apparaît que la voie de transmission et le mode d'inactivation du virus sont susceptibles de changer lorsque ce dernier persiste dans les tissus de l'hôte plutôt que de flotter librement dans l'eau. Les carcasses infectieuses peuvent contenir des charges virales très élevées, cependant, la dégradation expérimentale d'une carcasse infectée par un coléoptère charognard réduit la transmission à des niveaux équivalents à ceux observés par des virions rejetés dans l'eau (Brunner & Yarber 2018).

Pour *Brucella* spp., les mycobactéries et les herpèsvirus, la persistance est inconnue.

Bien qu'elle dépende de plusieurs facteurs, on comprend que la dissémination de ces agents infectieux suite aux interventions humaines dans les milieux humides est fortement possible. Les propriétés de transmission des agents infectieux nous montrent qu'ils sont capables de résister lors d'un transport standard sur du matériel de manipulation (i.e. le transport des épuisettes, bottes et instruments ayant été en contact avec l'eau ou les individus lors d'une intervention naturaliste ou scientifique). La mise en évidence de matériel génomique d'un agent pathogène ne préjuge pas de l'infectiosité pour autant.

#### LES AUTRES AGENTS PATHOGÈNES ET PROBLÉMATIQUES EN MILIEU HUMIDE

##### *Les agents pathogènes de poissons et invertébrés aquatiques*

Un grand nombre d'agents infectieux existent chez les poissons sauvages et invertébrés aquatiques (Tableau 1), dont certains font l'objet d'une réglementation par la LSA. Concernant les poissons, les principales maladies à enjeu, pour les filières et pour la conservation en milieu aquatique continental, sont la nécrose hémato-poïétique infectieuse et la septicémie hémorragique virale, maladies endémiques en France pour lesquelles il existe des surveillances sanitaires (<https://agriculture.gouv.fr/maladies-des-animaux-aquatiques>, dernière consultation le 1<sup>er</sup> juillet 2024).

TABLEAU 1. — Les principales pathologies à enjeux de conservation des poissons et invertébrés des milieux aquatiques continentaux ainsi que les principales familles d'espèces sensibles (liste non exhaustive). Les sigles désignent les pathologies ou agents pathogènes sous leur appellations anglophones dans la littérature. D'après (Tiffney 1939; Starliper *et al.* 1997; Feist *et al.* 2002; Kumar *et al.* 2015; Gauthier 2016; Jørgensen von 2017; Philippart 2020), <https://www.vetofish.com> et <http://especies-exotiques-envahissantes.fr/detection-agent-rosette-sphaerothecum-destruens-communautas-piscicoles-france>, dernière consultation le 1<sup>er</sup> juillet 2024 et <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/PDF/?uri=CELEX:32018R1882&from=EN>, dernière consultation le 8 août 2024. Abréviations : **BKD**, bacterial kidney disease; **EHN**, epizootic haematopoietic necrosis virus; **IHN**, infectious hematopoietic necrosis virus; **IPNV**, infectious pancreatic necrosis virus; **KHV**, koi herpesvirus; **KSD**, koi sleepy disease; **LSA**, Loi Santé animale (<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/PDF/?uri=CELEX:32018R1882&from=EN>, dernière consultation le 8 août 2024); **PKD**, polycystic kidney disease; **SVCV**, spring viraemia of carp virus; **VHSV**, Viral haemorrhagic septicaemia virus.

Maladies et agents étiologiques	Listé dans la LSA	Espèces et groupes d'espèces d'eau douce sensibles
Nécrose hématoïétique épizootique (EHN)	Oui	Salmonidae, Percidae
Herpès virose de la carpe koi (KHV)	Oui	Cyprinidae
Septicémie hémorragique virale (VHSV)	Oui	Salmonidae, Mormyridae
Virémie printanière de la carpe (SVCV)	Non	Salmonidae, Cyprinidae, Mormyridae, Siluridae,
Nécrose Hématopoïétique infectieuse (IHN)	Oui	Salmonidae
Nécrose pancréatique infectieuse (IPNV)	Non	Salmonidae, Mormyridae
Anémie infectieuse du saumon	Oui	Salmonidae
Maladie bactérienne du rein (BKD) ( <i>Renibacterium salmoninarum</i> (Sanders & Fryer 1980))	Non	Salmonidae
Furonculose ( <i>Aeromonas salmonicida</i> (Lehmann & Neumann, 1896))	Non	Salmonidae
Maladie entérique de la bouche rouge ( <i>Yersinia ruckeri</i> (Ewing <i>et al.</i> , 1978))	Non	Salmonidae, Cyprinidae
Saprolégniose ( <i>Saprolegnia parasitica</i> (Coker, 1923))	Non	Salmonidae, Cyprinidae
Polykystose proliférative rénale (PKD)	Non	Salmonidae
L'agent rosette ( <i>Sphaerothecum destruens</i> (Arkush <i>et al.</i> , 2003))	Non	Salmonidae, Cyprinidae
Herpès virose de l'anguille (AngHV-1)	Non	Anguillidae
Maladie du sommeil de la carpe (carp Edema virus, KSD)	Non	Cyprinidae
Maladie des points blancs ( <i>Ichthyophthirius multifiliis</i> (Fouquet, 1876))	Non	Toutes espèces
Infection par le virus du syndrome des points blancs	Oui	Astacoidea
Peste de l'écrevisse ou aphanomycose ( <i>Aphanomyces astaci</i> (Schikora, 1906))	Non	Astacoidea

Parmi les agents pathogènes des invertébrés, celui de la peste de l'écrevisse ou aphanomycose (*Aphanomyces astaci* (Schikora, 1906)) est devenu l'un des mieux étudiés au niveau international. Cette espèce fongique est responsable de mortalités massives d'écrevisses autochtones, entraînant des déclin de population depuis son introduction en Europe au milieu du XIX<sup>e</sup> siècle. Les spores infectieuses ne survivent qu'en eau douce (Unestam 1969), entre 2 et 25 °C (Edgerton *et al.* 2002) et durant plusieurs semaines (Svoboda *et al.* 2014). Les paramètres de transmission des agents pathogènes des poissons et invertébrés aquatiques ne seront pas développés dans cette étude, mais il convient de garder à l'esprit que toute intervention en milieu aquatique peut permettre le transport d'autres agents infectieux que ceux des amphibiens.

#### Les agents pathogènes des oiseaux

Les crises d'épizootie d'influenza aviaire hautement pathogène (IAHP), nous obligent à considérer également la transmission d'agents infectieux affectant les oiseaux lors des interventions en milieu humide. Le virus de l'IAHP montre une résistance longue en milieu aquatique. Il a ainsi été montré que les virus provenant de canards naturellement infectés peuvent rester infectieux de plusieurs mois à plus d'un an lorsqu'ils sont dans les eaux de surface filtrées à température ambiante (Ramey *et al.* 2020, 2022). La persistance du virus est variable en fonction de la concentration virale mais aussi des paramètres physico-chimiques de l'eau, comme la température et la salinité. Le virus est ainsi plus résistant en eau douce et froide (Stallknecht *et al.* 1990; Domanska-Blicharz *et al.* 2010). Les milieux humides représentent donc une source de contamination importante et

l'évolution des épidémies est à prendre en compte en matière de biosécurité. Une étude documente également la persistance du virus dans les excréments de canard (ce qui pourrait correspondre à une botte ayant marché dans des fientes lors d'une intervention, ou avant d'arriver en milieu humide). La persistance virale peut alors être de quelques jours (à 30 °C et 20 °C), quelques semaines (à 10 °C) ou plusieurs mois (à 0 °C) (Nazir *et al.* 2011). Les virus influenza A hautement et faiblement pathogènes sont listés dans la LSA (<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/PDF/?uri=CELEX:32018R1882&from=EN>, dernière consultation le 8 août 2024).

D'autres agents pathogènes d'oiseaux le sont également mais ne seront pas détaillés dans cette étude, bien qu'une multitude d'agents infectieux puissent être transportés lors des interventions en milieux humides.

#### Les espèces exotiques envahissantes

Les espèces exotiques envahissantes (EEE) sont des espèces introduites volontairement ou non, hors de leurs aires de répartition naturelles et qui vont menacer les écosystèmes dans lesquels elles sont introduites. Elles peuvent ainsi accaparer des ressources (espace, lumière, ressources alimentaires, habitat), être toxiques, prédatrices des espèces locales ou encore vectrices d'agents infectieux. Les EEE sont aujourd'hui considérées comme l'une des principales menaces pour la biodiversité en France et dans le monde. Les invasions biologiques font partie intégrante du changement global et représentent un danger pour environ un tiers des espèces terrestres et ont largement contribué aux extinctions contemporaines. Ce danger est

d'autant plus grand en territoire insulaire comme la Corse ou les territoires d'outre-mer (Simberloff *et al.* 2013) (<https://www.ecologie.gouv.fr/especes-exotiques-envahissantes>, dernière consultation le 1<sup>er</sup> juillet 2024). Parmi elles, certaines sont concernées par les milieux aquatiques et humides, notamment un grand nombre de plantes aquatiques dont la Crassule d'Helm (*Crassula helmsii* (Cockayne, 1907)), l'Egérie dense (*Egeria densa* (Planch., 1849)), les différents types de Jussie et d'Elodée, le Myriophylle du Brésil (*Myriophyllum aquaticum* (Verdc., 1973)) et le Myriophylle à feuilles variées (*Myriophyllum heterophyllum* (Michx., 1803)), cinq espèces d'écrevisses, quatre espèces de poissons et deux espèces d'amphibiens : la Grenouille-taureau et le Xénope lisse (Commission du développement durable et de l'aménagement du territoire 2022 ; <http://especes-exotiques-envahissantes.fr/>, dernière consultation le 1<sup>er</sup> juillet 2024).

Il convient donc de porter une attention particulière aux matières organiques que les manipulateurs peuvent transporter d'un site à l'autre et qui peuvent contenir des œufs, larves, parasites, végétaux et autres débris organiques à risque de dissémination de ces EEE.

#### LES DANGERS POUR LA SANTÉ HUMAINE : LES ZOONOSES ET MALADIES À RÉSERVOIR ENVIRONNEMENTAL

Certains agents infectieux potentiellement présents sur la peau des amphibiens sont susceptibles de représenter un risque zoonotique. Il s'agit entre autre de *Salmonella* spp., *Aeromonas hydrophila* (Chester, 1901), *Escherichia coli* (T. Escherich, 1885), *Mycobacterium* sp, *Brucella* spp., mais aussi de parasites (Mitchell 2011 ; Miller & Fowler 2015 ; Johnson-Delaney & Gal 2019 ; Rouzic *et al.* 2021).

Les agents infectieux Bd, Bsal et les ranavirus n'ont pas de potentiel zoonotique connu. Dans le cas des alloherpèsvirus la transmissibilité à l'humain n'est pas décrite.

La brucellose des mammifères est l'une des zoonoses bactériennes les plus sérieuses dans le monde. Des souches appartenant au groupe des *Brucella* « atypiques » ont été isolées chez les amphibiens (*B. inopinata-like* BO1 et *B. inopinata-like* BO2). La capacité de transmission des amphibiens à l'humain n'est pas encore clairement définie mais les amphibiens pourraient être des vecteurs, en sachant que les *Brucella* spp. zoonotiques se transmettent principalement par contacts directs ou par consommation de viande crue (Jayson *et al.* 2018). Le premier cas de brucellose humaine, causée par une bactérie dont le génome est identique à une *Brucella* « atypique » (*B. inopinata-like* BO3) isolée chez une Grenouille du Texas importée par un particulier, a été rapporté récemment en France (Rouzic *et al.* 2021). Ceci met en évidence le potentiel zoonotique des *Brucella* affectant les amphibiens. Même si l'impact de la brucellose sur les populations d'amphibiens sauvages semble limité, il convient de mettre en place des mesures de biosécurité vis-à-vis de cette maladie pour une question de santé publique.

Les *Mycobacterium* sp. sont plutôt associées aux poissons et reptiles, chez qui elles provoquent des lésions cutanées nodulaires, mais peuvent également se développer chez les amphibiens (Mitchell 2011 ; Johnson-Delaney & Gal 2019). Les humains sont principalement infectés par *M. tuberculosis* (Zopf 1883) et parfois par d'autres bactéries du complexe

*tuberculosis* tel que *Mycobacterium bovis* (Karlson & Lessel 1970) (zoonotique), qui ne sont pas toutes reconnues pour infecter les amphibiens. En 2018, un cas d'infection d'une Grenouille taureau à *M. bovis* a tout de même été rapporté dans un aquarium public au Brésil (Ikuta *et al.* 2018). D'autres mycobactéries ont été isolées chez les amphibiens : *M. marinum* (Aronson 1926), *M. chelonae* (Bergey *et al.*, 1923), *M. fortuitum* (Da Costa Cruz 1938), *M. abscessus* (Moore & Frerichs 1953), *M. avium* (Chester 1901), *M. szulgai* (Marks *et al.*, 1972), *M. xenopi* (Schwabacher 1959), *M. ulcerans* (MacCallum *et al.*, 1950) (agent étiologique de l'ulcère de Buruli chez l'humain) et *M. liflandi* Mve-Obiang A *et al.*, 2005 (uniquement observée chez les amphibiens) (Green *et al.* 2000 ; Densmore & Green 2007 ; Reavill & Schmidt 2012 ; Willson *et al.* 2013). Bien qu'aucune transmission directe de mycobactéries des amphibiens à l'humain n'ait encore été rapportée, le potentiel zoonotique est présent et les mycobactéries demeurent des agents infectieux à surveiller (Mitchell 2011 ; Johnson-Delaney & Gal 2019 ; Bougeard 2022).

*Aeromonas hydrophila* est la bactérie la plus communément isolée dans les cas publiés de maladies bactériennes cliniques chez les amphibiens, notamment lors de dermato-septicémie bactérienne (Whitaker & Wright 2019). Une infection de l'humain peut survenir par contact avec l'eau et par des blessures infligées par des amphibiens (Miller & Fowler 2015 ; Johnson-Delaney & Gal 2019).

Bien qu'une grande partie de l'attention sur *Salmonella* sp. au cours des dernières années ait été dirigée vers les reptiles, des rapports récents confirment que les amphibiens sont également une classe importante de préoccupation (CDC Centers for Disease Control and Prevention 2011 ; Mitchell 2011).

Alors que Gray *et al.* (2007) ont révélé qu'il était possible d'infecter expérimentalement des amphibiens avec *E. coli* 0157 (Gray *et al.* 2007), une étude plus récente a révélé que les anoures peuvent être naturellement infectés (Dipineto *et al.* 2010). Dans les espèces testées positives, la Rainette aux yeux rouges (*Agalychnis callidryas* (Cope, 1862)) et le Crapaud à ventre de feu (*Bombina orientalis* (Boulenger, 1890)) sont courants parmi les amphibiens captifs aux États-Unis et en Europe (Mitchell 2011).

Le risque de transmission parasitaire aux humains par les amphibiens reste faible dans la mesure où ils servent souvent d'hôtes intermédiaires. Ce risque est cependant plus important lorsque les amphibiens sont consommés (Mitchell 2011).

Les risques pour l'humain ne concernent pas uniquement les agents infectieux propres aux amphibiens. Les agents responsables de zoonoses peuvent être passivement portés par les amphibiens ou simplement présents dans le milieu aquatique. C'est le cas de la leptospirose, une maladie récemment soumise à déclaration obligatoire en France (Haut Conseil de la santé publique 2022), affectant tous les pays et dont la transmission se fait par contact de la peau lésée ou des muqueuses avec les urines d'un animal infecté ou avec des eaux douces et sols contaminés par ces urines ([https://www.inrs.fr/dms/eficatt/FicheEficatt/EFICATT\\_Leptospirose-3/Fiche\\_Leptospirose.pdf](https://www.inrs.fr/dms/eficatt/FicheEficatt/EFICATT_Leptospirose-3/Fiche_Leptospirose.pdf), dernière consultation le 1<sup>er</sup> juillet 2024). Bien qu'une ingestion soit nécessaire, des maladies telles que le choléra

TABLEAU 2. — Rayon de migration et dispersion de certaines espèces courantes d'amphibiens en France. Abréviations : **ND**, aucune donnée disponible. Adapté depuis Matutini *et al.* (2021). Les références associées sont présentées dans Matutini *et al.* (2021: annexe 1) et proviennent principalement de Smith & Green (2005), Sinsch (2014) et Matos *et al.* (2019).

Ordre	Espèces	Rayon de migration (m)	Rayon de dispersion (m)
Anoures	<i>Rana temporaria</i> (Linnaeus, 1758)	50-2200	950-10 000
	<i>Pelodytes punctatus</i> (Daudin, 1802)	< 1200	ND
	<i>Rana dalmatina</i> (Fitzinger in Bonaparte, 1839)	26-2000	ND
	<i>Bufo spinosus</i> (Daudin, 1803)	220-2500	3000-3621
	<i>Hyla arborea</i> (Linnaeus, 1758)	600-4000	1500-12 500
	<b>Espèces européennes (moyenne)</b>	<b>ND</b>	<b>2900</b>
Urodèles	<i>Triturus marmoratus</i> (Latreille, 1800)	100-1000	< 2000
	<i>Triturus cristatus</i> (Laurenti, 1768)	50-1000	250-1000
	<i>Lissotriton helveticus</i> (Razoumovsky, 1789)	150-870	< 1 000
	<i>Salamandra salamandra</i> (Linnaeus, 1758)	30-220	< 500
	<b>Espèces européennes (moyenne)</b>	<b>400</b>	<b>580</b>

(maladie soumise à déclaration obligatoire) peuvent être contractées *via* des milieux aquatiques contaminés. Bien que la France hexagonale en soit indemne, ce n'est pas le cas de la Guyane et Mayotte (<https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/maladies-infectieuses-d-origine-alimentaire/cholera>, dernière consultation le 1<sup>er</sup> juillet 2024). Les milieux aquatiques peuvent également contenir des polluants divers ou permettre une contamination parasitaire des manipulateurs (contamination fécale humaine, introduction d'hôtes intermédiaires).

L'importance de la protection du manipulateur contre les risques infectieux est souvent sous-estimée dans les interventions en milieux humides. Elle est cependant un point essentiel de la biosécurité qu'il convient de considérer dans une approche globale des problématiques permettant l'élaboration des protocoles de biosécurité.

#### RÔLE DE L'HUMAIN

##### DANS LA TRANSMISSION D'AGENTS PATHOGÈNES

Les activités anthropiques jouent un rôle important dans la propagation des agents infectieux des amphibiens (Pauza *et al.* 2010; De Andrade Serrano *et al.* 2022). Les personnes impliquées dans la conservation des amphibiens sont ainsi connues pour être responsables de l'introduction de Bd lors de programmes de renforcement ou réintroduction de populations (Walker *et al.* 2008). L'agent pathogène Bd n'étant pas encore connu au moment de la réalisation du programme, cet exemple montre que les interventions peuvent également permettre la propagation d'agents pathogènes encore inconnus (Blackburn & Ewen 2017). Le principe de précaution doit donc s'appliquer en toute circonstance.

En dehors des agents infectieux des amphibiens, une biosécurité insuffisante peut permettre le transfert d'eau, de substrats, d'œufs et larves, de végétaux (potentiellement infectés ou non) d'espèces exotiques envahissantes et d'agents infectieux d'autres espèces (poissons, écrevisses, oiseaux) entre les plans d'eau (Phillott *et al.* 2010).

Bien que l'importance et l'impact réel du rôle de l'humain dans la transmission des agents infectieux d'amphibiens soient à ce jour non précisés à l'échelle locale (on parle ici des

interventions scientifiques ou naturalistes locales en dehors du commerce d'espèces, de réintroduction ou de transferts internationaux) et restent très difficiles à évaluer, le risque de transmission et de propagation d'agents infectieux connus ou non est réel. Tout manipulateur doit donc être conscient de ce risque et comprendre l'importance du respect des bonnes pratiques d'intervention en toute occasion. Plus précisément, il convient de déterminer dans quelles mesures les interventions envisagées sont susceptibles de contribuer à la propagation des agents infectieux plus qu'ils ne le feraient naturellement, afin de limiter notre rôle dans l'expansion de leur distribution géographique.

#### DÉFINITION DES UNITÉS ÉCOLOGIQUES ET ÉVALUATION DU NIVEAU DE RISQUE

##### DÉFINITION D'UNE UNITÉ ÉCOLOGIQUE

Il est considéré que les interventions humaines ne devraient pas déplacer les agents infectieux à une vitesse ou à une distance plus grande que le mouvement naturel des animaux infectés (ou des matrices eau-air) (Speare *et al.* 2004; Phillott *et al.* 2010; Gray *et al.* 2017). Dans ce but, il paraît judicieux de raisonner en unité écologique, plus qu'en site ou plan d'eau individuel, dans la mesure où les amphibiens évoluent au cours des saisons sur un domaine vital qui peut être très variable d'une espèce à l'autre et pouvant contenir plusieurs milieux aquatiques : portion de cours d'eau, mares, étangs, lacs, fossés, canaux. Une unité écologique peut être définie comme un ensemble de milieux aquatiques fonctionnellement connectés entre eux du fait de leur proximité et de la présence d'habitats terrestres favorables. Il paraît donc pertinent de prendre en compte le domaine vital géographique des amphibiens, son relief et barrières physiques, mais aussi les espèces d'amphibiens présentes ainsi que leurs déplacements.

De nombreux amphibiens au cycle vital biphasique présentent des déplacements saisonniers bidirectionnels (aller-retour), que l'on appelle migration, entre des quartiers d'hivers (des abris d'hivernage terrestres), et des quartiers d'été et sites aquatiques de reproduction (Wells 2007; Romano *et al.* 2017).

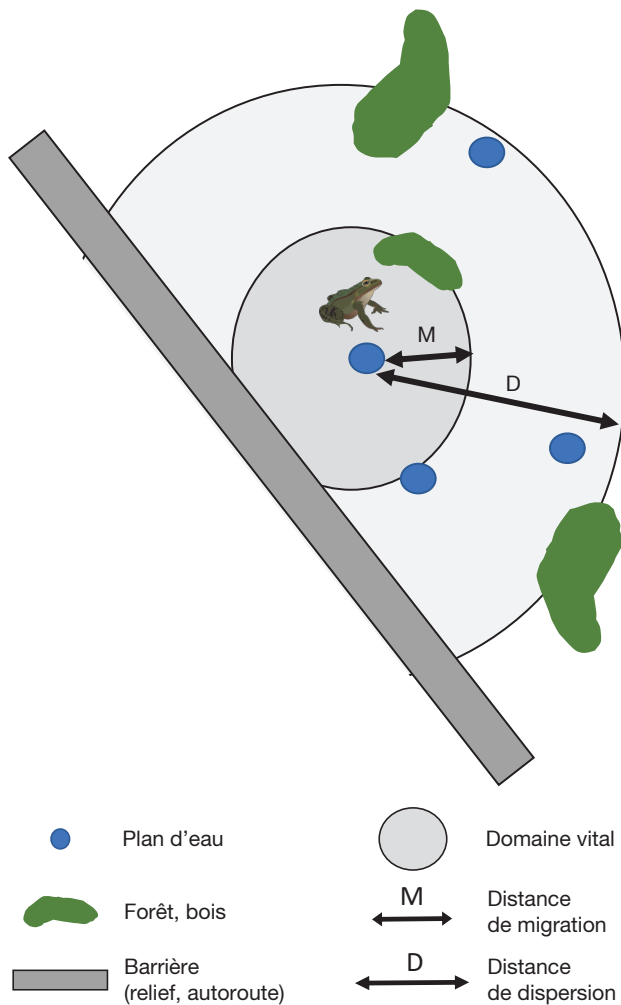


Fig. 4. — Représentation des domaines vitaux et des aires de migrations et dispersions des amphibiens inspiré de Matutini *et al.* (2021).

La plupart montrent deux pics d'activité au printemps et à l'automne. D'autres déplacements, moins fréquents, sont appelés dispersion. Il s'agit d'un mouvement unidirectionnel, souvent unique au cours de la vie d'un individu et sur de plus grandes distances, qui est plutôt observé chez les juvéniles. Le mode de déplacement des amphibiens diffère d'une espèce à une autre : marcheur, nageur, sauteur, coureur, grimpeur. Les domaines vitaux, les aires de migration et de dispersion sont ainsi différents en fonction des espèces (Tableau 2) (Pittman *et al.* 2014; Matutini *et al.* 2021), mais dépendent aussi des barrières physiques de l'environnement et de l'évolution des milieux au cours du temps (Fig. 4). En ce qui concerne la biosécurité, ce sont les distances de migration qui vont nous permettre de définir des domaines vitaux et qui nous intéressent ici. Plusieurs auteurs ont étudié ces distances en fonction des espèces. Dans une étude réalisée en Pays-de-la-Loire en France, Matutini *et al.* (2021) s'appuient sur une synthèse bibliographique de ces distances (Matutini *et al.* 2021: annexe 1) pour étudier les paramètres des modèles de distribution spatiale (Tableau 2) (Matutini *et al.* 2021).

Pour diminuer la transmission d'agents infectieux d'une unité écologique à une autre, certains auteurs recommandent que la décontamination soit effectuée si les sites d'échantillonnage sont distants de plus de 350 mètres (Gray *et al.* 2017). D'après la synthèse de Matutini *et al.* (2021) et Pittman *et al.* (2014), les distances de migrations saisonnières sont comprises entre 100 et 1000 mètres et les populations adultes résident dans un habitat terrestre finalement compris entre 300 et 1000 mètres des sites de reproduction aquatiques (Pittman *et al.* 2014). Une valeur moyenne de 500 mètres est utilisée par Matutini *et al.* (2021). Ainsi, il peut être considéré que l'on passe d'une unité écologique à une autre (et donc qu'un changement d'équipement ou une désinfection sont nécessaires) si les sites aquatiques sont distants de 350 à 500 mètres en fonction des auteurs. Ces valeurs restent cependant à adapter en fonction des espèces présentes, à leur statut de conservation, aux distances de migration de l'espèce et aux contraintes géographiques des unités écologiques ainsi qu'aux relations de bassins versants pouvant exister entre les zones d'eau (Tableau 2).

Pour ces raisons, la connaissance préalable des caractéristiques de ces unités écologiques ainsi que la réalisation d'une analyse de risques complète permettent d'établir des mesures de biosécurité adaptées et optimisées.

#### ÉVALUATION DES RISQUES SANITAIRES ASSOCIÉS À UNE UNITÉ ÉCOLOGIQUE

Plusieurs auteurs préconisent une analyse de risques préalable à de bonnes pratiques de biosécurité et proposent des protocoles différents en fonction du niveau de risque du site d'intervention (Phillott *et al.* 2010; Gray *et al.* 2017; Pessier & Mendelson 2017).

Phillott *et al.* (2010) proposent une méthode de calcul de ce risque, à laquelle s'adapte le protocole de désinfection du matériel entre les unités écologiques. Le calcul d'un score de risque de propagation d'agents pathogènes dépend d'une série de facteurs, notamment :

- les activités entreprises avant le travail sur le terrain ;
- la nature du travail sur le terrain ;
- l'éloignement et la fréquence des visites humaines des sites où le travail est entrepris ;
- la présence ou non d'agents infectieux connus sur un site.

Les scores retenus pour chacun de ces quatre facteurs sont additionnés pour produire un score de risque total qui est ensuite multiplié par le score de conséquence, une valeur reflétant l'état de conservation, d'après l'Union internationale pour la Conservation de la Nature (UICN 2001), des espèces d'amphibiens connues ou susceptibles de se trouver dans la zone de l'activité. Le score de risque global qui en résulte est utilisé pour décider quelles mesures d'hygiène sont nécessaires pour éviter que la propagation des agents infectieux augmente du fait de l'intervention humaine (Phillott *et al.* 2010).

Gray *et al.* (2017) approuvent la démarche d'analyse de risque de l'étude précédente et proposent en 2017 un arbre de décision comme point de départ pour guider la planification et établir des protocoles de décontamination pour le travail sur le terrain (Gray *et al.* 2017).



Ce risque peut être difficile à établir étant donné que la présence d'agents infectieux n'est pas toujours connue (l'analyse de risque n'est pas systématiquement réalisée pour toute unité écologique) et peut évoluer au cours des saisons et des années (Miaud *et al.* 2019; Herath *et al.* 2021). Si le statut est connu, il faut également avoir conscience qu'un site indemne d'agents infectieux d'amphibiens peut ne pas l'être pour d'autres agents notamment affectant les poissons, les invertébrés ou/et les oiseaux (ou encore des agents infectieux non encore décrits). Des mesures d'hygiène minimales restent donc nécessaires quel que soit le statut du site d'intervention, y compris si le risque est évalué comme faible. De plus, le statut de conservation de certaines espèces peut encourager la décision de mesures plus strictes même en l'absence d'agents infectieux identifiés.

La connaissance préalable des paramètres d'une unité écologique ainsi que la réalisation d'une analyse de risques complète associée à cette unité sont toujours avantageuses et permettent la mise en place de mesures de biosécurité pertinentes et adaptées. Pour toutes manipulations d'individus vivants, il convient également de connaître les spécificités et fragilités relatives des espèces présentes.

## MINIMISER LES RISQUES SANITAIRES : LES MESURES DE BIOSECURITE

### GÉNÉRALITÉS

Les mesures de biosécurité ont pour objectif de réduire le risque de transmission d'agents infectieux tout en garantissant la sécurité des amphibiens et la protection des intervenants.

Il est recommandé de choisir du matériel non poreux et facile à désinfecter pour une utilisation sur le terrain (Pessier & Mendelson 2017; Stassen & Lestang 2021).

Lors d'interventions successives dans des milieux humides différents, il sera conseillé de changer d'équipement (changer de bottes et de tête d'épuisette par exemple) (Kast & Hanna 2012; Department of Environment and Heritage Protection 2016; Pessier & Mendelson 2017; Stassen & Lestang 2021) et d'effectuer un nettoyage voire une désinfection avant de quitter une unité écologique (Speare *et al.* 2004; Phillott *et al.* 2010; Department of Environment and Heritage Protection 2016; Gray *et al.* 2017; Pessier & Mendelson 2017; Stassen & Lestang 2021).

En ce qui concerne les véhicules, les auteurs conseillent d'éviter de rouler avec le véhicule proche des zones d'intervention et de rester sur les routes et chemins (Stassen & Lestang 2021). Certains vont considérer que le risque de transmission par un véhicule est moindre et donc qu'aucune mesure particulière n'est nécessaire (Speare *et al.* 2004), d'autres préconisent tout de même une désinfection des roues après nettoyage à l'eau lorsqu'un véhicule a traversé un site d'intervention à haut risque, même si la contamination par les véhicules est considérée comme peu probable (Phillott *et al.* 2010; Kast & Hanna 2012; Department of Environment and Heritage Protection 2016; Gray *et al.* 2017; Pessier & Mendelson 2017; Stassen & Lestang 2021). L'utilisation d'une station de lavage est égale-

ment indiquée (Department of Environment and Heritage Protection 2016; Gray *et al.* 2017). Enfin, certains auteurs suggèrent de ne pas conduire avec les bottes tant qu'elles ne sont pas complètement nettoyées et désinfectées pour ne pas contaminer la zone des pieds de la voiture (Kast & Hanna 2012; Pessier & Mendelson 2017; Stassen & Lestang 2021).

### UTILITÉ DES GANTS ET DÉSINFECTION DES MAINS

Du fait de la fragilité et de la perméabilité de la peau des amphibiens, la composition des gants est à prendre en compte. En effet, il a été montré que les têtards de certaines espèces subissent des effets létaux lorsqu'ils sont exposés à des gants poudrés ou en latex et dans une moindre mesure en nitrile et en vinyle (Gutleb *et al.* 2001; Cashins *et al.* 2008).

### *Prévention de la transmission des agents pathogènes des amphibiens*

Certaines études mettent en évidence une action fongicide intéressante des gants en nitrile : dans l'étude de Mendez *et al.* (2008), toutes les spores de Bd sont détruites au contact des gants en nitrile, mais le lavage à l'eau diminuerait cet effet. Les gants en latex et en polyéthylène quant à eux n'ont eu aucun effet destructeur (Mendez *et al.* 2008). Plus récemment, Thomas *et al.* (2020) montrent que l'eau de rinçage des gants en nitrile tue instantanément 99 % des zoospores de Bd et Bsal.

Les résultats de Mendez *et al.* (2008), appuient l'utilisation d'une nouvelle paire de gants pour chaque nouvel amphibien manipulé et si cela n'est pas possible, l'article préconise les mains nues comme alternative préférable, bien qu'imparfaite, à l'utilisation continue de la même paire de gants (Mendez *et al.* 2008). Bien que Mendez *et al.* (2008) ainsi que Cashins *et al.* (2008) concluent que l'utilisation de nouvelles paires de gants pour chaque animal manipulé est importante pour prévenir la transmission d'agents infectieux, certaines organisations et certains chercheurs interprètent ces résultats comme une justification pour ne pas les utiliser. Les auteurs, soulignent en 2009 que ceci est une mauvaise interprétation de leur message et que l'arrêt de l'utilisation de gants peut entraîner inutilement une propagation d'agents infectieux (Cashins *et al.* 2008; Mendez *et al.* 2008; Greer *et al.* 2009). Contrairement à Mendez *et al.* (2008), Thomas *et al.* (2020) montrent d'ailleurs lors de leurs expériences de transmission utilisant des Crapauds accoucheurs avec Bd et des Tritons alpestres avec Bsal, que l'utilisation de la même paire de gants en nitrile pour deux individus consécutifs n'entraîne pas une transmission significative de ces champignons. En revanche, la manipulation d'amphibiens infectés à mains nues entraîne la transmission de Bsal, mais pas de Bd (Thomas *et al.* 2020).

À l'heure actuelle, la viabilité des ranavirus et herpèsvirus au contact de la peau humaine et des gants n'est pas connue.

La désinfection des mains peut se faire avec de l'éthanol à 70 % puis en laissant les mains sécher à l'air (Phillott *et al.* 2010). En effet, l'éthanol à 70 % serait efficace contre Bsal, Bd et les ranavirus au bout d'une minute (bien que le temps de contact pour les ranavirus reste à être déterminé de manière plus précise; Tableau 3) (Van Rooij *et al.* 2017). Les gels hydroalcooliques sont en général composés d'éthanol à 70 %,

TABLEAU 3. — Efficacité des différentes méthodes de désinfection sur les agents pathogènes des amphibiens Bd, Bsal et les ranavirus. Abréviations : **ADAC**, C12-C16-alkyl chlorure de diméthylammonium ; **BAC**, Chlorure de benzyl alkyldiméthyle ; **Bd**, *Batrachochytrium dendrobatidis* (Longcore, Pessier & D.K.Nichols, 1999) ; **Bsal**, *Batrachochytrium salamandrivorans* A. Martel, M. Blooi, F. Bossuyt, F. Pasmans (2013) ; **DcDAC**, chlorure de dicoco diméthylammonium ; **DDAC**, Chlorure de didécyl diméthyl ammonium ; **EDTA**, acide Éthylène Diamine Tétracétique ; **NA**, Non actif ; **ND**, aucune donnée disponible ; **PHMB**, biguanide de polyhexaméthylène ; **QAC**, composés d'ammonium quaternaire. D'après Langdon 1989 ; Miocevic *et al.* 1993 ; Berger 2001 ; Fitcher & Gardner 2001 ; Johnson *et al.* 2003 ; Speare *et al.* 2004 ; Webb *et al.* 2007 ; Bryan *et al.* 2009 ; Phillott *et al.* 2010 ; Kast & Hanna 2012 ; Nazir *et al.* 2012 ; Gold *et al.* 2013 ; Gray *et al.* 2017 ; Pessier & Mendelson 2017 ; Van Rooij *et al.* 2017.

Produit/méthode	Concentration et dose	Temps minimal efficace				
		Bsal	Bd	Ranavirus		
Ethanol (EtOH)	70 %	30 s	20 s	1 min, 45 min, 2 h		
Virkon S® (Peroxymonosulfate de potassium)	1 %	2 min-5 min	20 s	1 min		
Javel (Hypochlorite de Sodium)	0,20 %	ND	1 min	NA		
	1 %	ND	30 s, 1 min	NA		
	2 %	ND	30 s	ND		
	3 %	ND	30 s, 1 min	1 min		
	4 %	30 s	30 s	ND		
	5 %	ND	ND	1 min		
Ammonium quaternaire (QAC)	Ammonium quaternaire 128 ou Path-XTM (DDAC)	1/500 (5 %)	ND	30 s	ND	
		F10® (BAC, hypochlorure PHMB, ethoxylate d'alcool)	1/3500 (0,028 %)	ND	10 min	ND
		1/3000 (0,033 %)	ND	1 min	ND	
		1 / 1 500 (0,06 %)	ND	1 min	ND	
		1/1000 (0,1 %)	30 s	1 min	ND	
		1 / 500 (0,2 %)	30 s	ND	ND	
		1/250 (0,4 %)	30 s	1 min	ND	
		1/100 (1 %)	30 s	ND	ND	
		TriGene II® (DDAC)	1/500 (5 %)	ND	1 min	ND
		Safe4® (BAC)	Non dilué	30 s	30 s	ND
	Biocidal® (DDAC, ADAC,DcDAC,< 2 % EDTA)	Non dilué	30 s	30 s	ND	
Bétadine® (povidone iodée)	10 %	ND	1 min	ND		
Chlorhexidine (Nolvasan®, Hibiscrub®)	0,25 %	30 s	1 min	NA		
	0,50 %	30 s	ND	ND		
	0,75 %	30 s	1 min	1 min		
	2 %	ND	1 min	1 min		
Permanganate potassium (KMnO4)	1 %	10 min	10 min	NA à 2 et 5 ppm		
	2 %	5 min	5 min			
Peroxyde d'hydrogène (H2O2)	1 %	NA	10 min	ND		
	3 %	NA	2 min	ND		
	6 %	NA	1 min	ND		
Kickstart® (5 % Acide peracétique PAA, 20 % H2O2, 10 % acide acétique AA)	0,01 %	NA	10 min	ND		
	0,05 %	5 min	30 s	ND		
	0,10 %	2 min	30 s	ND		
Chlorure de sodium (NaCl)	1 % et moins	NA	NA	ND		
	5 %	NA	5 min	ND		
	10 %	10 min	2 min	ND		
Température (notamment pour lavage des textiles)	37 °C	ND	4 h	ND		
	40 °C	ND	ND	24 h		
	47 °C	ND	30 min	ND		
	60 °C	ND	5 min	15 min		
	60 °C	ND	30 min			
	100 °C	ND	1 min	ND		
Uvc	ND	ND	NA	2,6 ×10 <sup>4</sup> uW.sec/cm <sup>2</sup>		
Séchage complet (à 22 °C) (dessication)	ND	ND	1 h,3 h	NA		

mais la toxicité des autres composants (polymères, émoullients, huiles, parfums) n'étant pas connue chez les amphibiens, leur sécurité d'emploi n'est donc pas validée en l'état actuel des connaissances. L'utilisation d'éthanol liquide seul et la manipulation à travers des gants sont les pratiques les plus sécuritaires pour éviter les toxicités de contact sur individus vivants tant que d'autres études complémentaires ne sont pas réalisées.

Les protocoles d'hygiène font ainsi consensus pour recommander l'usage de gants en nitrile jetables changés entre chaque

individu (Phillott *et al.* 2010 ; Kast & Hanna 2012 ; Mendez *et al.* 2012 ; Department of Environment and Heritage Protection 2016 ; Gray *et al.* 2017 ; Pessier & Mendelson 2017 ; Thomas *et al.* 2020 ; Stassen & Lestang 2021).

#### Port de gants

#### et prévention des zoonoses et maladies hydriques

Les gants et la désinfection des mains préviennent les risques d'infections bactériennes, virales, fongiques et parasitaires.

TABLEAU 4. — Caractéristiques des gants jetables en fonction de leur composition. Épaisseur non prise en compte dans les performances, donnée ici à titre d'exemple. Abréviations: ++, Bon; +, Moyen; -, Faible; **B**, 3 à 5/18 produits chimiques testés résistent plus de 30 minutes (Niveau 2/3); **J**, n-Heptane; **K**, soude caustique; **L**, Acide sulfurique 96 % 40 %; **P**, Peroxyde d'hydrogène 30 %; **T**, formaldéhyde 37 %. D'après Division santé et sécurité en milieu de travail et d'études 2011, <https://www.gerpac.eu/risque-d-exposition-chimique-et-permeabilite-des-gants> (dernière consultation le 22 mai 2023) et les fiches techniques des gants de protection vinyle et nitrile: [protection-des-mains.com](https://protection-des-mains.com) (dernière consultation le 1<sup>er</sup> juillet 2024), fiche technique gants Latex ANSSEL.

Caractéristiques	Latex (Latex de caoutchouc)	Nitrile (Caoutchouc nitrile butadiène)	Vinyle (Chlorure de polyvinyle)
Épaisseur (mm) (Dépend du fabricant)	Doigt 0,20 Paume 0,16	Doigt 0,12 Paume 0,09	Doigt 0,09 Paume 0,08
Temps d'efficacité	15-30 min	15-30 min	15 min
Confort et manipulation	++	+	-
Résistance mécanique	++	++	-
Force à la rupture (Newtons)	≥ 6	≥ 6	3,6
Résistance chimique	+	++	-
Type de résistance chimique (A, B, C)	B (KLT)	B (JKPT)	B (KPT)
Spectre de protection	++ Bactéries, champignons et virus	++ Bactéries, champignons et virus	++ Bactéries, champignons et virus
Composés à éviter	Organiques sauf carbonyles, hydrocarbures, produites huileux	Carbonyles, amines	Organiques
Coût	+	++	-
Risque de réactions et allergie	++	-	-

Pour la protection du manipulateur face aux zoonoses ou des maladies à réservoir environnemental, notamment la leptospirose en milieu humide, le port de gants est fortement indiqué, tout comme le sont le port de bottes, de lunettes de protection et une désinfection des mains à l'éthanol 70 % (Tableau 3) ([https://www.inrs.fr/dms/eficatt/FicheEficatt/EFICATT\\_Leptospirose-3/Fiche\\_Leptospirose.pdf](https://www.inrs.fr/dms/eficatt/FicheEficatt/EFICATT_Leptospirose-3/Fiche_Leptospirose.pdf), dernière consultation le 1<sup>er</sup> juillet 2024).

Les gants se dégradent au cours de leur utilisation du fait de l'étirement répété. Cette dégradation est indétectable à l'œil nu mais entraîne une perméabilité aux micro-organismes. Il est donc conseillé de changer de gants régulièrement, toutes les 15 à 30 minutes (recommandations des fabricants). Leurs résistances mécanique et chimique ainsi que le temps d'imperméabilité dépendent de leur composition et de leur épaisseur (Tableau 4).

#### NETTOYAGE ET RETRAIT DES MATIÈRES ORGANIQUES

Les désinfectants présentent une inefficacité notoire en présence de matière organique. Même avec un produit dit tolérant comme le Virkon S<sup>®</sup>, il convient d'effectuer un nettoyage scrupuleux et de retirer toutes les matières organiques visibles à l'aide d'eau et d'une brosse pour permettre un temps de contact adéquat entre les produits désinfectants et les agents infectieux. C'est d'autant plus le cas de l'eau de javel et des désinfectants à base de chlorhexidine dans leurs actions contre Bd et Bsal (Van Rooij *et al.* 2017). Ainsi il est systématiquement nécessaire de réaliser un nettoyage du matériel avant d'effectuer la désinfection. Ce nettoyage peut être réalisé directement sur le site d'intervention avec l'eau du milieu aquatique afin de laisser sur place les œufs, larves et débris végétaux et organiques, évitant ainsi de les transporter (Speare *et al.* 2004; Webb *et al.* 2007; Phillott *et al.* 2010; Kast & Hanna 2012; Department of Environment and Heritage Protection 2016; Gray *et al.* 2017; Pessier & Mendelson 2017; Stassen & Lestang 2021).

#### DÉSINFECTION ET ÉTUDE DES DÉSINFECTANTS

Les désinfections sont recommandées en fonction du niveau de risque du site d'intervention (Phillott *et al.* 2010; Gray *et al.* 2017). Le choix des désinfectants utilisés doit non seulement prendre en compte l'efficacité des produits sur les agents pathogènes à enjeux (Tableaux 3 et 5) mais aussi l'impact environnemental de ces derniers (Annexe 1) (Gray *et al.* 2017; Pessier & Mendelson 2017; Stassen & Lestang 2021).

#### Efficacité des désinfectants sur les agents pathogènes des amphibiens

De nombreuses études ont testé l'efficacité des désinfectants sur les ranavirus, Bd et Bsal (Tableau 3).

Il a ainsi été montré que l'exposition à 70 % d'éthanol (EtOH), 1 % de Virkon S<sup>®</sup>, 0,75 % de chlorhexidine, 4 % d'hypochlorite de sodium (eau de javel) sont, entre autres, efficaces pour inactiver Bd, Bsal et les ranavirus (Johnson *et al.* 2003; Bryan *et al.* 2009; Gold *et al.* 2013; Van Rooij *et al.* 2017).

En ce qui concerne l'éthanol à 70 %, peu de précisions sont apportées sur la nature de l'éthanol utilisé. De plus, les auteurs n'ayant pas testé un temps de contact inférieur à 45 minutes, des études complémentaires seraient bienvenues pour préciser le temps de contact minimal nécessaire (Bryan *et al.* 2009). Un temps de contact d'une minute est cependant indiqué dans la plupart des protocoles sur les ranavirus (Speare *et al.* 2004; Phillott *et al.* 2010; Kast & Hanna 2012; Van Rooij *et al.* 2017; Stassen & Lestang 2021) car l'éthanol à 70 % est décrit comme virucide en une minute sur les virus enveloppés (Sauerbrei 2020) ce qui suppose une efficacité sur les ranavirus, même si ces derniers ont une capacité à être infectieux avec et sans enveloppe (Jancovich *et al.* 1997; Chinchar *et al.* 2017). L'éthanol est également recommandé et utilisé pour la désinfection des instruments sur le terrain et en laboratoire ainsi que pour la désinfection des mains lors des manipula-

TABLEAU 5. — Efficacité de l'éthanol et Virkon S® sur quelques-uns des principaux agents pathogènes à enjeux de conservation des amphibiens, poissons, écrevisses et oiseaux, ainsi que sur certains agents de zoonose présents en milieu humide. La plupart des études sur les agents pathogènes de poissons sont réalisées avec le Virkon aquatic® (VA) et non le Virkon S® mais le principe actif du produit reste le même. Les sigles désignent les pathologies sous leur appellations anglophones dans la littérature. D'après Langdon 1989; Best *et al.* 1990; Griffiths *et al.* 1997; Hernandez *et al.* 2000; Berger 2001; Fitzherbert & Gardner 2001; Johnson *et al.* 2003; Kasai *et al.* 2005; Kiryu *et al.* 2007; Bryan *et al.* 2009; Bowker *et al.* 2011; Mainous *et al.* 2011; Yanong & Erlacher-Reid 2012; Worth Calfee & Wendling 2012; Shumei *et al.* 2013; Jahid & Ha 2014; Jang *et al.* 2014; Jussila *et al.* 2014; El-Gohary *et al.* 2015; Yamasaki *et al.* 2017; Van Rooij *et al.* 2017; Rahman & Choi 2018; Tidbury *et al.* 2018; Dapgh *et al.* 2019; Tedesco *et al.* 2019; [https://www.inrs.fr/dms/eficatt/FicheEficatt/EFICATT\\_Leptospirose-3/Fiche\\_Leptospirose.pdf](https://www.inrs.fr/dms/eficatt/FicheEficatt/EFICATT_Leptospirose-3/Fiche_Leptospirose.pdf) (dernière consultation le 1<sup>er</sup> juillet 2024); les fiches techniques Virkon aquatic® DUPONT et Virkon S® LANXESS. Abréviations: \*, Maladie répertoriée dans la LSA (Loi de santé animale, <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/PDF/?uri=CELEX:32018R1882&from=EN>, dernière consultation le 8 août 2024); **BKD**, bacterial kidney disease; **EHN**, Epizootic Haematopoietic Necrosis Virus; **IHN**, Infectious hematopoietic necrosis virus; **IPN**, Infectious pancreatic necrosis virus; **KHV**, Koi herpesvirus; **KSD**, Koi Sleepy Disease; **LSA**, Loi Santé Animale; **ND**, aucune donnée disponible **PKD**, Polycystic kidney disease; **SVCV**, Spring Viraemia of Carp Virus; **VA**, Virkon Aquatic; **VHSV**, viral haemorrhagic septicaemia virus.

Groupes	Maladies et agents étiologiques	Temps minimal efficace	
		Virkon S® 1 % (u Virkon Aquatic® 1 %)	Ethanol 70 %
Amphibiens	Ranaviroses (Ranavirus)	1 min	(1 min) 45 min, 2 h
	Chytridiomycose ( <i>Batrachochytrium dendrobatidis</i> (Longcore, Pessier & D.K.Nichols, 1999))	20 s	20 s
	Chytridiomycose* ( <i>Batrachochytrium salamandrivorans</i> A. Martel, M. Blooi, F. Bossuyt, F. Pasmans (2013))	2-5 min	30 s
Poissons	Nécrose hématopoïétique épizootique* (EHN, Iridovirus, ranavirus)	1 min (VA)	2 h
	Herpès virose de la carpe koi* (KHV, Herpèsvirus)	ND	30 s (à 40 %)
	Septicémie hémorragique virale* (VHSV, Rhabdovirus)	10 min (VA)	Efficace
	Virémie printanière de la carpe (SVCV, Rhabdovirus)	10 min (VA)	30 s (à 50 %)
	Nécrose Hématopoïétique infectieuse* (IHN, Rhabdovirus)	5 min (VA)	ND
	Nécrose pancréatique infectieuse (IPN, Bornavirus)	2-5 min, 10 min (VA)	Efficace
	Anémie infectieuse du saumon* (Orthomyxovirus)	10 min (VA)	ND
	Maladie bactérienne du rein (BKD <i>Renibacterium salmoninarum</i> (Sanders & Fryer 1980))	10 min (VA)	ND
	Furonculose ( <i>Aeromonas salmonicida</i> (Lehmann & Neumann, 1896))	5 min (VA)	1 min
	Maladie entérique de la bouche rouge ( <i>Yersinia ruckeri</i> (Ewing <i>et al.</i> 1978))	5 min (VA)	30 s (dès 40 %)
Invertébrés	Saprologniose ( <i>Saprolegnia parasitica</i> (Coker, 1923))	Traitement bains 10 jours 4 ppm MIC = MLC = 1 ppm	ND
	Peste de l'écrevisse ( <i>Aphanomyces astaci</i> (Schikora, 1906))	10 min	ND
Oiseaux	Influenza aviaire* (virus influenza A)	1 min, 5 min	5 min
Zoonoses	Leptospirose ( <i>Leptospira</i> spp.)	10 min (notice)	Efficace
	Brucellose ( <i>Brucella</i> spp.)	10 min (notice)	Efficace ( <i>B. suis</i> Huddleson, 1929)
	Mycobactériose ( <i>Mycobacterium</i> sp.)	5 min ( <i>M. segmatis</i> (Trevisan 1889)) <i>M. chelonae</i> (Bergey <i>et al.</i> 1923) résistant	1 min
	<i>Aeromonas</i> sp.	5 min	1 min

tions (Speare *et al.* 2004; Phillott *et al.* 2010; Kast & Hanna 2012; Gray *et al.* 2017; Van Rooij *et al.* 2017).

Aucune étude n'a vérifié l'efficacité des désinfectants sur les alloherpèsvirus des amphibiens.

Finalement, sur la base des résultats *in vitro*, ainsi qu'en prenant en compte le coût et les effets nocifs des désinfectants sur l'environnement, les auteurs recommandent 1 % de Virkon S®, 3-4 % d'hypochlorite de sodium et 70 % d'éthanol pour désinfecter l'équipement sur le terrain, en laboratoire ou en captivité, avec un temps de contact minimal de cinq minutes (pour Bsal, car les conditions de désinfection sont jugées sous-optimales avec un temps de contact d'une minute) pour le Virkon S® et une minute pour les autres désinfectants (Tableau 3), bien que le temps de contact minimal de l'éthanol à 70 % reste à être déterminé plus rigoureusement (Speare *et al.* 2004; Phillott *et al.* 2010; Kast & Hanna 2012; Department of Environment and Heritage Protection 2016; Gray *et al.* 2017; Pessier & Mendelson 2017; Van Rooij *et al.* 2017; Stassen & Lestang 2021).

#### Autres molécules au potentiel intéressant

D'autres désinfectants pourraient avoir un intérêt sur les agents pathogènes des amphibiens bien que leur efficacité n'ait pas été spécifiquement testée. C'est le cas de l'acide peracétique, l'acide acétique ou le peroxyde d'hydrogène, souvent associés comme par exemple dans l'AXISURF® DHN (acide peracétique 7,3 %, peroxyde d'hydrogène 0,2 %, acide acétique < 2,5 %), un produit à usage vétérinaire bactéricide et fongicide en 30 secondes, virucide en cinq minutes (<https://www.axienc.fr/product/77>, dernière consultation le 1<sup>er</sup> juillet 2024). Les composants de ce produit ont été montrés comme efficaces sur Bd et Bsal sous la forme du Kickstart® (5 % Acide peracétique PAA, 20 % H2O2, 10 % acide acétique AA) mais à des concentrations différentes (Van Rooij *et al.* 2017) (Tableau 3). L'AXISURF® Spray ND, spécialité vétérinaire composée d'un mélange d'éthanol à 24 % et de chlorure de didécyltriméthylammonium (DDAC) à 0,14 % décrit comme bactéricide en cinq minutes, virucide en 10 minutes et fongicide

en 15 minutes pourrait également avoir un intérêt (<https://www.axienc.fr/product/85>, dernière consultation le 1<sup>er</sup> juillet 2024) au vu de l'efficacité de ses composants (Tableau 3).

Les vinaigres blancs ou ménagers, dont le principe actif est l'acide acétique, sont de plus en plus utilisés pour leurs effets détergents et dégraissants. L'acide acétique possède une activité bactéricide prouvée (Ryssel *et al.* 2009; Fraise *et al.* 2013; Zinn & Bockmühl 2020) contre des bactéries gram – et gram + à une concentration de 3 % avec un temps de contact allant de 5 à 60 minutes (Ryssel *et al.* 2009) et son efficacité ne dépend pas de la charge organique (Fraise *et al.* 2013). Pour certains micro-organismes (e.g., *E. coli*), une concentration de 10 % et une addition d'acide citrique est nécessaire lors de tests en suspension (Zinn & Bockmühl 2020). L'acide acétique se montre également efficace contre les biofilms bactériens à *Pseudomonas aeruginosa* (Schroeter, 1872) et *Staphylococcus aureus* (Rosenbach, 1884) (Bjarnsholt *et al.* 2015). Un effet virucide de l'acide acétique a été mis en évidence contre un virus enveloppé, le virus modifié de la vaccine Ankara (MVA) (Zinn & Bockmühl 2020) et contre le SARS-CoV-2 (Yoshimoto *et al.* 2021). L'effet antifongique de l'acide acétique a quant à lui été montré contre *Candida albicans* (Berkhout, 1923) à une concentration de 5 % (Zinn & Bockmühl 2020). L'acide acétique pourrait donc être un bon candidat à un protocole de désinfection si son action contre Bd, Bsal et les ranavirus était démontrée.

Pour les équipements absorbants en néoprène, des désinfectants utilisés pour le matériel de plongée peuvent être envisagés comme par exemple le SeptiOne néoprène Pro de la gamme AbyssNaut®, virucide, bactéricide et fongicide avec un temps de contact de 10 minutes par trempage à une dilution de 0,5 %. Bien que non testé sur les agents pathogènes des amphibiens, ce désinfectant contient un composé d'ammonium quaternaire (DDAC) (fiche technique du SeptiOne-pro ABYSSNAUT®) montré comme étant efficace sur Bd (Tableau 3).

Une étude compare l'efficacité antimicrobienne des savons classiques et antiseptiques et montre que les savons antiseptiques sont plus efficaces contre les bactéries Gram-négatifs et Gram-positifs que les savons ordinaires. Bien que ces derniers montrent une activité antimicrobienne, celle-ci dépend pour beaucoup de la composition et des ingrédients utilisés. Les savons contenant certains extraits de plantes peuvent ainsi avoir une activité inhibitrice voire bactéricide (Rama Bhat *et al.* 2011).

#### *Efficacité du Virkon S® et de l'éthanol sur les agents pathogènes d'autres espèces*

En ce qui concerne les agents infectieux des autres espèces, nous choisissons de détailler deux désinfectants : le Virkon S® et l'éthanol, qui sont les plus utilisés et recommandés dans la littérature et pour lesquels il nous paraît pertinent de détailler le spectre d'action. Les données concernant l'efficacité d'autres désinfectants sur ces agents infectieux sont aussi bien moins nombreuses dans la littérature.

Le Virkon S® à 1 % et l'éthanol 70 % sont efficaces sur de nombreux agents infectieux en milieu humide avec des temps de contact minimum différents (Tableau 5). Aussi, si cinq minutes de contact sont efficaces sur les agents pathogènes des amphibiens

avec le Virkon S®, dix minutes sont nécessaires pour la plupart des autres agents pathogènes présents en milieu aquatique, ce qui correspond également aux recommandations du produit dans une utilisation virucide et bactéricide à une dose de 1 % (fiche technique des distributeurs DUPONT et LANXESS).

En ce qui concerne l'éthanol un temps de contact d'une à cinq minutes est efficace contre la plupart des agents pathogènes d'espèces aquatiques. Il est bon de noter que les études n'ont pas testé un temps de contact moins long que celui décrit ici (Tableau 5). Il se peut donc qu'un temps de contact réduit soit également efficace, mais des études complémentaires sont nécessaires pour le vérifier.

Les résistances naturelles au Virkon S® existent. Il a ainsi été montré notamment, que les bactéries *Mycobacterium chelonae* n'y sont pas sensibles (Griffiths *et al.* 1997).

#### PROPRIÉTÉS ÉCOTOXIQUES DES DÉSINFECTANTS

##### *Gestion des effluents : bonnes pratiques et critères de choix des désinfectants*

Quel que soit le désinfectant choisi, son contact direct avec les individus amphibiens doit soigneusement être évité du fait de la toxicité de ces substances pour ces espèces (Bryan *et al.* 2009; Norton *et al.* 2019) (Annexe 1).

Certains auteurs indiquent que l'écotoxicité des désinfectants sur l'environnement est à considérer et que les rejets dans le milieu naturel, notamment dans les milieux aquatiques, ne sont pas souhaitables. Ils conseillent alors de prévoir une gestion des effluents issus de la désinfection soit dans des bacs transportables soit en se plaçant sur des zones goudronnées à distance des points d'eau (Phillott *et al.* 2010; Kast & Hanna 2012; Department of Environment and Heritage Protection 2016; Gray *et al.* 2017; Pessier & Mendelson 2017; Stassen & Lestang 2021).

En effet, les désinfectants, même ceux possédant des propriétés dites « biodégradables », restent des biocides. Les temps de persistance des désinfectants ainsi que leur propriétés écotoxiques (Annexe 1) sont à prendre en compte dans le choix des produits et en fonction de l'utilisation qui en est faite. De plus, il convient de s'assurer qu'ils possèdent une Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) et sont donc utilisables en France (<https://www.anses.fr/fr/content/registre-des-amm-de-produits-biocides>, dernière consultation le 1<sup>er</sup> juillet 2024).

Les effets de ces molécules sur l'environnement vont bien évidemment dépendre des concentrations utilisées et de la dilution pratiquée. Les recommandations des fiches de données de sécurité prévoient une gestion des effluents conforme à la directive 2008/98/CE et indiquent de ne pas procéder à une élimination dans l'environnement. Certains préconisent une gestion des déchets par une filière de traitement spécialisée et une entreprise agréée quand d'autres indiquent simplement qu'elle doit se faire en accord avec les réglementations locales (Fiche de données de sécurité TrigenelII® CEVA, AXISURF® DHN AXIENCE, AXISURF® SPRAY ND AXIENCE, Kickstart® CID LINES, eau de javel NOTILIA GROUPE, Virkon S® LANXESS, Ethanol 70 % GILBERT). Dans les cas où une gestion spécialisée est impossible, la question de

l'impact réel d'une forte dilution du produit dans les eaux usées ou sur le sol se pose, y compris pour les produits considérés comme rapidement biodégradables ou à faibles impacts environnementaux. Pour évaluer précisément cela, il conviendrait de réaliser une étude précise de toxicité environnementale *in situ* en comparant si cette pratique n'est pas supérieure aux concentrations prédites sans effet (PNEC) (Annexe 1).

#### *Avantages et inconvénients du Virkon S°*

Le Virkon S° est principalement constitué de sels inorganiques. Le complexe Peroxymonosulfate de potassium (ou Oxone) est un agent oxydant qui agit sur le chlorure de sodium lorsque la poudre est diluée dans l'eau et libère des radicaux libres oxydants (Cl°, OH° et O°). Cette réaction permet la formation de formes radicalaires délétères pour les membranes, les enzymes et le génome des organismes procaryotes. Le complexe se dégrade ensuite en ions inorganiques courants (sulfate, carbonate, potassium et hydrogène) (fiche technique du distributeur DUPONT).

La solution préparée à 1 % reste stable pendant environ cinq jours et la perte de la couleur rose est un témoin de l'inactivité de la solution (fiche technique du distributeur DUPONT).

La biodégradabilité du Peroxymonosulfate de potassium (le premier composant du Virkon S°) ne peut être évaluée au vu de son caractère inorganique, mais son second composé est considéré comme facilement biodégradable (83 % en 28 jours OCDE 31B, Annexe 1) (Fiche de données de sécurité LANXESS). Il est également utilisable en agriculture biologique (en application du RCE n° 834/2007). La valeur de la PNEC dans les stations d'épuration est élevée soit 108 mg/l (Annexe 1) (Fiche de données de sécurité Peroxymonosulfate potassium THERMOFISHER) et le fabricant indique ainsi que le Virkon S° ne contrarie pas l'activité des micro-organismes des stations d'épuration une fois dilué dans les eaux de vidange (fiche technique du distributeur DUPONT). Bien que le Virkon S° ne soit pas, comme d'autres désinfectants, considéré comme très toxique, il est tout de même classé H412 « Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme » (Annexe 1). De ce fait, il est recommandé d'empêcher « le produit de pénétrer dans les cours d'eau ou le sol » et de « ne pas contaminer les étangs, les voies navigables ou les fossés avec des résidus de produits chimiques » (Fiche de données de sécurité LANXESS).

En 2017, une étude montre que les solutions de Virkon Aquatic° (principe actif identique au Virkon S°, commercialisé aux États-Unis) sont désactivées par des matières organiques après quatre à 24 h d'exposition (Stockton-Fiti & Moffitt 2017). Dans son étude de toxicité des désinfectants, Schmidt *et al.* (2009) montrent que l'application de 1 % de Virkon S° dans un aquarium extérieur à une dose diluée mimant une quantité ruisselant d'une botte (équivalent à une forte dose sur le terrain soit 0,005 % de solution préparée de Virkon S° à 1 %) n'a mené à aucune différence clinique sur le comportement des têtards de Grenouille rousse et Crapaud commun avec le groupe témoin et aucune réduction du zooplancton n'est observée (Schmidt *et al.* 2009). Ces résultats sont à nuancer car le protocole ne permet de détecter qu'une mortalité aigüe et massive et le faible nombre d'animaux utilisés (n = 10) ne permet pas de considérer

cette étude comme suffisante comme preuve complète d'innocuité. Une autre étude en 2012 teste trois concentrations de Virkon S° (0 ; 0,5 mg/L soit 0,0005 % et 5 mg/L soit 0,005 %) en se basant sur l'étude précédente, sur les premiers stades de vie de *Rana arvalis* (Nilsson, 1842). Le Virkon S° n'a pas montré d'effet significatif : la survie embryonnaire est forte pour toute concentration, le pourcentage d'anomalies des embryons reste faible et la taille des têtards n'est significativement pas différente entre les trois doses. Cependant, les auteurs remarquent que le succès à l'éclosion est plus élevé dans le groupe témoin, ce qui suggère que le Virkon S° peut avoir de faibles effets négatifs sur les embryons d'amphibiens. Les auteurs recommandent alors que le Virkon S° soit utilisé avec précautions dans les milieux aquatiques (Hangartner & Laurila 2012).

Concernant les autres taxons, des études d'efficacité du Virkon Aquatic° ont été réalisées sur des escargots aquatiques (New Zealand mudsnails, *Potamopyrgus antipodarum* (J.E.Gray, 1843)), moules (quagga mussels, *Dreissena rostriformis bugensis* (Andrusov, 1897)) et poissons (Truite arc-en-ciel, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792)). Bien que ce produit soit différent du Virkon S°, le principe actif reste le même et ces études n'en sont pas moins intéressantes pour comprendre les effets de ces molécules. Ainsi, il est montré qu'un bain de 20 minutes à 20 g/L (2 %) de Virkon Aquatic° est toxique pour les escargots et les moules (Stockton & Moffitt 2013 ; Stockton-Fiti & Moffitt 2017). Après une application par spray, 99 % des escargots adultes et juvéniles sont tués après 30 minutes de contact (Stockton & Moffitt 2013). L'exposition pendant 48 heures à la concentration la plus faible (0,5 mg/L (0,005 %)) n'a entraîné aucune mortalité sur les poissons, cependant, une mortalité rapide a été observée aux concentrations les plus élevées testées, tous les poissons étant éliminés après une exposition inférieure à 30 minutes à 80 mg/L (0,8 %) (Stockton-Fiti & Moffitt 2017).

Ceci nous montre que le Virkon (S° ou Aquatic°) peut s'avérer efficace pour limiter la propagation anthropique d'espèces et microorganismes potentiellement envahissants. Cependant, son utilisation généralisée dans les milieux humides peut avoir un impact négatif sur les espèces aquatiques, notamment les invertébrés et microorganismes. Gray *et al.* (2017) affirment ainsi que l'utilisation généralisée de Virkon S° qui tue également les bactéries et les champignons bénéfiques des écosystèmes n'est pas souhaitable sur une vaste zone géographique (Gray *et al.* 2017). Cela risquerait de perturber la composition et la structure des microbiotes environnementaux (par exemple les biofilms) qui ont des fonctions essentielles au bon fonctionnement des écosystèmes, mais aussi des microbiotes associés aux animaux qui peuvent faire office de barrière face aux agents pathogènes tels que Bd, Bsal et les ranavirus (Harris *et al.* 2006 ; Brunner & Yarber 2018 ; Bernardo-Cravo *et al.* 2020 ; Sentenac *et al.* 2022).

#### *Avantages et inconvénients de l'éthanol*

L'éthanol étant volatile, la gestion des effluents issus de la désinfection du matériel est facilitée. Son évaporation est complète, il ne laisse donc aucun résidu carboné sur les équipements après évaporation (Bellanger 2021). Cependant, cette évaporation rapide implique un temps de contact réduit entre

TABLEAU 6. — Synthèse des recommandations de biosécurité lors d'intervention en milieu humide sur les amphibiens sauvages.

Catégories	Mesures de biosécurité				
Organisation des interventions	<p>Analyse de risque et rédaction d'un protocole adapté préalable.</p> <p>Commencer par les sites indemnes, puis de statut inconnu et enfin les sites connus comme contaminés.</p> <p>Calcul du nombre de plan d'eau et individus minimum nécessaires.</p> <p>Connaissances géographiques des unités écologiques et de leurs distances.</p> <p>Connaissances biologiques des unités écologiques (espèces présentes, statuts de conservation et autorisations de manipulation).</p> <p>Procéder d'amont en aval pour les cours d'eau (évitte la remontée des agents infectieux).</p> <p>Éviter toute entrée dans l'eau inutile (personnes, mains et équipement).</p> <p>Rester sur les berges quand cela est possible (limite le besoin de désinfection).</p> <p>Sortir tout le matériel et répartir les rôles de chacun (diminution du temps de manipulation).</p>				
Choix du matériel	<p>Pesticides, fumées, parfum, huiles, crèmes à proscrire.</p> <p>Sacs Ziploc® et petits bacs faciles à désinfecter pour le maintien des animaux.</p> <p>Matériaux non poreux (bottes et épuisettes à revêtement en caoutchouc).</p> <p>Gants non poudrés, en Nitrile.</p> <p>Plusieurs jeux d'équipements si plusieurs unités écologiques sont visitées le même jour (paires de bottes, têtes d'épuisette). <i>A minima</i> deux jeux d'équipement pour mettre le premier à désinfecter et utiliser le second.</p> <p>Prévoir des bacs refermables et grand sacs Ziploc® pour réaliser les désinfections aux véhicules.</p>				
Interventions successives	<p>Deux milieux humides séparés de plus de 500 m représentent deux unités écologiques différentes (en moyenne, à adapter).</p> <p>Changer d'équipement entre deux unités écologiques (bottes, têtes d'épuisette).</p> <p>Procéder au nettoyage et désinfection des équipements ayant été en contact avec l'eau et les individus entre chaque unité écologique quand plusieurs d'entre elles sont visitées le même jour. Le reste des équipements pourra être désinfecté une fois de retour au local.</p>				
Manipulations	<p>Manipuler toujours avec des gants en nitrile changés entre chaque unité écologique ou toutes les 30 minutes (praticité et diminution des déchets). Changement entre chaque plan d'eau, chaque espèce voire entre chaque individu en fonction du niveau de risque et du statut de conservation des espèces présentes.</p> <p>Des gants longs peuvent être portés sous les gants en nitrile si le bras doit être plongé dans l'eau.</p> <p>Manipuler le moins et le plus rapidement possible.</p> <p>Utiliser un bac pour le maintien des individus (maintenir à l'ombre).</p> <p>Chaque adulte doit être maintenu individuellement, les têtards d'un milieu commun et proche de quelques mètres peuvent être maintenus en groupe. Changement d'eau toutes les 60 minutes.</p> <p>Relâcher le plus rapidement et sur le même lieu que celui de la capture.</p> <p>Relever les nasses et pièges le plus souvent possible pour ne pas créer de surdensité artificielle.</p> <p>Pour la récupération des cadavres, utiliser une épuisette quand celui-ci est dans l'eau et l'attraper à travers un sac retourné qui sera fermé de manière à éviter l'écoulement de liquides. Retirer les gants, laver et désinfecter les mains.</p> <p>Éviter de manipuler avec des plaies sur les mains, si cela est impossible protéger les plaies par des pansements étanches.</p> <p>Lavage des mains à l'eau et au savon et désinfection à l'éthanol 70 % avec un séchage à l'air libre.</p>				
Protocole de nettoyage et désinfection	<table border="0"> <tr> <td data-bbox="300 1581 400 1608">Nettoyage</td> <td data-bbox="628 1581 1461 1653"> <p>À réaliser avant toute désinfection.</p> <p>Sur le site d'intervention avec l'eau du site et une brosse afin de laisser sur places les débris organiques (végétaux, œufs, parasites, boues, etc.).</p> <p>À l'eau chaude et éventuellement avec du savon avant la désinfection réalisée au local.</p> </td> </tr> <tr> <td data-bbox="300 1675 448 1724">Choix des désinfectants</td> <td data-bbox="628 1675 1461 1998"> <p>Prendre en compte l'efficacité (Tableau 3) et les effets écotoxicologiques (Annexe 1). L'éthanol 70 % liquide ou en lingettes imbibées, avec un temps de contact d'une minute est plus adapté au terrain car volatil, à utiliser dans un bac fermé ou sac Ziploc® contenant le liquide ou les lingettes afin que l'évaporation ne soit pas trop rapide.</p> <p>Le Virkon S® 1 %, avec un temps de contact de cinq minutes (Bd, Bsal et ranavirus) ou 10 minutes si des agents pathogènes d'autres espèces sont connus. Utilisation en spray ou en bain, préférer une fois de retour au local ou en spray sur le terrain pour des sites à risque important.</p> <p>Le SeptiOne néoprène Pro® 0,5 % (ou un autre désinfectant pour matériel en néoprène) temps de contact 10 minutes par trempage, à utiliser au local uniquement sur les équipements en néoprène (waders, combinaisons).</p> <p>Les désinfectants ne doivent pas entrer en contact direct avec les amphibiens.</p> </td> </tr> </table>	Nettoyage	<p>À réaliser avant toute désinfection.</p> <p>Sur le site d'intervention avec l'eau du site et une brosse afin de laisser sur places les débris organiques (végétaux, œufs, parasites, boues, etc.).</p> <p>À l'eau chaude et éventuellement avec du savon avant la désinfection réalisée au local.</p>	Choix des désinfectants	<p>Prendre en compte l'efficacité (Tableau 3) et les effets écotoxicologiques (Annexe 1). L'éthanol 70 % liquide ou en lingettes imbibées, avec un temps de contact d'une minute est plus adapté au terrain car volatil, à utiliser dans un bac fermé ou sac Ziploc® contenant le liquide ou les lingettes afin que l'évaporation ne soit pas trop rapide.</p> <p>Le Virkon S® 1 %, avec un temps de contact de cinq minutes (Bd, Bsal et ranavirus) ou 10 minutes si des agents pathogènes d'autres espèces sont connus. Utilisation en spray ou en bain, préférer une fois de retour au local ou en spray sur le terrain pour des sites à risque important.</p> <p>Le SeptiOne néoprène Pro® 0,5 % (ou un autre désinfectant pour matériel en néoprène) temps de contact 10 minutes par trempage, à utiliser au local uniquement sur les équipements en néoprène (waders, combinaisons).</p> <p>Les désinfectants ne doivent pas entrer en contact direct avec les amphibiens.</p>
Nettoyage	<p>À réaliser avant toute désinfection.</p> <p>Sur le site d'intervention avec l'eau du site et une brosse afin de laisser sur places les débris organiques (végétaux, œufs, parasites, boues, etc.).</p> <p>À l'eau chaude et éventuellement avec du savon avant la désinfection réalisée au local.</p>				
Choix des désinfectants	<p>Prendre en compte l'efficacité (Tableau 3) et les effets écotoxicologiques (Annexe 1). L'éthanol 70 % liquide ou en lingettes imbibées, avec un temps de contact d'une minute est plus adapté au terrain car volatil, à utiliser dans un bac fermé ou sac Ziploc® contenant le liquide ou les lingettes afin que l'évaporation ne soit pas trop rapide.</p> <p>Le Virkon S® 1 %, avec un temps de contact de cinq minutes (Bd, Bsal et ranavirus) ou 10 minutes si des agents pathogènes d'autres espèces sont connus. Utilisation en spray ou en bain, préférer une fois de retour au local ou en spray sur le terrain pour des sites à risque important.</p> <p>Le SeptiOne néoprène Pro® 0,5 % (ou un autre désinfectant pour matériel en néoprène) temps de contact 10 minutes par trempage, à utiliser au local uniquement sur les équipements en néoprène (waders, combinaisons).</p> <p>Les désinfectants ne doivent pas entrer en contact direct avec les amphibiens.</p>				

TABLEAU 6. — Suite.

Catégories		Mesures de biosécurité
Protocole de nettoyage et désinfection	Désinfection au local	À réaliser en fin de journée/ soirée d'intervention pour diminuer le risque de transmission d'agents infectieux d'un jour à l'autre. Au Virkon S® par trempage (mieux) ou spray pendant 5 -10 minutes sur tous les équipements.
	Désinfection sur le terrain	Retour au véhicule entre les unités (à privilégier) Disposer les équipements dans un bac ou un grand sac Ziploc®. Appliquer le Virkon S® en spray, l'éthanol en spray ou en lingettes. Laisser agir. Essuyer à l'essuie tout ou rincer à l'eau du robinet dans le bac ou le sac (si le transport d'eau est possible). Fermer le sac/bac et garder les effluents pour les éliminer correctement par la suite (société agréée dans l'idéal). Éviter de réutiliser les équipements immédiatement après désinfection.
		Non-retour au véhicule entre les unités Se positionner sur une zone goudronnée, un chemin, à distance des milieux aquatiques. Appliquer le Virkon S® en spray, l'éthanol en spray ou en lingettes (privilégier l'éthanol, sauf sur un site à fort risque). Essuyer à l'essuie-tout. Éviter de réutiliser les équipements immédiatement après désinfection.
	Rinçage et séchage	À l'eau du robinet. Rinçage, une fois au local uniquement, sur tous les équipements (évite le transport de grande quantité d'eau et facilite la gestion des effluents, permet le bon entretien du matériel). Essuyer les équipements avec un essuie-tout sur le terrain pour diminuer les résidus avant réutilisation. Les effluents issus de la désinfection au local ou à la voiture doivent être éliminés par une filière spécialisée de gestion des effluents, ou à défaut, fortement dilués puis déversés dans le circuit des eaux usées. Les contenants d'individus doivent être à usage unique ou désinfectés et rincés abondamment entre chaque individu. Séchager non efficace sur les ranavirus.
Véhicule		Ne pas traverser ou s'approcher des unités écologiques et milieux humides. Rester sur les routes et chemins. Ne pas conduire avec les bottes tant qu'elles ne sont pas complètement désinfectées (prévoir une autre paire de chaussures pour la voiture). Lavage en station régulièrement. Désinfection des roues uniquement si le risque est très élevé, une fois de retour au local. Pas dans le milieu naturel.
Vêtements		Différencier les vêtements de ville et de terrain. Lavage après chaque journée/soirée d'intervention à 60 °C pendant 30 minutes.

le produit et les équipements, pouvant être insuffisant pour une désinfection efficace si l'application n'est pas répétée.

L'éthanol n'est pas considéré comme toxique pour les organismes aquatiques (Annexe 1) mais les fiches de données de sécurité recommandent tout de même de « ne pas déverser dans les cours d'eau » (Fiche de données de sécurité éthanol THERMOSHIFER) et d'« éviter la contamination des égouts, des eaux de surface et des eaux souterraines » (fiche de données de sécurité éthanol 70 % GILBERT). Là encore, il convient donc de prévoir une gestion adéquate des déchets, notamment en cas d'utilisation en grande quantité ne permettant pas une évaporation rapide.

L'éthanol 70 % est donc recommandé pour la désinfection du matériel sur le terrain et en laboratoire ainsi que pour la désinfection des mains lors des manipulations (Speare *et al.* 2004; Phillott *et al.* 2010; Kast & Hanna 2012; Gray *et al.* 2017; Van Rooij *et al.* 2017).

#### RINÇAGE, SÉCHAGE ET LAVAGE DES TEXTILES

Les étapes de rinçage et séchage post désinfection diminuent le risque de présence de résidus de désinfectant et donc de toxicité pour les amphibiens et l'environnement, notam-

ment lors d'utilisation de désinfectants non volatiles. Les recommandations peuvent varier en fonction des auteurs. Certains préconisent un rinçage et/ou séchage complet des équipements avant toute réutilisation (Kast & Hanna 2012; Department of Environment and Heritage Protection 2016; Stassen & Lestang 2021) ou le conseillent particulièrement en cas d'utilisation d'eau de Javel, notamment pour le bon entretien des équipements (Department of Environment and Heritage Protection 2016; Gray *et al.* 2017; Pessier & Mendelson 2017), quand d'autres ne précisent rien concernant ces étapes (Speare *et al.* 2004; Phillott *et al.* 2010).

L'agent infectieux Bd supportant mal la dessiccation, le séchage peut également être envisagé comme méthode de « désinfection ». Ce dernier doit être de trois heures minimum pour être efficace (Johnson *et al.* 2003) (Tableau 3). Les ranavirus quant à eux, sont résistants à la dessiccation (voir persistance dans l'environnement) (Nazir *et al.* 2012). Aucune donnée concernant les herpèsvirus des amphibiens BfHV-1 et RHV-3 n'est disponible, bien que l'enveloppe de l'alloherpèsvirus des poissons (KHV) soit sensible à la dessiccation (Reed 2014). Les UVc auraient une action virucide (Miocevic *et al.* 1993), mais



ceci implique une désinfection du matériel avec une lampe UV, ce qui paraît peu pratique pour du matériel de terrain. De plus, ces données ne permettent pas de considérer une exposition au soleil comme efficace pour la désinfection du matériel dans la mesure où les UVc issus des rayonnements solaires ne parviennent pas jusqu'à la surface de la terre.

Les résultats des différentes études montrent des sensibilités à la chaleur différentes pour Bd et les ranavirus (Langdon 1989 ; Berger 2001 ; Johnson & Speare 2005). Un lavage des vêtements et textiles à 60 °C pendant 30 minutes est recommandé pour être efficace contre Bd et ranavirus dans certains protocoles (Phyllott *et al.* 2010 ; Pessier & Mendelson 2017). Ces recommandations font suite à l'étude de Webb *et al.* (2007), qui préconise un temps minimal augmenté par rapport à ceux montrés comme efficaces par Johnson *et al.* (2003), soit cinq minutes à 60 °C ou 30 minutes à 47 °C (Johnson *et al.* 2003 ; Webb *et al.* 2007) (Tableau 3).

#### PROPOSITION DE SYNTHÈSE DES RECOMMANDATIONS DE BIOSÉCURITÉ

Suite à la réalisation de la présente étude, une synthèse des mesures de biosécurité adaptées à des interventions locales de terrain est proposée (Tableau 6). La plupart des recommandations passent par l'organisation et l'anticipation. L'analyse de risques est à privilégier afin d'agir selon un protocole adapté.

Le choix d'un matériel non poreux et facile à nettoyer est conseillé, notamment en ce qui concerne les épuisettes : préférer un filet à revêtement en caoutchouc plutôt qu'en nylon.

La réduction des entrées dans l'eau et des manipulations ainsi que les changements d'équipement, restent des mesures centrales et à privilégier au maximum. La désinfection ne représente finalement qu'une des nombreuses mesures complémentaires à mettre en place.

Les gants en nitrile sont conseillés et choisis pour assurer la protection des individus, du manipulateur et pour diminuer le risque de transmission d'agents infectieux (Fig. 5). Nous pensons qu'un changement de gants entre chaque unité écologique (ou au maximum toutes les 30 minutes) est suffisant dans un contexte à risque faible ou modéré et sera plus facilement réalisable sur le terrain tout en diminuant les déchets générés. En revanche dans les cas de risque fort ou d'espèces à fort enjeu de conservation, les changements de gants doivent être plus fréquents (Tableaux 4, 6), pouvant aller jusqu'au changement entre chaque individu.

Une désinfection bien gérée en fin de journée et réalisée au local prévient déjà d'une transmission d'agents infectieux par le matériel d'un jour sur l'autre. Celles réalisées sur le terrain lorsqu'un changement d'équipement n'est pas possible doivent être réfléchies en amont et la gestion de l'impact environnemental pris en compte. Les désinfections peuvent être réalisées entre deux unités écologiques, soit entre deux plans d'eau éloignés de plus de 500 mètres, valeur qui nous paraît pertinente et facile à mettre en place (Tableaux 2, 6), mais qui doit être adaptée au besoin à l'issue de l'étude de risques réalisée en amont de l'intervention. Le nettoyage



Fig. 5. — Manipulation d'un métamorphe *Alytes* accoucheur (*Alytes obstetricans* (Laurenti, 1768)) avec des gants en nitrile. Crédit photo : Hugo Sentenac / Université Toulouse 3-Paul Sabatier.

et retrait des matières organiques sont à prévoir à l'eau du site avec une brosse, sur place, avant toute désinfection. Un nettoyage à l'eau chaude avec du savon peut être réalisé au local. Les étapes post-désinfection, de rinçage à l'eau du robinet et de séchage sont conseillées lors des désinfections de fin de journée au local dans la mesure où il nous paraît peu pratique de transporter de grandes quantités d'eau, de gérer autant d'effluents et d'attendre un séchage complet de trois heures entre les unités écologiques. C'est pourquoi les changements d'équipement entre deux unités (changement de bottes et de tête d'épuisette par exemple) sont à privilégier. Sur le terrain, l'utilisation d'un essuie-tout après le temps de contact du désinfectant peut permettre de réduire les résidus. Un rinçage sera tout de même à prévoir en cas d'utilisation de désinfectants non volatils sur un équipement qui devra être en contact direct avec un amphibien, ou dans l'eau, immédiatement après désinfection (e.g., bacs de maintien et instruments qui seraient désinfectés avec un autre produit que l'éthanol 70 %).

En ce qui concerne le choix des désinfectants, l'éthanol étant volatil et à faible impact environnemental, il peut être utilisé entre des unités écologiques à risque faible. Pour remédier à son évaporation rapide, l'utilisation de lingettes imbibées ou de sacs Ziploc® et bacs fermés contenant de l'éthanol liquide ou des lingettes pourrait permettre à

l'éthanol de rester plus longtemps en contact avec les équipements, l'utilisation répétée d'un spray peut également être une alternative. Sinon, le Virkon S<sup>®</sup>, reste moins nocif pour les organismes aquatiques que d'autres désinfectants et peut être utilisé à condition de gérer les effluents sur le terrain. Pour cela, une désinfection réalisée dans un bac refermable au véhicule nous paraît le plus adapté, quand cela est possible (Tableau 6). L'efficacité d'un savon classique n'a pas été testée sur les agents pathogènes des amphibiens mais peut venir compléter l'étape de nettoyage au local. L'acide peracétique, acétique et d'autres molécules mériteraient des études plus approfondies afin de pouvoir leur porter un plus grand intérêt.

## CONCLUSION

La biosécurité autour des interventions sur amphibiens sauvages comprend de nombreux aspects, qu'il convient de prendre en compte lors de la mise en place des recommandations. Les particularités des amphibiens et les caractéristiques de transmission des agents pathogènes à enjeux de conservation mais également des autres agents pathogènes, notamment ceux impliquant des zoonoses ou maladies hydriques, sont à connaître pour permettre d'adapter les protocoles. Les mesures à mettre en place ne concernent pas seulement les désinfections, souvent réalisées à l'excès et considérées à tort comme la seule étape importante. Les actes à prévoir ou à éviter pour limiter la transmission des agents infectieux sont très souvent compatibles avec le respect de l'éthique et du bien-être animal. Ainsi les avantages sanitaires des gestes de bien-être (e.g., la limitation du nombre et du temps de manipulation) sont un atout en matière de biosécurité.

Les risques associés aux unités écologiques sont à étudier précisément lors d'une analyse de risques complète pour permettre une biosécurité adaptée et pertinente. La connaissance des unités écologiques et la prise en compte des autres espèces animales et végétales permettent une considération globale des problématiques d'intervention. Les recommandations générales de biosécurité, notamment l'organisation préalable et les pratiques d'évitement, permettent d'optimiser le besoin de désinfection réduisant ainsi les contacts, les risques ainsi que notre impact sur les milieux naturels et notamment les milieux humides. Il est bon de garder à l'esprit qu'il ne sera jamais possible d'intervenir de façon stérile en milieu naturel. Le principal objectif des mesures de biosécurité est d'arriver à une diminution du risque pour l'individu animal, son milieu et pour le manipulateur, tout en diminuant au maximum le risque de propagation des agents infectieux et de transport de matériel biologique. La protection des manipulateurs ainsi que la praticité d'un protocole de biosécurité sur le terrain sont des points souvent manquants ou peu développés dans la littérature scientifique, pourtant indispensables à une bonne observance des consignes. Ces thématiques essentielles doivent intégrer toutes réflexions préalables à la réalisation d'un protocole de biosécurité.

La synthèse de recommandations que nous proposons ici doit être adaptée aux problématiques particulières de chaque situation qui peuvent être très variables. Cela permettra d'intervenir en milieu humide sur les amphibiens sauvages en appliquant des précautions de biosécurité appropriées, optimisées à chaque situation, tout en considérant les différents enjeux sanitaires et environnementaux.

## Remerciements

Nous remercions les relecteurs Julien Portier et Maden Le Barh pour leurs remarques pertinentes et avisées.

## RÉFÉRENCES

- ANDRADE SERRANO J. DE, TOLEDO L. F. & SALES L. P. 2022. — Human impact modulates chytrid fungus occurrence in amphibians in the Brazilian Atlantic Forest. *Perspectives in Ecology and Conservation* 20 (3): 256-262. <https://doi.org/10.1016/j.pecon.2022.05.002>
- ANSES : LABORATOIRE DE SANTÉ ANIMALE DE MAISONS-ALFORT 2022. — Rapport d'analyses n° 2207-02066-02. ANSES, Maisons-Alfort, 2 p.
- BALSEIRO A., DALTON K., DEL CERRO A., MARQUEZ I., CUNNINGHAM A., PARRA F., PRIETO J. & CASAIS R. 2009. — Pathology, isolation and molecular characterisation of a ranavirus from the common midwife toad *Alytes obstetricans* on the Iberian Peninsula. *Diseases of Aquatic Organisms* 84 (2): 95-104. <https://doi.org/10.3354/dao02032>
- BALSEIRO A., DALTON K. P., DEL CERRO A., MÁRQUEZ I., PARRA F., PRIETO J. M. & CASAIS R. 2010. — Outbreak of common midwife toad virus in alpine newts (*Mesotriton alpestris cyreni*) and common midwife toads (*Alytes obstetricans*) in Northern Spain: a comparative pathological study of an emerging ranavirus. *The Veterinary Journal* 186 (2): 256-258. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2009.07.038>
- BECKER M. H., WALKER J. B., CIKANEK S., SAVAGE A. E., MATTHEUS N., SANTIAGO C. N., MINIOLE K. P. C., HARRIS R. N., BELDEN L. K. & GRATWICKE B. 2015. — Composition of symbiotic bacteria predicts survival in Panamanian golden frogs infected with a lethal fungus. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 282 (1805): 20142881. <https://doi.org/10.1098/rspb.2014.2881>
- BELLANGER E. 2021. — Évaporation des solutions à base d'alcool : quels résidus sur les équipements ? *La vague* 70: 47-50.
- BERGER L. 2001. — *Diseases in Australian Frogs*. James Cook University, Townsville, 294 p.
- BERGER L., MARANTELLI G., SKERRATT L. & SPEARE R. 2005. — Virulence of the amphibian chytrid fungus *Batrachochytrium dendrobatidis* varies with the strain. *Diseases of Aquatic Organisms* 68 (1): 47-50. <https://doi.org/10.3354/dao068047>
- BERNARDO-CRAVO A. P., SCHMELLER D. S., CHATZINOTAS A., VREDENBURG V. T. & LOYAU A. 2020. — Environmental factors and host microbiomes shape host-pathogen dynamics. *Trends in Parasitology* 36 (7): 616-633. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2020.04.010>
- BEST M., SATTAR S. A., SPRINGTHORPE V. S. & KENNEDY M. E. 1990. — Efficacies of selected disinfectants against *Mycobacterium tuberculosis*. *Journal of Clinical Microbiology* 28 (10): 2234-2239. <https://doi.org/10.1128/jcm.28.10.2234-2239.1990>
- BJARNSHOLT T., ALHEDE M., JENSEN P. Ø., NIELSEN A. K., JOHANSEN H. K., HOMØE P., HØIBY N., GIVSKOV M. & KIRKETERP-MØLLER K. 2015. — Antibiofilm properties of acetic acid. *Advances in Wound Care* 4 (7): 363-372. <https://doi.org/10.1089/wound.2014.0554>

- BLACKBURN T. M. & EWEN J. G. 2017. — Parasites as drivers and passengers of human-mediated biological invasions. *EcoHealth* 14 (S1): 61-73. <https://doi.org/10.1007/s10393-015-1092-6>
- BOUGEARD M. 2022. — *Hiérarchisation des enjeux sanitaires des amphibiens dans les espaces protégés en France*. Thèse d'exercice-médecine vétérinaire. École nationale vétérinaire de Toulouse, Université Paul-Sabatier de Toulouse, 173 p.
- BOWKER J., TRUSHENSKI J., TUTTLE-LAU M., GOODWIN, STRAUS D., SPRAGUE L., GAIKOWSKI M. & BOWMAN M. 2011. — *Guide to Using Drugs, Biologics, and other Chemicals in Aquaculture*. American fisheries society fish culture section, New-York, 82 p.
- BRANNELLY L. A., CHATFIELD M. W. H., SONN J., ROBAK M. & RICHARDS-ZAWACKI C. L. 2018. — Fungal infection has sublethal effects in a lowland subtropical amphibian population. *BMC Ecology* 18 (1): 34. <https://doi.org/10.1186/s12898-018-0189-5>
- BRIGGS C. J., KNAPP R. A. & VREDENBURG V. T. 2010. — Enzootic and epizootic dynamics of the chytrid fungal pathogen of amphibians. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107 (21): 9695-9700. <https://doi.org/10.1073/pnas.0912886107>
- BRUNNER J. L. & YARBER C. M. 2018. — Evaluating the importance of environmental persistence for ranavirus transmission and epidemiology. *Advances in Virus Research* 101: 129-148. <https://doi.org/10.1016/bs.aivir.2018.02.005>
- BRUNNER J. L., SCHOCK D. M., DAVIDSON E. W. & COLLINS J. P. 2004. — Intraspecific reservoirs: complex life history and the persistence of a lethal ranavirus. *Ecology* 85 (2): 560-566. <https://doi.org/10.1890/02-0374>
- BRUNNER J., SCHOCK D. & COLLINS J. 2007. — Transmission dynamics of the amphibian ranavirus *Ambystoma tigrinum* virus. *Diseases of Aquatic Organisms* 77: 87-95. <https://doi.org/10.3354/dao01845>
- BRYAN L., BALDWIN C., GRAY M. & MILLER D. 2009. — Efficacy of select disinfectants at inactivating Ranavirus. *Diseases of Aquatic Organisms* 84: 89-94. <https://doi.org/10.3354/dao02036>
- CAMPBELL L. J., PAWLAK A. H. & HARRISON X. A. 2020. — Amphibian ranaviruses in Europe: important directions for future research. *FACETS* 5 (1): 598-614. <https://doi.org/10.1139/facets-2020-0007>
- CAREY C., COHEN N. & ROLLINS-SMITH L. 1999. — Amphibian declines: an immunological perspective. *Developmental & Comparative Immunology* 23 (6): 459-472. [https://doi.org/10.1016/S0145-305X\(99\)00028-2](https://doi.org/10.1016/S0145-305X(99)00028-2)
- CASAS R., LARRINAGA A. R., DALTON K. P., DOMÍNGUEZ LAPIDO P., MÁRQUEZ I., BÉCARES E., CARTER E. D., GRAY M. J., MILLER D. L. & BALSEIRO A. 2019. — Water sports could contribute to the translocation of ranaviruses. *Scientific Reports* 9 (1): 2340. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-39674-5>
- CASHINS S. D., ALFORD R. A. & SKERRATT L. F. 2008. — Lethal effect of latex, nitrile, and vinyl gloves on tadpoles. *Herpetological Review* 39 (3): 298-301.
- CASTRO F. DE & BOLKER B. 2005. — Mechanisms of disease-induced extinction: mechanisms of disease-induced extinction. *Ecology Letters* 8 (1): 117-126. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2004.00693.x>
- CASTRO MONZON F., RÖDEL M.-O. & JESCHKE J. M. 2020. — Tracking *Batrachochytrium dendrobatidis* infection across the globe. *EcoHealth* 17 (3): 270-279. <https://doi.org/10.1007/s10393-020-01504-w>
- CATENAZZI A. 2015. — State of the world's amphibians. *Annual Review of Environment and Resources* 40 (1): 91-119. <https://doi.org/10.1146/annurev-environ-102014-021358>
- CDC CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION 2011. — Multistate outbreak of human *Salmonella typhimurium* infections associated with contact with water frogs. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 58 (51): 1433-6.
- CHINCHAR V. G., WALTZEK T. B. & SUBRAMANIAM K. 2017. — Ranaviruses and other members of the family Iridoviridae: their place in the virosphere. *Virology* 511: 259-271. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2017.06.007>
- CLARE F., DANIEL O., GARNER T. & FISHER M. 2016. — Assessing the ability of swab data to determine the true burden of infection for the amphibian pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis*. *EcoHealth* 13 (2): 360-367. <https://doi.org/10.1007/s10393-016-1114-z>
- CLARK H. F., BRENNAN J. C., ZEIGEL R. F. & KARZON D. T. 1968. — Isolation and characterization of viruses from the kidneys of *Rana pipiens* with renal adenocarcinoma before and after passage in the red eft (*Triturus viridescens*). *Journal of Virology* 2 (6): 629-640. <https://doi.org/10.1128/jvi.2.6.629-640.1968>
- COMMISSION DU DÉVELOPPEMENT DURABLE ET DE L'AMÉNAGEMENT DU TERRITOIRE 2022. — *Mission flash sur l'impact des plantes invasives aquatiques sur la biodiversité*. Commission du Développement durable et de l'Aménagement du Territoire, Paris, 21 p.
- COURTOIS E. A., LOYAU A., BOURGOIN M. & SCHMELLER D. S. 2017. — Initiation of *Batrachochytrium dendrobatidis* infection in the absence of physical contact with infected hosts – a field study in a high altitude lake. *Oikos* 126 (6): 843-851. <https://doi.org/10.1111/oik.03462>
- CULLEN B., OWENS L. & WHITTINGTON R. 1995. — Experimental infection of Australian anurans (*Limnodynastes terraereginae* and *Litoria latopalmata*) with Bohle iridovirus. *Diseases of Aquatic Organisms* 23: 83-92. <https://doi.org/10.3354/dao023083>
- CUNNINGHAM A. A., LANGTON T. E. S., BENNETT P. M., LEWIN J. F., DRURY S. E. N., GOUGH R. E. & MACGREGOR S. K. 1996. — Pathological and microbiological findings from incidents of unusual mortality of the common frog (*Rana temporaria*). *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 351 (1347): 1539-1557.
- CUNNINGHAM A. A., DASZAK P. & RODRÍGUEZ J. P. 2003. — Pathogen pollution: defining a parasitological threat to biodiversity conservation. *Journal of Parasitology* 89: 78-83.
- CUNNINGHAM A. A., BECKMANN K., PERKINS M., FITZPATRICK L., CROMIE R., REDBOND J., O'BRIEN M. F., GHOSH P., SHELTON J. & FISHER M. C. 2015. — Emerging disease in UK amphibians. *Veterinary Record* 176 (18): 468-468. <https://doi.org/10.1136/vr.h2264>
- DANG T., SEARLE C. & BLAUSTEIN A. 2017. — Virulence variation among strains of the emerging infectious fungus *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd) in multiple amphibian host species. *Diseases of Aquatic Organisms* 124 (3): 233-239. <https://doi.org/10.3354/dao03125>
- DAPGH A. N., HAKIM A. S., SHAWKY H. & IBRAHIM E. S. 2019. — Study of some disinfectants efficacy on *Aeromonas hydrophila* recovered from local animal and water Sources. *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science (IOSR-JAVS)* 12 (2): 41-47.
- DASZAK P., CUNNINGHAM A. A. & HYATT A. D. 2003. — Infectious disease and amphibian population declines. *Diversity and Distributions* 9 (2): 141-150. <https://doi.org/10.1046/j.1472-4642.2003.00016.x>
- DEJEAN T., MIAUD C. & OUELLET M. 2010. — La chytridiomycose – une maladie émergente des amphibiens. *Bulletin de la Société herpétologique de France* 134: 27-46.
- DENSMORE C. L. & GREEN D. E. 2007. — Diseases of Amphibians. *ILAR Journal* 48 (3): 235-254. <https://doi.org/10.1093/ilar.48.3.235>
- DEPARTMENT OF ENVIRONMENT AND HERITAGE PROTECTION 2016. — *Technical manual Interim Hygiene Protocol for Handling Amphibians*. Queensland Government, Queensland, 9 p.
- DIPINETO L., GARGIULO A., RUSSO T. P., DE LUCA BOSSA L. M., BORRELLI L., D'OVIDIO D., SENSALE M., MENNA L. F. & FIORETTI A. 2010. — Survey of *Escherichia coli* O157 in captive frogs. *Journal of Wildlife Diseases* 46 (3): 944-946. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-46.3.944>
- DIRENZO G. V., CAMPBELL GRANT E. H., LONGO A. V., CHECASTALDO C., ZAMUDIO K. R. & LIPS K. R. 2018. — Imperfect pathogen detection from non-invasive skin swabs biases disease inference. *Methods in Ecology and Evolution* 9 (2): 380-389. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12868>

- DIVISION SANTÉ ET SÉCURITÉ EN MILIEU DE TRAVAIL ET D'ÉTUDES 2011. — *Fiche de sécurité chimique – Sélection et utilisation de gants*. Université de Sherbrooke, 5 p.
- DOMANSKA-BLICHAZ K., MINTA Z., SMIETANKA K., MARCHÉ S. & VAN DEN BERG T. 2010. — H5N1 High pathogenicity avian influenza virus survival in different types of water. *Avian Diseases* 54 (s1): 734-737. <https://doi.org/10.1637/8786-040109-ResNote.1>
- DUFFUS A. L. J., NICHOLS R. A. & GARNER T. 2013. — Investigations into the life history stages of the common frog (*Rana temporaria*) affected by the amphibian ranavirus in the United Kingdom. *Herpetological Review* 44 (2): 260-263.
- DUFFUS A. L. J., WALTZEK T. B., STÖHR A. C., ALLENDER M. C., GOTESMAN M., WHITTINGTON R. J., HICK P., HINES M. K. & MARSCHANG R. E. 2015. — Distribution and host range of ranaviruses, in GRAY M. J. & CHINCHAR V. G. (éds), *Ranaviruses*. Springer, Cham: 9-57. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-13755-1\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-319-13755-1_2)
- DUFFUS A. L. J., GARNER T. W. J., NICHOLS R. A., STANDRIDGE J. P. & EARL J. E. 2019. — Modelling ranavirus transmission in populations of common frogs (*Rana temporaria*) in the United Kingdom. *Viruses* 11 (6): 556. <https://doi.org/10.3390/v11060556>
- EARL J. E., CHANEY J. C., SUTTON W. B., LILLARD C.E., KOUBA A. J., LANGHORNE C., KREBS J., WILKES R. P., HILL R. D., MILLER D. L. & GRAY M. J. 2016. — Ranavirus could facilitate local extinction of rare amphibian species. *Oecologia* 182 (2): 611-623. <https://doi.org/10.1007/s00442-016-3682-6>
- EDGERTON B. F., EVANS L. H., STEPHENS F. J. & OVERSTREET R. M. 2002. — Synopsis of freshwater crayfish diseases and commensal organisms. *Aquaculture* 206 (1-2): 57-135. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00865-1](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00865-1)
- EL-GOHARY A., BABLY M. E., HALEEM M. A.-E., EL-GOHARY F. & EL-DEEN M. M. 2015. — *In vitro* evaluation of commonly used disinfectants and antiseptics in veterinary practice against *Brucella abortus*. *Annals of Veterinary and Animal Science* 2 (4): 77-85.
- FEIST S. W., PEELER E. J., GARDINER R., SMITH E. & LONGSHAW M. 2002. — Proliferative kidney disease and renal myxosporidiosis in juvenile salmonids from rivers in England and Wales. *Journal of Fish Diseases* 25 (8): 451-458. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2761.2002.00361.x>
- FISHER M. C., GARNER T. W. J. & WALKER S. F. 2009. — Global emergence of *Batrachochytrium dendrobatidis* and Amphibian Chytridiomycosis in space, time, and host. *Annual Review of Microbiology* 63 (1): 291-310. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.091208.073435>
- FITSHERBERT E. & GARDNER T. 2001. — Froglog. *Newsletter of the Declining Amphibian Populations Task Force* (48) 8 p.
- FORD C. E., BROOKES L. M., SKELLY E., SERGEANT C., JORDINE T., BALLOUX F., NICHOLS R. A. & GARNER T. W. J. 2022. — Non-Lethal Detection of Frog Virus 3-Like (RUK13) and Common Midwife Toad Virus-Like (PDE18) ranaviruses in two UK-native amphibian species. *Viruses* 14 (12): 2635. <https://doi.org/10.3390/v14122635>
- FRAISE A. P., WILKINSON M. A. C., BRADLEY C. R., OPPENHEIM B. & MOIEMEN N. 2013. — The antibacterial activity and stability of acetic acid. *Journal of Hospital Infection* 84 (4): 329-331. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2013.05.001>
- GARMYN A., VAN ROOIJ P., PASMANS F., HELLEBUYCK T., VAN DEN BROECK W., HAESBROUCK F. & MARTEL A. 2012. — Waterfowl: potential environmental reservoirs of the chytrid fungus *Batrachochytrium dendrobatidis*. *PLoS ONE* 7 (4): e35038. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035038>
- GARNER T. W. J., PERKINS M. W., GOVINDARAJULU P., SEGLIE D., WALKER S., CUNNINGHAM A. A. & FISHER M. C. 2006. — The emerging amphibian pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* globally infects introduced populations of the North American bullfrog, *Rana catesbeiana*. *Biology Letters* 2 (3): 455-459. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2006.0494>
- GAUTHIER J. 2016. — *Développement d'outils thérapeutiques à base de probiotiques endogènes contre la furunculose (Aeromonas salmonicida) chez l'Ombre de fontaine d'aquaculture (Phase I – in vitro)*. Maîtrise en biologie, Université Laval, Québec, 115 p. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.29812.86406>
- GOLD K., REED P., BEMIS D., MILLER D., GRAY M. & SOUZA M. 2013. — Efficacy of common disinfectants and terbinafine in inactivating the growth of *Batrachochytrium dendrobatidis* in culture. *Diseases of Aquatic Organisms* 107 (1): 77-81. <https://doi.org/10.3354/dao02670>
- GRAY M. J., RAJEEV S., MILLER D., SCHMUTZER A., BURTON E., ROGERS E. & HICKLING G. 2007. — Preliminary evidence that American bullfrogs (*Rana catesbeiana*) are suitable hosts for *Escherichia coli* O157:H7. *Applied and Environmental Microbiology* 73 (12): 4066-4068. <https://doi.org/10.1128/AEM.02905-06>
- GRAY M. J., DUFFUS A. L. J., ALLENDER M. C., HARRIS R. N., WILLIAMS J. M., THOMPSON T. A., CHRISTMAN M. R., SACERDOTEVELAT A., SPRAGUE L. & MILLER D. L. 2017. — Pathogen surveillance in herpetofaunal populations Guidance on study design, sample collection, biosecurity, and intervention strategies. *Herpetological Review* 48 (2): 334.
- GREEN S. L., LIFLAND B. D., BOULEY D. M., BROWN B. A., WALLACE R. J. & FERRELL J. E. 2000. — Disease attributed to *Mycobacterium chelonae* in South African clawed Frogs (*Xenopus laevis*). *Comparative Medicine* 50 (6): 675-679.
- GREENER M. S., VERBRUGGHE E., KELLY M., BLOOI M., BEUKEMA W., CANESSA S., CARRANZA S., CROUBELS S., DE TROYER N., FERNANDEZ-GIBERTEAU D., GOETHALS P., LENS L., LI Z., STEGEN G., STRUBBE D., VAN LEEUWENBERG R., VAN PRAET S., VILA-ESCALE M., VERVAEKE M., PASMANS F. & MARTEL A. 2020. — Presence of low virulence chytrid fungi could protect European amphibians from more deadly strains. *Nature Communications* 11 (1): 5393. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-19241-7>
- GREER A. L., SCHOCK D. M., BRUNNER J. L., JOHNOSON R., CASHINS S. D., ALFORD R. A., SKERRATT L. F. & COLLINS J. P. 2009. — Guidelines for the safe use of disposable gloves with amphibian larvae in light of pathogens and possible toxic effects. *Herpetological Review* 40 (2): 145-147.
- GRIFFITHS P. A., BABB J. R., BRADLEY C. R. & FRAISE A. P. 1997. — Glutaraldehyde resistant *Mycobacterium chelonae* from endosome washer disinfectors. *Journal of Applied Microbiology* 82 (4): 519-526. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.1997.00171.x>
- GRUIA-GRAY J. & DESSER S. S. 1992. — Cytopathological observations and epizootiology of frog erythrocytic virus in bullfrogs (*Rana catesbeiana*). *Journal of Wildlife Diseases* 28 (1): 34-41. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-28.1.34>
- GUTLEB A. C., BRONKHORST M., VAN DEN BERG J. H. J. & MURK A. J. 2001. — Latex laboratory-gloves: an unexpected pitfall in amphibian toxicity assays with tadpoles. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 10 (3): 119-121. [https://doi.org/10.1016/S1382-6689\(01\)00091-6](https://doi.org/10.1016/S1382-6689(01)00091-6)
- HALL E. M., CRESPI E. J., GOLDBERG C. S. & BRUNNER J. L. 2016. — Evaluating environmental DNA-based quantification of ranavirus infection in wood frog populations. *Molecular Ecology Resources* 16 (2): 423-433. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12461>
- HANGARTNER S. & LAURILA A. 2012. — Effects of the disinfectant Virkon S on early life-stages of the moor frog (*Rana arvalis*). *Amphibia-Reptilia* 33 (3-4): 349-353. <https://doi.org/10.1163/15685381-00002837>
- HARRIS R. N., JAMES T. Y., LAUER A., SIMON M. A. & PATEL A. 2006. — Amphibian pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* is inhibited by the cutaneous bacteria of amphibian species. *EcoHealth* 3 (1): 53-56. <https://doi.org/10.1007/s10393-005-0009-1>
- HAUT CONSEIL DE LA SANTÉ PUBLIQUE 2022. — *Avis relatif à la mise à déclaration obligatoire de la Leptospirose*. Haut Conseil de la Santé publique, Paris, 12 p.

- HEMINGWAY V., BRUNNER J., SPEARE R. & BERGER L. 2009. — Chapitre 1 – Viral and bacterial diseases of amphibians, in HEATWOLE H. & WILKINSON J. (éds), *Amphibian Decline: Diseases, Parasites, Maladies and Pollution. Amphibian Biology*, Vol 8. Surrey Beatty & Sons, Sydney: 2963-2985. <https://doi.org/10.13140/2.1.5098.3048>
- HERATH J., ELLEPOLA G. & MEEGASKUMBURA M. 2021. — Patterns of infection, origins, and transmission of ranaviruses among the ectothermic vertebrates of Asia. *Ecology and Evolution* 11 (22): 15498-15519. <https://doi.org/10.1002/ece3.8243>
- HERNANDEZ A., MARTRO E., MATAS L., MARTIN M. & AUSINA V. 2000. — Assessment of in-vitro efficacy of 1 % Virkon® against bacteria, fungi, viruses and spores by means of AFNOR guidelines. *Journal of Hospital Infection* 46 (3): 203-209. <https://doi.org/10.1053/jhin.2000.0818>
- HOVERMAN J. T., GRAY M. J., HAISLIP N. A. & MILLER D. L. 2011. — Phylogeny, life history, and ecology contribute to differences in amphibian susceptibility to ranaviruses. *EcoHealth* 8 (3): 301-319. <https://doi.org/10.1007/s10393-011-0717-7>
- HYATT A., BOYLE D., OLSEN V., BOYLE D., BERGER L., OBENDORF D., DALTON A., KRIGER K., HERO M., HINES H., PHILLOTT R., CAMPBELL R., MARANTELLI G., GLEASON F. & COLLING A. 2007. — Diagnostic assays and sampling protocols for the detection of *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Diseases of Aquatic Organisms* 73 (3): 175-192. <https://doi.org/10.3354/dao073175>
- IKUTA C. Y., REISFELD L., SILVATTI B., SALVAGNI F. A., DE PAULA C. D., PESSIER A. P., CATÃO-DIAS J. L. & FERREIRA NETO J. S. 2018. — Tuberculosis caused by *Mycobacterium bovis* infection in a captive-bred American bullfrog (*Lithobates catesbeiana*). *BMC Veterinary Research* 14 (1): 289. <https://doi.org/10.1186/s12917-018-1618-6>
- IULIUS G. DE & PULERA D. 2019. — Chapter 6 – The frog, in IULIUS G. DE & PULERA D. (éds), *The Dissection of Vertebrates*. [Third edition]. Academic Press, Cambridge: 159-177. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-410460-0.00006-1>
- JAHID I. K. & HA S.-D. 2014. — Inactivation kinetics of various chemical disinfectants on *Aeromonas hydrophila* planktonic cells and biofilms. *Foodborne Pathogens and Disease* 11 (5): 346-353. <https://doi.org/10.1089/fpd.2013.1682>
- JAMES T. Y., TOLEDO L. F., RÖDDER D., SILVA LEITE D., BELASEN A. M., BETANCOURT-ROMÁN C. M., JENKINSON T. S., SOTO-AZAT C., LAMBERTINI C., LONGO A. V., RUGGERI J., COLLINS J. P., BURROWS P. A., LIPS K. R., ZAMUDIO K. R. & LONGCORE J. E. 2015. — Disentangling host, pathogen, and environmental determinants of a recently emerged wildlife disease: lessons from the first 15 years of amphibian chytridiomycosis research. *Ecology and Evolution* 5 (18): 4079-4097. <https://doi.org/10.1002/ece3.1672>
- JANCOVICH J., DAVIDSON E., MORADO J., JACOBS B. & COLLINS J. 1997. — Isolation of a lethal virus from the endangered tiger salamander *Ambystoma tigrinum stebbinsi*. *Diseases of Aquatic Organisms* 31 (3): 161-167. <https://doi.org/10.3354/dao031161>
- JANCOVICH J., DAVIDSON E., SEILER A., JACOBS B. & COLLINS J. 2001. — Transmission of the *Ambystoma tigrinum* virus to alternative hosts. *Diseases of Aquatic Organisms* 46 (3): 159-163. <https://doi.org/10.3354/dao046159>
- JANG Y., LEE J., SO B., LEE K., YUN S., LEE M. & CHOE N. 2014. — Evaluation of changes induced by temperature, contact time, and surface in the efficacies of disinfectants against avian influenza virus. *Poultry Science* 93 (1): 70-76. <https://doi.org/10.3382/ps.2013-03452>
- JAYSON S., HARDING L., MICHAELS C. J., TAPLEY B., HEDLEY J., GOETZ M., BARBON A., GARCIA G., LOPEZ J. & FLACH E. 2018. — Development of a body condition score for the mountain chicken frog (*Leptodactylus fallax*). *Zoo Biology* 37 (3): 196-205. <https://doi.org/10.1002/zoo.21409>
- JOHNSON M. L. & SPEARE R. 2003. — Survival of *Batrachochytrium dendrobatidis* in water: quarantine and disease control implications. *Emerging Infectious Diseases* 9 (8): 915-921. <https://doi.org/10.3201/eid0908.030145>
- JOHNSON M. & SPEARE R. 2005. — Possible modes of dissemination of the amphibian chytrid *Batrachochytrium dendrobatidis* in the environment. *Diseases of Aquatic Organisms* 65 (3): 181-186. <https://doi.org/10.3354/dao065181>
- JOHNSON M., BERGER L., PHILIPS L. & SPEARE R. 2003. — Fungicidal effects of chemical disinfectants, UV light, desiccation and heat on the amphibian chytrid *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Diseases of Aquatic Organisms* 57 (3): 255-260. <https://doi.org/10.3354/dao057255>
- JOHNSON-DELANEY C. A. & GAL J. 2019. — *Zoonoses and Public Health, Mader's Reptile and Amphibian Medicine and Surgery*. Elsevier, Amsterdam, 1359-1365.
- JØRGENSEN L. VON G. 2017. — The fish parasite *Ichthyophthirius multifiliis* – Host immunology, vaccines and novel treatments. *Fish & Shellfish Immunology* 67: 586-595. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.06.044>
- JUSSILA J., TOLJAMO A., MAKONEN J., KUKKONEN H. & KOKKO H. 2014. — Practical disinfection chemicals for fishing and crayfishing gear against crayfish plague transfer. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems* 413 (2): 1-8. <https://doi.org/10.1051/kmaec/2014002>
- KASAI H., MUTO Y. & YOSHIMIZU M. 2005. — Virucidal effects of ultraviolet, heat treatment and disinfectants against koi herpesvirus (KHV). *Fish Pathology* 40 (3): 137-138. <https://doi.org/10.3147/jsfp.40.137>
- KAST J. & HANNA N. 2012. — Chapter 3 – Hygiene and disease management: field and captivity, in POOLE V. A. (éd.), *Amphibian Husbandry Resource Guide*. Association of Zoos & Aquariums, Baltimore, Shelly Grow: 119-128
- KEARNS P. J., FISCHER S., FERNÁNDEZ-BEASKOETXEA S., GABOR C. R., BOSCH J., BOWEN J. L., TLUSTY M. F. & WOODHAMS D. C. 2017. — Fight fungi with fungi: antifungal properties of the amphibian microbiome. *Frontiers in Microbiology* 8: 2494. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02494>
- KELLY M., PASMANS F., MUÑOZ J. F., SHEA T. P., CARRANZA S., CUOMO C. A. & MARTEL A. 2021. — Diversity, multifaceted evolution, and facultative saprotrophism in the European *Batrachochytrium salamandrivorans* epidemic. *Nature Communications* 12 (1): 6688. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-27005-0>
- KILBURN V., IBÁÑEZ R. & GREEN D. 2011. — Reptiles as potential vectors and hosts of the amphibian pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* in Panama. *Diseases of Aquatic Organisms* 97 (2): 127-134. <https://doi.org/10.3354/dao02409>
- KIMBLE S. J. A., KARNA A. K., JOHNSON A. J., HOVERMAN J. T. & WILLIAMS R. N. 2015. — Mosquitoes as a potential vector of ranavirus transmission in terrestrial turtles. *EcoHealth* 12 (2): 334-338. <https://doi.org/10.1007/s10393-014-0974-3>
- KIRYU I., SAKAI T., KURITA J. & IIDA T. 2007. — Virucidal effect of disinfectants on spring viremia of carp virus. *Fish Pathology* 42 (2): 111-113. <https://doi.org/10.3147/jsfp.42.111>
- KUMAR G., MENANTEAU-LEDOUBLE S., SALEH M. & EL-MATBOULI M. 2015. — *Yersinia ruckeri*, the causative agent of enteric redmouth disease in fish. *Veterinary Research* 46 (1): 103. <https://doi.org/10.1186/s13567-015-0238-4>
- LANGDON J. S. 1989. — Experimental transmission and pathogenicity of epizootic haematopoietic necrosis virus (EHNV) in redbfin perch, *Perca fluviatilis* L., and 11 other teleosts. *Journal of Fish Diseases* 12 (4): 295-310. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.1989.tb00318.x>
- LONGCORE J. E., PESSIER A. P. & NICHOLS D. K. 1999. — *Batrachochytrium dendrobatidis* gen. et sp. nov., a chytrid pathogenic to amphibians. *Mycologia* 91 (2): 219-227. <https://doi.org/10.1080/00275514.1999.12061011>
- LUEDTKE J. A., CHANSON J., NEAM K., HOBIN L., MACIEL A. O., CATENAZZI A., BORZÉE A., HAMIDY A., AOWPHOL A., JEAN A., SOSA-BARTUANO Á., FONG G. A., DE SILVA A., FOUQUET A.,

- ANGULO A., KIDOV A. A., MUÑOZ SARAVIA A., DIESMOS A. C., TOMINAGA A., SHRESTHA B., GRATWICKE B., TJATURADI B., MARTÍNEZ RIVERA C. C., VÁSQUEZ ALMAZÁN C. R., SEÑARIS C., CHANDRAMOULI S. R., STRÜSSMANN C., CORTEZ FERNÁNDEZ C. F., AZAT C., HOSKIN C. J., HILTON-TAYLOR C., WHYTE D. L., GOWER D. J., OLSON D. H., CISNEROS-HEREDIA D. F., SANTANA D. J., NAGOMBI E., NAJAFI-MAJD E., QUAH E. S. H., BOLAÑOS F., XIE F., BRUSQUETTI F., ÁLVAREZ F. S., ANDREONE F., GLAW F., CASTAÑEDA F. E., KRAUS F., PARRA-OLEA G., CHAVES G., MEDINA-RANGEL G. F., GONZÁLEZ-DURÁN G., ORTEGA-ANDRADE H. M., MACHADO I. F., DAS I., DIAS I. R., URBINA-CARDONA J. N., CRNOBRNJA-ISAILOVIĆ J., YANG J.-H., JIANPING J., WANGYAL J. T., ROWLEY J. J. L., MEASEY J., VASUDEVAN K., CHAN K. O., GURURAJA K. V., OVASKA K., WARR L. C., CANSECO-MÁRQUEZ L., TOLEDO L. F., DÍAZ L. M., KHAN M. M. H., MEEGASKUMBURA M., ACEVEDO M. E., NAPOLI M. F., PONCE M. A., VAIRA M., LAMPO M., YÁÑEZ-MUÑOZ M. H., SCHERZ M. D., RÖDEL M.-O., MATSUI M., FILDOR M., KUSRINI M. D., AHMED M. F., RAIS M., KOUAMÉ N. G., GARCÍA N., GONWOUO N. L., BURROWES P. A., IMBUN P. Y., WAGNER P., KOK P. J. R., JOGLAR R. L., AUGUSTE R. J., BRANDÃO R. A., IBÁÑEZ R., VON MAY R., HEDGES S. B., BIJU S. D., GANESH S. R., WREN S., DAS S., FLECHAS S. V., ASHPOLE S. L., ROBLETO-HERNÁNDEZ S. J., LOADER S. P., INCHÁUSTEGUI S. J., GARG S., PHIMMACHAK S., RICHARDS S. J., SLIMANI T., OSBORNE-NAIKATINI T., ABREU-JARDIM T. P. F., CONDEZ T. H., CARVALHO T. R. DE, CUTAJAR T. P., PIERSON T. W., NGUYEN T. Q., KAYA U., YUAN Z., LONG B., LANGHAMMER P. & STUART S. N. 2023. — Ongoing declines for the world's amphibians in the face of emerging threats. *Nature* 622 (7982): 308-314. <https://doi.org/10.1038/s41586-023-06578-4>
- MAINOUS M. E., KUHN D. D. & SMITH S. A. 2011. — Efficacy of common aquaculture compounds for disinfection of *Aeromonas hydrophila*, *A. salmonicida* subsp. *salmonicida*, and *A. salmonicida* subsp. *achromogenes* at various temperatures. *North American Journal of Aquaculture* 73 (4): 456-461. <https://doi.org/10.1080/15222055.2011.630265>
- MALAGON D. A., MELARA L. A., PROSPER O. F., LENHART S., CARTER E. D., FORDYCE J. A., PETERSON A. C., MILLER D. L. & GRAY M. J. 2020. — Host density and habitat structure influence host contact rates and *Batrachochytrium salamandrivorans* transmission. *Scientific Reports* 10 (1): 5584. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-62351-x>
- MAO J., GREEN D. E., FELLERS G. & CHINCHAR V. G. 1999. — Molecular characterization of iridoviruses isolated from sympatric amphibians and fish. *Virus Research* 63 (1-2): 45-52. [https://doi.org/10.1016/S0168-1702\(99\)00057-X](https://doi.org/10.1016/S0168-1702(99)00057-X)
- MARTEL A., SPITZEN-VAN DER SLUIJS A., BLOOI M., BERT W., DUCATELLE R., FISHER M. C., WOELTJES A., BOSMAN W., CHIERS K., BOSSUYT F. & PASMANS F. 2013. — *Batrachochytrium salamandrivorans* sp. nov. causes lethal chytridiomycosis in amphibians. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 110 (38): 15325-15329. <https://doi.org/10.1073/pnas.1307356110>
- MARTEL A., BLOOI M., ADRIAENSEN C., VAN ROOIJ P., BEUKEMA W., FISHER M. C., FARRER R. A., SCHMIDT B. R., TOBLER U., GOKA K., LIPS K. R., MULETZ C., ZAMUDIO K. R., BOSCH J., LOTTERS S., WOMBWELL E., GARNER T. W. J., CUNNINGHAM A. A., SPITZEN-VAN DER SLUIJS A., SALVIDIO S., DUCATELLE R., NISHIKAWA K., NGUYEN T. T., KOLBY J. E., VAN BOCXLAER I., BOSSUYT F. & PASMANS F. 2014. — Recent introduction of a chytrid fungus endangers Western Palearctic salamanders. *Science* 346 (6209): 630-631. <https://doi.org/10.1126/science.1258268>
- MARTEL A., VILA-ESCALE M., FERNÁNDEZ-GIBERTEAU D., MARTINEZ-SILVESTRE A., CANESSA S., VAN PRAET S., PANNON P., CHIERS K., FERRAN A., KELLY M., PICART M., PIULATS D., LI Z., PAGONE V., PÉREZ-SORRIBES L., MOLINA C., TARRAGÓ-GUARRO A., VELARDE-NIETO R., CARBONELL F., OBON E., MARTÍNEZ-MARTÍNEZ D., GUINART D., CASANOVAS R., CARRANZA S. & PASMANS F. 2020. — Integral chain management of wildlife diseases. *Conservation Letters* 13 (2): e12707. <https://doi.org/10.1111/conl.12707>
- MARTIN D. & HONG H. 1991. — The use of Bactine in the treatment of open wounds and other lesions in captive anurans. *Herpetological Review* 22: 21.
- MATOS C., PETROVAN S. O., WHEELER P. M. & WARD A. I. 2019. — Landscape connectivity and spatial prioritization in an urbanising world: a network analysis approach for a threatened amphibian. *Biological Conservation* 237: 238-247. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2019.06.035>
- MATUTINI F., BAUDRY J., FORTIN M.-J., PAIN G. & PITHON J. 2021. — Integrating landscape resistance and multi-scale predictor of habitat selection for amphibian distribution modelling at large scale. *Landscape Ecology* 36 (12): 3557-3573. <https://doi.org/10.1007/s10980-021-01327-2>
- MCMAHON T. A., BRANNELLY L. A., CHATFIELD M. W. H., JOHNSON P. T. J., JOSEPH M. B., MCKENZIE V. J., RICHARDS-ZAWACK C. L., VENESKY M. D. & ROHR J. R. 2013. — Chytrid fungus *Batrachochytrium dendrobatidis* has nonamphibian hosts and releases chemicals that cause pathology in the absence of infection. *PNAS* 110 (1): 210-215. <https://doi.org/10.1073/pnas.1200592110>
- MEDINA D., GARNER T., CARRASCAL L. & BOSCH J. 2015. — Delayed metamorphosis of amphibian larvae facilitates *Batrachochytrium dendrobatidis* transmission and persistence. *Diseases of Aquatic Organisms* 117 (2): 85-92. <https://doi.org/10.3354/dao02934>
- MENDEZ D., WEBB R., BERGER L. & SPEARE R. 2008. — Survival of the amphibian chytrid fungus *Batrachochytrium dendrobatidis* on bare hands and gloves: hygiene implications for amphibian handling. *Diseases of Aquatic Organisms* 82 (2): 97-104. <https://doi.org/10.3354/dao01975>
- MIAUD C. 2013. — Un champignon menace les amphibiens. *PLoS ONE* 7 (7): e41481.
- MIAUD C., POZET F., GAUDIN N. C. G., MARTEL A., PASMANS F. & LABRUT S. 2016. — Ranavirus causes mass die-offs of alpine amphibians in the southwestern alps, france. *Journal of Wildlife Diseases* 52 (2): 242-252. <https://doi.org/10.7589/2015-05-113>
- MIAUD C., ARNAL V., POULAIN M., VALENTINI A. & DEJEAN T. 2019. — eDNA increases the detectability of ranavirus infection in an alpine amphibian population. *Viruses* 11 (6): 526. <https://doi.org/10.3390/v11060526>
- MILLER D., GRAY M. & STORFER A. 2011. — Ecopathology of ranaviruses infecting amphibians. *Viruses* 3 (11): 2351-2373. <https://doi.org/10.3390/v3112351>
- MILLER E. & FOWLER M. E. 2015. — *Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine*. Vol. 8. Elsevier, Amsterdam, 792 p. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4557-7397-8.00083-9>
- MINISTERE DE LA TRANSITION ÉCOLOGIQUE ET DE LA COHÉSION DES TERRITOIRES 2021. — Arrêté du 8 janvier 2021 fixant la liste des amphibiens et des reptiles représentés sur le territoire métropolitain protégés sur l'ensemble du territoire national et les modalités de leur protection. *Journal officiel de la République française* 3: 1-5.
- MIOCEVIC I., SMITH J., OWENS L. & SPEARE R. 1993. — Ultraviolet sterilisation of model viruses important to finfish aquaculture in Australia. *Australian Veterinary Journal* 70 (1): 25-27. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1993.tb00793.x>
- MITCHELL M. A. 2011. — Zoonotic diseases associated with reptiles and amphibians: an update. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice* 14 (3): 439-456. <https://doi.org/10.1016/j.cvex.2011.05.005>
- MOSS A. S., REDDY N. S., DORTAJ I. M. & SAN FRANCISCO M. J. 2008. — Chemotaxis of the amphibian pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* and its response to a variety of attractants. *Mycologia* 100 (1): 1-5. <https://doi.org/10.1080/15572536.2008.11832493>

- NAZIR J., HAUMACHER R., IKE A. C. & MARSCHANG R. E. 2011. — Persistence of avian influenza viruses in lake sediment, duck feces, and duck meat. *Applied and Environmental Microbiology* 77 (14): 4981-4985. <https://doi.org/10.1128/AEM.00415-11>
- NAZIR J., SPENGLER M. & MARSCHANG R. 2012. — Environmental persistence of amphibian and reptilian ranaviruses. *Diseases of Aquatic Organisms* 98 (3): 177-184. <https://doi.org/10.3354/dao02443>
- NORTON T. M., ANDREW K. M. & SMITH L. 2019. — Working with free-ranging amphibians and reptiles, in DIVERS S. J. & STAHL S. J. (éds), *Mader's Reptile and Amphibian Medicine and Surgery*. Elsevier, Amsterdam: 1366-1381.
- OLSON D. H., RONNENBERG K. L., GLIDDEN C. K., CHRISTIANSEN K. R. & BLAUSTEIN A. R. 2021. — Global patterns of the fungal pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* support conservation urgency. *Frontiers in Veterinary Science* 8: 685877. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.685877>
- ORIGGI F. C. & TAUGBØL A. 2023. — *Ranid Herpesvirus 3* infection in common frog *Rana temporaria* tadpoles. *Emerging Infectious Diseases* 29 (6): 1228-1231. <https://doi.org/10.3201/eid2906.230255>
- ORIGGI F. C., SCHMIDT B. R., LOHMANN P., OTTEN P., AKDESIR E., GASCHEN V., AGUILAR-BULTET L., WAHLI T., SATTLER U. & STOFFEL M. H. 2017. — *Ranid Herpesvirus 3* and proliferative dermatitis in free-ranging wild common frogs (*Rana temporaria*). *Veterinary Pathology* 54 (4): 686-694. <https://doi.org/10.1177/0300985817705176>
- ORIGGI F. C., OTTEN P., LOHMANN P., SATTLER U., WAHLI T., LAVAZZA A., GASCHEN V. & STOFFEL M. H. 2021. — Herpesvirus-associated proliferative skin disease in frogs and toads: proposed pathogenesis. *Veterinary Pathology* 58 (4): 713-729. <https://doi.org/10.1177/03009858211006385>
- ORIGGI F. C., SCHMIDT B. R., LOHMANN P., OTTEN P., MEIER R. K., PISANO S. R. R., MOORE-JONES G., TECILLA M., SATTLER U., WAHLI T., GASCHEN V. & STOFFEL M. H. 2018. — *Bufo* *herpesvirus 1* (BfHV1) associated dermatitis and mortality in free ranging common toads (*Bufo bufo*) in Switzerland. *Scientific Reports* 8 (1): 14737. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-32841-0>
- OSWALD P., RODRÍGUEZ A., BOURKE J., WAGNER N., DE BUHR N., BUSCHMANN H., VON KÖCKRITZ-BLICKWEDE M. & PRÖHL H. 2020. — Locality, time and heterozygosity affect chytrid infection in yellow-bellied toads. *Diseases of Aquatic Organisms* 142: 225-237. <https://doi.org/10.3354/dao03543>
- PALUMBO L. 2021. — *Surveillance sanitaire des amphibiens dans les parcs nationaux français et épidémiologie des événements de mortalité dus à des ranavirus dans ces espaces protégés*. ENVT-université de Toulouse, 93 p.
- PALUMBO L. 2022. — Lettre d'information du réseau SAGIR. *SAGIR* 191:1-23 p.
- PAUZA M., DRIESSEN M. & SKERRATT L. 2010. — Distribution and risk factors for spread of amphibian chytrid fungus *Batrachochytrium dendrobatidis* in the Tasmanian Wilderness World Heritage Area, Australia. *Diseases of Aquatic Organisms* 92 (2-3): 193-199. <https://doi.org/10.3354/dao02212>
- PESSIER A. & MENDELSON J. 2017. — *A Manual for Control of Infectious Diseases in Amphibian Survival Assurance Colonies and Reintroduction Programs*. Version 2. IUCN/SSC Conservation Breeding Specialist Group, Apple Valley, 284 p.
- PHILIPPART A. 2020. — *Étude de la prévalence de l'Anguillid herpesvirus 1 chez l'anguille européenne (Anguilla anguilla) au sein de cours d'eau wallons*. Université de Liège, 51 p.
- PHILLOTT A., SPEARE R., HINES H., SKERRATT L., MEYER E., MCDONALD K., CASHINS S., MENDEZ D. & BERGER L. 2010. — Minimising exposure of amphibians to pathogens during field studies. *Diseases of Aquatic Organisms* 92 (3): 175-185. <https://doi.org/10.3354/dao02162>
- PIOTROWSKI J. S., ANNIS S. L. & LONGCORE J. E. 2004. — Physiology of *Batrachochytrium dendrobatidis*, a chytrid pathogen of amphibians. *Mycologia* 96 (1): 9-15. <https://doi.org/10.1080/15572536.2005.11832990>
- PITTMAN S. E., OSBOURN M. S. & SEMLITSCH R. D. 2014. — Movement ecology of amphibians: a missing component for understanding population declines. *Biological Conservation* 169: 44-53. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2013.10.020>
- PRICE S. J., GARNER T. W. J., NICHOLS R. A., BALLOUX F., AYRES C., MORA-CABELLO ALBA A. DE & BOSCH J. 2014. — Collapse of amphibian communities due to an introduced ranavirus. *Current Biology* 24 (21): 2586-2591. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.09.028>
- PUSCHENDORF R. & BOLAÑOS F. 2006. — Detection of *Batrachochytrium dendrobatidis* in *Eleutherodactylus fitzingeri*: effects of skin sample location and histologic stain. *Journal of Wildlife Diseases* 42 (2): 301-306. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-42.2.301>
- RAHMAN H. S. & CHOI T.-J. 2018. — The efficacy of Virkon-S for the control of saprolegniasis in common carp, *Cyprinus carpio* L. *PeerJ* 6: e5706. <https://doi.org/10.7717/peerj.5706>
- RAMA BHAT P., PRAJNA P. S., VINITA PREETHI M. & PAVITHRA S. 2011. — Antimicrobial activities of soap and detergents. *Advanced in BioResearch* 2 (2): 52-62.
- RAMEY A. M., REEVES A. B., DREXLER J. Z., ACKERMAN J. T., CRUZ S. DE LA, LANG A. S., LEYSON C., LINK P., PROSSER D. J., ROBERTSON G. J., WIGHT J., YOUK S., SPACKMAN E., PANTIN-JACKWOOD M., POULSON R. L. & STALLKNECHT D. E. 2020. — Influenza A viruses remain infectious for more than seven months in northern wetlands of North America. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 287 (1934): 20201680. <https://doi.org/10.1098/rspb.2020.1680>
- RAMEY A. M., REEVES A. B., LAGASSÉ B. J., PATIL V., HUBBARD L. E., KOLPIN D. W., MCCLESKEY R. B., REPERT D. A., STALLKNECHT D. E. & POULSON R. L. 2022. — Evidence for interannual persistence of infectious influenza A viruses in Alaska wetlands. *Science of The Total Environment* 803: 150078. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150078>
- REAVILL D. R. & SCHMIDT R. E. 2012. — Mycobacterial lesions in fish, amphibians, reptiles, rodents, lagomorphs, and ferrets with reference to animal models. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice* 15 (1): 25-40. <https://doi.org/10.1016/j.cvex.2011.10.001>
- REED A. N. 2014. — *The Conserved Biology of Herpesvirus Latency: a Study in Cyprinid Herpesvirus 3*. Oregon State University, Corvallis, 195 p.
- REEDER N. M. M., PESSIER A. P. & VREDENBURG V. T. 2012. — A reservoir species for the emerging amphibian pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* thrives in a landscape decimated by disease. *PLoS ONE* 7 (3): e33567. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033567>
- ROJAS S., RICHARDS K., JANCOVICH J. & DAVIDSON E. 2005. — Influence of temperature on Ranavirus infection in larval salamanders *Ambystoma tigrinum*. *Diseases of Aquatic Organisms* 63 (2-3): 95-100. <https://doi.org/10.3354/dao063095>
- ROMANO A., COSTA A., BASILE M., RAIMONDI R., POSILICO M., SCINTI ROGER D., CRISCI A., PIRACCINI R., RAIA P., MATTEUCCI G. & DE CINTI B. 2017. — Conservation of salamanders in managed forests: methods and costs of monitoring abundance and habitat selection. *Forest Ecology and Management* 400: 12-18. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2017.05.048>
- ROUZIC N., DESMIER L., CARIOU M.-E., GAY E., FOSTER J. T., WILLIAMSON C. H. D., SCHMITT F., LE HENAFF M., LE COZ A., LORLÉAC'H A., LAVIGNE J.-P., O'CALLAGHAN D. & KERIEL A. 2021. — First case of Brucellosis caused by an amphibian-type *Brucella*. *Clinical Infectious Diseases* 72 (9): e404-e407. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa1082>
- ROWLEY J. & ALFORD R. 2007. — Behaviour of Australian rainforest stream frogs may affect the transmission of chytridiomycosis. *Diseases of Aquatic Organisms* 77: 1-9. <https://doi.org/10.3354/dao01830>

- RYSSSEL H., KLOETERS O., GERMANN G., SCHÄFER TH., WIEDEMANN G. & OEHLBAUER M. 2009. — The antimicrobial effect of acetic acid – an alternative to common local antiseptics? *Burns* 35 (5): 695-700. <https://doi.org/10.1016/j.burns.2008.11.009>
- SAUCEDO B., SERRANO J. M., JACINTO-MALDONADO M., LEUVEN R. S. E. W., ROCHA GARCÍA A. A., MÉNDEZ BERNAL A., GRÖNE A., VAN BEURDEN S. J. & ESCOBEDO-BONILLA C. M. 2019. — Pathogen risk analysis for wild amphibian populations following the first report of a ranavirus outbreak in farmed American bullfrogs (*Lithobates catesbeianus*) from Northern Mexico. *Viruses* 11 (1): 26. <https://doi.org/10.3390/v11010026>
- SAUERBREI A. 2020. — Bactericidal and virucidal activity of ethanol and povidone-iodine. *MicrobiologyOpen* 9 (9): e1097. <https://doi.org/10.1002/mbo3.1097>
- SCHEELE B. C., PASMANS F., SKERRATT L. F., BERGER L., MARTEL A., BEUKEMA W., ACEVEDO A. A., BURROWES P. A., CARVALHO T., CATENAZZI A., DE LA RIVA I., FISHER M. C., FLECHAS S. V., FOSTER C. N., FRÍAS-ÁLVAREZ P., GARNER T. W. J., GRATWICKE B., GUAYASAMIN J. M., HIRSCHFELD M., KOLBY J. E., KOSCH T. A., LA MARCA E., LINDENMAYER D. B., LIPS K. R., LONGO A. V., MANEYRO R., MCDONALD C. A., MENDELSON J., PALACIOS-RODRIGUEZ P., PARRA-OLEA G., RICHARDS-ZAWACKI C. L., RÖDEL M.-O., ROVITO S. M., SOTO-AZAT C., TOLEDO L. F., VOYLES J., WELDON C., WHITFIELD S. M., WILKINSON M., ZAMUDIO K. R. & CANESSA S. 2019. — Amphibian fungal panzootic causes catastrophic and ongoing loss of biodiversity. *Science* 363 (6434): 1459-1463. <https://doi.org/10.1126/science.aav0379>
- SCHMELLER D. S., BLOOI M., MARTEL A., GARNER T. W. J., FISHER M. C., AZEMAR F., CLARE F. C., LECLERC C., JÄGER L., GUEVARA-NIETO M., LOYAU A. & PASMANS F. 2014. — Microscopic aquatic predators strongly affect infection dynamics of a globally emerged pathogen. *Current Biology* 24 (2): 176-180. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.11.032>
- SCHMIDT B., PEYER N., KELLER N., GEISER C. & VON RÜTTE M. 2009. — Assessing whether disinfectants against the fungus *Batrachochytrium dendrobatidis* have negative effects on tadpoles and zooplankton. *Amphibia-Reptilia* 30 (3): 313-319. <https://doi.org/10.1163/156853809788795245>
- SENTENAC H., LOYAU A., LEFLAIVE J. & SCHMELLER D. S. 2022. — The significance of biofilms to human, animal, plant and ecosystem health. *Functional Ecology* 36 (2): 294-313. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.13947>
- SENTENAC H., VALENZUELA-SÁNCHEZ A., HADDOW-BROWN N., DELGADO S., AZAT C. & CUNNINGHAM A. A. 2023. — Accounting for bias in prevalence estimation: the case of a globally emerging pathogen. *Journal of Applied Ecology* 60 (9): 2007-2017. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.14457>
- SHAPARD E. J., MOSS A. S. & SAN FRANCISCO M. J. 2012. — *Batrachochytrium dendrobatidis* can infect and cause mortality in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Mycopathologia* 173 (2-3): 121-126. <https://doi.org/10.1007/s11046-011-9470-2>
- SHIN J., BATAILLE A., KOSCH T. A. & WALDMAN B. 2014. — Swabbing often fails to detect amphibian Chytridiomycosis under conditions of low infection load. *PLoS ONE* 9 (10): e111091. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111091>
- SHUMEI Z., JUNFENG G., GAO R., DONG L., ZHOU J., ZHANG Y., DONG J., BO H., QIN K. & SHU Y. 2013. — Inactivation of the novel avian influenza A (H7N9) virus under physical conditions or chemical agents treatment. *Virology Journal* 10 (1): 289. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-10-289>
- SIMBERLOFF D., MARTIN J.-L., GENOVESI P., MARIS V., WARDLE D. A., ARONSON J., COURCHAMP F., GALIL B., GARCÍA-BERTHOUE E., PASCAL M., PYŠEK P., SOUSA R., TABACCHI E. & VILÀ M. 2013. — Impacts of biological invasions: what's what and the way forward. *Trends in Ecology & Evolution* 28 (1): 58-66. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2012.07.013>
- SINSCH U. 2014. — Movement ecology of amphibians: from individual migratory behaviour to spatially structured populations in heterogeneous landscapes. *Canadian Journal of Zoology* 92 (6): 491-502. <https://doi.org/10.1139/cjz-2013-0028>
- SKERRATT L., BERGER L., HINES H., MCDONALD K., MENDEZ D. & SPEARE R. 2008. — Survey protocol for detecting chytridiomycosis in all Australian frog populations. *Diseases of Aquatic Organisms* 80 (2): 85-94. <https://doi.org/10.3354/dao01923>
- SMITH M. A. & GREEN D. M. 2005. — Dispersal and the metapopulation paradigm in amphibian ecology and conservation: are all amphibian populations metapopulations? *Ecography* 28 (1): 110-128. <https://doi.org/10.1111/j.0906-7590.2005.04042.x>
- SPEARE R., BERGER L., SKERRATT L.F., ALFORD R., MENDEZ D., CASHINS S., KENYON N., HAUSELBERGER K. & ROWLEY J. 2004. — *Hygiene Protocol for Handling Amphibians in Field Studies*. James Cook University, Townsville, 4 p.
- SPITZEN-VAN DER SLUIJS A., SPIKMANS F., BOSMAN W., DE ZEEUW M., VAN DER MEIJ T., GOVERSE E., KIK M., PASMANS F. & MARTEL A. 2013. — Rapid enigmatic decline drives the fire salamander (*Salamandra salamandra*) to the edge of extinction in the Netherlands. *Amphibia-Reptilia* 34 (2): 233-239. <https://doi.org/10.1163/15685381-00002891>
- SPITZEN-VAN DER SLUIJS A., MARTEL A., ASSELBERGHS J., BALES E. K., BEUKEMA W., BLETZ M. C., DALBECK L., GOVERSE E., KERRÉS A., KINET T., KIRST K., LAUDELOUT A., MARIN DA FONTE L. F., NÖLLERT A., OHLHOFF D., SABINO-PINTO J., SCHMIDT B. R., SPEYBROECK J., SPIKMANS F., STEINFARTZ S., VEITH M., VENCES M., WAGNER N., PASMANS F. & LÖTTERS S. 2016. — Expanding distribution of lethal amphibian fungus *Batrachochytrium salamandrivorans* in Europe. *Emerging Infectious Diseases* 22 (7): 1286-1288. <https://doi.org/10.3201/eid2207.160109>
- STALLKNECHT D. E., KEARNEY M. T., SHANE S. M. & ZWANK P. J. 1990. — Effects of pH, temperature, and salinity on persistence of avian influenza viruses in water. *Avian Diseases* 34 (2): 412. <https://doi.org/10.2307/1591429>
- STARLIPER C. E., SMITH D. R. & SHAZER T. 1997. — Virulence of *Renibacterium salmoninarum* to Salmonids. *Journal of Aquatic Animal Health* 9 (1): 1-7. [https://doi.org/10.1577/1548-8667\(1997\)009%3C0001:VORSTS%3E2.3.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8667(1997)009%3C0001:VORSTS%3E2.3.CO;2)
- STASSEN R. & LESTANG L. 2021. — *Protocole d'hygiène et conseils pratiques pour la prévention de la transmission d'agents pathogènes Batrachochytrium salamandrivorans (Bsal), Batrachochytrium dendrobatidis (Bd) et Ranavirus entre les populations d'amphibiens*. Administration de la nature et des forêts, Luxembourg, 15 p.
- STEGEN G., PASMANS F., SCHMIDT B. R., ROUFFAER L. O., VAN PRAET S., SCHAUB M., CANESSA S., LAUDELOUT A., KINET T., ADRIAENSEN C., HAESBROUCK F., BERT W., BOSSUYT F. & MARTEL A. 2017. — Drivers of salamander extirpation mediated by *Batrachochytrium salamandrivorans*. *Nature* 544 (7650): 353-356. <https://doi.org/10.1038/nature22059>
- STOCKTON K. A. & MOFFITT C. M. 2013. — Disinfection of three wading boot surfaces infested with New Zealand mudsnails. *North American Journal of Fisheries Management* 33 (3): 529-538. <https://doi.org/10.1080/02755947.2013.768569>
- STOCKTON-FITZ K. A. & MOFFITT C. M. 2017. — Safety and efficacy of Virkon® aquatic as a control tool for invasive Molluscs in aquaculture. *Aquaculture* 480: 71-76. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.08.005>
- STUART S. N., CHANSON J. S., COX N. A., YOUNG B. E., RODRIGUES A. S. L., FISCHMAN D. L. & WALLER R. W. 2004. — Status and trends of amphibian declines and extinctions worldwide. *Science* 306 (5702): 1783-1786. <https://doi.org/10.1126/science.1103538>
- SVOBODA J., MRUGAŁA A., KOZUBÍKOVÁ-BALCAROVÁ E., KOUBA A., DIÉGUEZ-URIBEONDO J. & PETRUSEK A. 2014. — Resistance to the crayfish plague pathogen, *Aphanomyces astaci*, in two freshwater shrimps. *Journal of Invertebrate Pathology* 121: 97-104. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2014.07.004>
- TEACHER A. G. F., CUNNINGHAM A. A. & GARNER T. W. J. 2010. — Assessing the long-term impact of Ranavirus infection in wild



- common frog populations: impact of Ranavirus on wild frog populations. *Animal Conservation* 13 (5): 514-522. <https://doi.org/10.1111/j.1469-1795.2010.00373.x>
- TEDESCO P., FIORAVANTI M. L. & GALUPPI R. 2019. — *In vitro* activity of chemicals and commercial products against *Saprolegnia parasitica* and *Saprolegnia delica* strains. *Journal of Fish Diseases* 42 (2): 237-248. <https://doi.org/10.1111/jfd.12923>
- THOMAS V., VAN ROOIJ P., MEERPOEL C., STEGEN G., WAUTERS J., VANHAECKE L., MARTEL A. & PASMANS F. 2020. — Instant killing of pathogenic chytrid fungi by disposable nitrile gloves prevents disease transmission between amphibians. *PLOS ONE* 15 (10): e0241048. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0241048>
- TIDBURY H. J., JOINER C. L., RIMMER G. S. E., POTTER H. V. & TAYLOR N. G. H. 2018. — The effectiveness of fishery net dips: advice for the improvement of biosecurity measures. *Journal of Fish Diseases* 41 (11): 1625-1630. <https://doi.org/10.1111/jfd.12868>
- TIFFNEY W. N. 1939. — The host range of *Saprolegnia parasitica*. *Mycologia* 31 (3): 310-321. <https://doi.org/10.1080/00275514.1939.12017346>
- IUCN (UNION INTERNATIONALE POUR LA CONSERVATION DE LA NATURE) 2001. — *IUCN Red List Categories and Criteria*, version 3.1. IUCN. <https://portals.iucn.org/library/node/7977>, dernière consultation le 1<sup>er</sup> juillet 2024.
- UNESTAM T. 1969. — On the adaptation of *Aphanomyces astaci* as a parasite. *Physiologia Plantarum* 22 (2): 221-235. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1969.tb07371.x>
- VAN ROOIJ P., MARTEL A., D'HERDE K., BRUTYN M., CROUBELS S., DUCATELLE R., HAESBROUCK F. & PASMANS F. 2012. — Germ tube mediated invasion of *Batrachochytrium dendrobatidis* in amphibian skin is host dependent. *PLOS ONE* 7 (7): e41481. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0041481>
- VAN ROOIJ P., MARTEL A., HAESBROUCK F. & PASMANS F. 2015. — Amphibian chytridiomycosis: a review with focus on fungus-host interactions. *Veterinary Research* 46 (1): 137. <https://doi.org/10.1186/s13567-015-0266-0>
- 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. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0186269>
- WAKE D. B. & VREDENBURG V. T. 2008. — Are we in the midst of the sixth mass extinction? A view from the world of amphibians. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105 (supplement\_1): 11466-11473. <https://doi.org/10.1073/pnas.0801921105>
- WALKER S. F., BOSCH J., JAMES T. Y., LITVINTSEVA A. P., OLIVER VALLS J. A., PIÑA S., GARCÍA G., ROSA G. A., CUNNINGHAM A. A., HOLE S., GRIFFITHS R. & FISHER M. C. 2008. — Invasive pathogens threaten species recovery programs. *Current Biology* 18 (18): R853-R854. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2008.07.033>
- WEBB R., MENDEZ D., BERGER L. & SPEARE R. 2007. — Additional disinfectants effective against the amphibian chytrid fungus *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Diseases of Aquatic Organisms* 74 (1): 13-16. <https://doi.org/10.3354/dao074013>
- WELDON C., DU PREEZ L. H., HYATT A. D., MULLER R. & SPEARE R. 2004. — Origin of the amphibian chytrid fungus. *Emerging Infectious Diseases* 10 (12): 2100-2105. <https://doi.org/10.3201/eid1012.030804>
- WELLS K. 2007. — *The Ecology & Behavior of Amphibians*. University of Chicago Press., Chicago, 1400 p. <https://doi.org/10.7202/chicago/9780226893334.001.0001>
- WHITAKER B. R. & WRIGHT K. M. 2019. — Amphibian medicine, mader's reptile and amphibian medicine and surgery, in Divers S. J. & Stahl S. J. (éds), *Mader's Reptile and Amphibian Medicine and Surgery*. Elsevier, Amsterdam: 993-1013.
- WHITTINGTON R., KEARNS C., HYATT A., HENGSTBERGER S. & RUTZOU T. 1996. — Spread of epizootic haematopoietic necrosis virus (EHNV) in redfin perch (*Perca fluviatilis*) in southern Australia. *Australian Veterinary Journal* 73 (3): 112-114. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1996.tb09992.x>
- WILLSON S. J., KAUFMAN M. G., MERRITT R. W., WILLIAMSON H. R., MALAKAUSKAS D. M. & BENBOW M. E. 2013. — Fish and amphibians as potential reservoirs of *Mycobacterium ulcerans*, the causative agent of Buruli ulcer disease. *Infection Ecology & Epidemiology* 3 (1): 19946. <https://doi.org/10.3402/iee.v3i0.19946>
- WORTH CALFEE M. & WENDLING M. 2012. — The effects of environmental conditions on persistence and inactivation of *Brucella suis* on building material surfaces: *Br. suis* inactivation and persistence. *Letters in Applied Microbiology* 54 (6): 504-510. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2012.03237.x>
- WRIGHT K. M. & WHITAKER B. R. 2001. — *Amphibian Medicine and Captive Husbandry*. Krieger Pub Co, Malabar, 570 p.
- YAMASAKI M., SAKAI T., ITO T. & MORI K. 2017. — Bactericidal effects of disinfectants on *Yersinia ruckeri*. *Fish Pathology* 52 (4): 198-201. <https://doi.org/10.3147/jsfp.52.198>
- YANONG R. P. E. & ERLACHER-REID C. 2012. — Biosecurity in Aquaculture, Part 1: an overview. *Southern Regional Aquaculture Center* 4707: 1-15.
- YAP T. A., NGUYEN N. T., SERR M., SHEPACK A. & VREDENBURG V. T. 2017. — *Batrachochytrium salamandrivorans* and the risk of a second amphibian pandemic. *EcoHealth* 14 (4): 851-864. <https://doi.org/10.1007/s10393-017-1278-1>
- YOSHIMOTO J., ONO C., TSUCHIYA Y., KABUTO S., KISHI M. & MATSUURA Y. 2021. — Virucidal effect of acetic acid and vinegar on severe acute respiratory syndrome coronavirus 2. *Food Science and Technology Research* 27 (4): 681-684. <https://doi.org/10.3136/fstr.27.681>
- ZINN M.-K. & BOCKMÜHL D. 2020. — Did granny know best? Evaluating the antibacterial, antifungal and antiviral efficacy of acetic acid for home care procedures. *BMC Microbiology* 20 (1): 265. <https://doi.org/10.1186/s12866-020-01948-8>
- ZUMBADO-ÚLATE H., GARCÍA-RODRÍGUEZ A., VREDENBURG V. T. & SEARLE C. 2019. — Infection with *Batrachochytrium dendrobatidis* is common in tropical lowland habitats: implications for amphibian conservation. *Ecology and Evolution* 9 (8): 4917-4930. <https://doi.org/10.1002/ece3.5098>

Soumis le 29 septembre 2023 ;  
 accepté le 7 février 2024 ;  
 publié le 25 septembre 2024.

ANNEXE

ANNEXE 1. — Caractéristiques écotoxiques des principales molécules composant les désinfectants classiquement utilisés. Les différences de paramètres (température, pH) entre certaines sources expliquent les différences de valeurs parfois retrouvées. Abréviations : **301 B**, méthode par évolution du CO<sub>2</sub>, le critère de validité est <70 mg CO<sub>2</sub>/L après 28 jours; **301D**, méthode par bouteille fermée; **301E**, examen OECD modifié; **AMM**, autorisation de mise sur le marché; **CAS**, service des résumés chimiques; **CE10**, concentration effective 10 % représentent la toxicité au long terme; **CL/CE50**, concentration létale/effective 50 % représente la toxicité à court terme; **DT50** ou **T1/2**, temps de demi-vie; **H314**, « Provoque de graves brûlures de la peau et des lésions oculaires »; **H319**, « Provoque une grave irritation des yeux »; **H400**, « Très toxiques pour les organismes »; **H410** et **H411**, « Très toxiques pour les organismes, avec des effets à long terme »; **H412**, « Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme »; **logP** ou **Kow**, Log du coefficient de partage octanol/eau qui représente la bioaccumulation, les valeurs basses ou négatives témoignent d'une non bioaccumulation; **NAP**, Non Applicable (dans le cas des substances inorganiques); **ND**, donnée non disponible; **NOEC**, concentration sans effet observable; **OECD**, Organisation de la Coopération Economique et du Développement; **PNEC**, concentration prédite sans effet; **RB**, Rapidement Biodégradable (si le test OECD est validé en 28 jours). D'après le registre AMM des biocides de l'Agence nationale de Sécurité sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail (ANSES; <https://www.anses.fr/fr/content/registre-des-amm-de-produits-biocides>, dernière consultation le 1<sup>er</sup> juillet 2024); la plateforme pubchem: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>, dernière consultation le 1<sup>er</sup> juillet 2024; le portail substances chimique de l'INERIS et les fiches toxicologiques associées: <https://substances.ineris.fr/fr/>, dernière consultation le 1<sup>er</sup> juillet 2024; le portail substance de l'OECD (The Organisation for Economic Co-operation and Development): <https://www.chemportal.org/chemportal/substance-search>, dernière consultation le 1<sup>er</sup> juillet 2024, essentiellement les dossiers d'enregistrement ECHA (European Chemicals Agency): <https://echa.europa.eu/information-on-chemicals>, dernière consultation le 1<sup>er</sup> juillet 2024; les fiches de données de sécurité des distributeurs ou fabricants.

Molécules		Éthanol (EtOH)	Chlorure de didécyl diméthyl ammonium (DDAC)	Peroxymono-sulfate de potassium (Virkon S®)	Acidé péra cétique PAA	Peroxyde d'hydrogène (H2O2)	Acide acétique AA	Hypochlorite de sodium (Javel)
Identification N° CAS		64-17-5	7173-51-5	10058-23-8	79-21-0	7722-84-1	64-19-7	7681-52-9
Exemple de produit et fabricant		Axisurf® spray ND Alcool modifié 70 % volume®	Axisurf® spray ND TriGene Il® pas d'AMM en France	Virkon S® Virkon Tablet® Virkon Aquatic® : pas d'AMM en France	AXISURF® DHN Kickstart®	AXISURF® DHN Kickstart®	AXISURF® DHN Kickstart®	DAAP19 Eau de Javel BEC 2,6 %
Biodégradabilité en milieu aqueux aérobie		RB OECD 301E 94 % 28 jours 89 % en 14 jours	RB OECD 301B 80 % 28 jours	NAP	RB OECD 301E 98 % 28 jours OECD 301 D 87 % 28 jours	RB OECD 301 E 28 jours	RB OECD 301 E 98 % 28 jours (Méthode non précisée)	NAP
Persistence (T½ vie ou DT50)	Sol	ND Évaporation rapide	Sol 20,8 jours Sédiment aquatique 208 jours	ND	99 % <0,5 h 1 min 2,7 min	12 h	2 jours	ND
	Eau (avec biodégradation)	3,3 jours 38,9 jours 3 jours	ND	ND	5 min	0,3-5 jours	ND	ND
Stabilité dans l'eau (Hydrolyse sans biodégradation)		1-36 ans	1 an	ND 5 jours (fabricant)	31,7 h 2 jours 5 jours	5 jours	ND	ND
Facteur de risque de bioaccumulation Log P ou Kow (Non si négatif ou <3)		Non - 0,32	Non <3	Non 0,3	Non - 0,26	Non - 1,57	Non - 0,17	Non - 3,42
Écotoxicité sur les organismes aquatiques à court et long terme	Poissons (mg/L)	CL/CE50 14 200 > 1000 96 h	0,49 0,16-0,27	53 32 (Virkon S® 24.6)	0,53 0,91 16,4 (Kickstart® : 25)	37,4 >300 (Kickstart® : 25)	300,82 (Kickstart® : 25)	0,06
	Invertébrés (mg/L)	NOEC/CE10 250 CL/CE50 9268 > 1000 48 h	0,032 0,062 0,03 0,014-0,022	ND 3,5 (Virkon S® 6,5)	0,001 0,48 0,73 2 (Kickstart® : 10)	ND 2,4 (Kickstart® : 10)	ND 300,82 (Kickstart® : 10)	>0,005 0,04 0,005 0,141 0,035
	Algues (mg/L)	NOEC/CE10 9,6 (mg/L) CL/CE50 275 1000 72 h	0,014 0,021 0,06 0,008-0,024	ND > 1	0,0121 0,16	2 0,63 1,6 2,62	31,4 >300	0,007 0,1

## ANNEXE 1. — Suite.

Molécules		Éthanol (EtOH)	Chlorure de didécyl diméthyl ammonium (DDAC)	Peroxymono- sulfate de potassium (Virkon S®)	Acidé pé- cétique PAA	Peroxyde d'hydrogène (H2O2)	Acide acétique AA	Hypochlorite de sodium (Javel)
Identification N° CAS		64-17-5	7173-51-5	10058-23-8	79-21-0	7722-84-1	64-19-7	7681-52-9
PNEC	Algues NOEC/ (mg/L) CE10	280 11,5	0,011	0,5 (Produit 6.25)	0,061	0,1 0,63	300,82	0,002
	Eau douce (mg/L)	0,96	0.0011	0.022	0,0002	0,013	3,05	0,0002
	Sédiment eau douce (mg/kg)	3,6	61,86	0.078	0,0002	0,047	11,36	ND
	Sol (mg/kg)	0,63	1,4	1	0,32	0,002	0,47	ND
Station d'épuration (mg/L)	580	0,14	108	0,051	4,66	85	0,03 4,69	
Classement PBT: Persistant, bioaccumulable et toxique	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non
Irritation de contact: cutané et oculaire: H314, Oculaire: H319	H319	H314	H314	H314	H314	H314	H314	H314
Toxicité pour le milieu aquatique: Toxique: H412, Très toxique: H400, H410, H411	Non AXISURF® Spray ND H412	H400, H411 TriGene II® H412 AXISURF® Spray ND H412	H412 Virkon S® H412	H400 + H10 AXISURF® DHN H412 Kickstart® H410	H412 AXISURF® DHN H412 Kickstart® H410	Non AXISURF® DHN H412 Kickstart® H410	H400 + H410	
Agents et matières incompatibles	Agents oxydants puissant, acides forts	TriGene II®: agents oxydants, bases, agents réducteurs forts, acides forts, chlorures d'acides, anhydrides d'acides	Virkon S®: acides, substances combustibles, oxydants, bases fortes, laiton, cyanures, cuivre, composés halogénés, sels métalliques	AXISURF® DHN : bases, composés halogénés, métaux, agents réducteurs, anhydride acétique Kickstart®: acides, mélange alcalin, agents réducteurs composés organiques			Acides, métaux, matières organiques, sels métalliques	