

# Un cas de syndrome d'œdème chez le Calotriton des pyrénées *Calotriton asper* dans les Hautes-Pyrénées

## A case of edema syndrome in the pyrenean brook salamander *Calotriton asper* in the Hautes-Pyrénées

Albert MARTINEZ-SILVESTRE<sup>(1)</sup>, Marine DELUEN<sup>(2)</sup>, Audrey TROCHET<sup>(3)</sup>, Hugo LE CHEVALIER<sup>(2)</sup>, Alexis RIBAS<sup>(4)</sup>, Jaime BOSCH<sup>(5)</sup>, Barbora THUMSOVA<sup>(6,7)</sup>, Olivier CALVEZ<sup>(2)</sup> & Olivier GUILLAUME<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup> CRARC, Centre de Rehabilitation des Amphiens et Reptiles de la Catalogne. 08783 Masquefa. Barcelona, Espagne. crarc@amasquefa.com

<sup>(2)</sup> Station d'Ecologie Théorique et Expérimentale, CNRS, UAR2029, 09200 Moulis, France

<sup>(3)</sup> Société Herpétologique de France, Muséum d'Histoire Naturelle, CP41, 57 rue Cuvier, 75005, Paris, France

<sup>(4)</sup> (UB-IRBio), Facultat de Farmàcia i Ciències de l'Alimentació, Universitat de Barcelona, Institut de Recerca de la Biodiversitat, Barcelona, Espagne

<sup>(5)</sup> Biodiversity Research Institute, University of Oviedo-CSIC-Principality of Asturias. 33600 Mieres, Espagne

<sup>(6)</sup> Museo Nacional de Ciencias Naturales-CSIC. 28006 Madrid, Espagne;

<sup>(7)</sup> AHE; Asociación Herpetológica Española (AHE), 28006 Madrid, Espagne

**Summary** – For the first time in *Calotriton asper* (Dugès, 1952) (Urodela : Salamandridae), one specimen with edema syndrome was observed in the French department of Hautes-Pyrénées (65) in the Regional Pibeste-Aoulhet Nature Reserve. A treatment was attempted to apply, but the acute course of the disease ended with the death of the animal. Postmortem analyzes were negative for chytrids and ranaviruses. Additionally, the animal had parasitic cysts due to trematodes in the liver provably non related with the edema. The edema syndrome is multifactorial, and metabolic origin is suspected in this case.

**Keywords** - bloating, edema syndrome, Pyrenean brook newt, *Calotriton asper*.

Le syndrome d'œdème répond à de multiples causes, n'étant pas considéré comme une maladie en soi, mais comme un processus commun à de nombreuses maladies et qui nécessite un diagnostic approprié. Les maladies qui provoquent ce syndrome chez les urodèles peuvent être d'origine infectieuse, métabolique, toxique, hormonale, reproductive ou liées au développement embryonnaire (Duffus & Cunningham 2010). Par exemple, la présence de Ranavirus a été décrite comme étant une cause potentielle d'œdème chez les urodèles atteints par ce syndrome, et en particulier chez les larves (Miaud et al. 2016). Par ailleurs, une guérison spontanée a été aussi décrite chez une larve de salamandre avec œdème après quelques jours d'observation (Ayes 2022).

Un Calotriton des Pyrénées (*Calotriton asper*), femelle adulte, a été capturé manuellement le 22 juin 2020 avec 21 autres congénères adultes (tous d'apparence normale) au sein d'une population de la RNR du Pibeste-Aoulhet (Lat. 43,0628°; Long. -0,1475°; Alt. 500 m, avec une température sur site de capture de 10 °C). Cette capture a eu lieu dans le cadre du projet de recherche ISOLAPOP (ANR-

18-CE03-0011) qui impliquait le prélèvement en milieu naturel de 5 populations différentes de *C. asper*, le transport des animaux jusqu'au laboratoire (Station d'Ecologie Théorique et Expérimentale, Lat. 42,9580°; Long. 1,0864°; Alt. 430 m), un maintien en captivité temporaire et des expérimentations physiologiques et comportementales peu invasives. L'ensemble de la population a été mise en captivité dans un aquarium (80 x 35 x 40 cm) d'eau déchlorée régulée à une température de 15°C ± 1°C. Pour le besoin des expérimentations, les individus ont été marqués individuellement le 25 juin 2020 par l'injection de pit-tag (BIOLOG-ID, France; accreditation of animal experimentation n°A09-1) suivant la technique décrite dans Le Chevalier et al. (2017).

Le gonflement de l'individu femelle décrit dans cette note a été constaté le 30 juin 2020 suite à une surveillance quotidienne, augmentant son volume de plus de 25% (Figure 1). Lors de l'observation de l'individu, il a été constaté qu'il se déplaçait (tant au niveau de la flottaison que de la navigation) sans problèmes apparents. La rapidité de développement du gonflement (rien n'avait été constaté la veille)

nous a fait suspecter une sorte d'accident. Le fait qu'il ne s'agisse pas de gaz (le triton ne flottait pas) a exclu l'emphysème traumatique. Étant donné que le reste des animaux gardés dans les mêmes conditions ne présentaient aucun symptôme, une cause environnementale a également été écartée. En prévention contre une éventuelle épidémie d'infection, l'individu gonflé a donc été mis en quarantaine dans un aquarium individuel (40 x 15 x 25 cm). Devant la suspicion d'une infection bactérienne ou fongique due à l'eau ou aux aliments contaminés (*Tubifex* sp., Haplotaxida : Tubificidae), un traitement de l'eau de maintien (eau déchlorée régulée à 15° C ± 1°C) a été effectué avec du bleu de méthylène (2 mg par litre d'eau en immersion pour 5 jours (Wright & DeVoe 2013)). Le triton allait être traité séparément au moyen d'une solution osmotique (solution saline) pour tenter de réduire l'œdème, mais l'évolution rapide du cas jusqu'à sa mort (deux jours) n'a pas laissé le temps d'effectuer ce traitement.



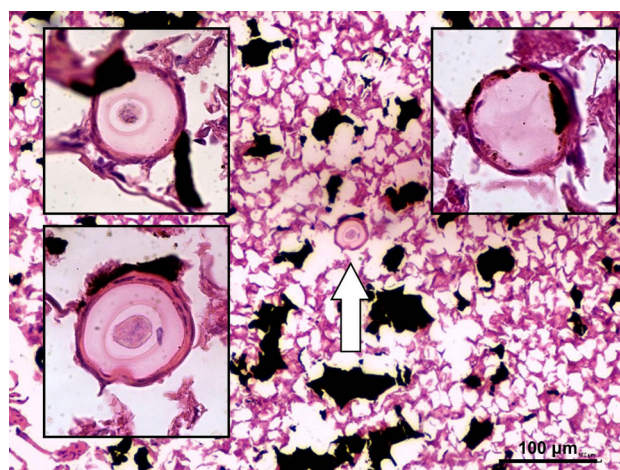
**Figure 1** - *Calotriton asper* femelle adulte souffrant du syndrome de l'œdème

**Figure 1** - Adult female *Calotriton asper* suffering from edema syndrome

Néanmoins, aucun autre individu n'a présenté ce symptôme.

L'animal mort a été congelé à -20°C. L'étude post-mortem a ensuite consisté en une autopsie suivie de prélèvements cutanés analysés par des réactions en chaîne par polymérase quantitatives (ci-après qPCR) afin d'identifier la présence potentielle des champignons *Batrachochytrium dendrobatidis* et *B. salamandrivorans* ; de prélèvements d'organes internes (foie, rate et estomac) analysés par qPCR pour tenter de détecter de potentiels *Ranavirus* ; et d'une étude histologique complète (foie, rate, estomac, peau, graisse, poumons, intestins, reins et gonades) malgré la congélation des tissus. Toutes les qPCR se sont avérées négatives. A

l'examen histologique, l'état de conservation des tissus de cet individu n'a pas permis de confirmer la cause finale, ni de l'œdème, ni du décès. Cependant, la présence de nombreux kystes a été détectée (entre 1 et 2 kystes par champ visuel de 100 augment) coïncidant avec les formes larvaires (métacercaires) de parasites digestifs (classe Trematoda) affectant le foie (Figure 2), ainsi qu'un œdème musculaire et sous-cutané.



**Figure 2** - Aspect microscopique des kystes au niveau du foie. Photo centrale, X 100. Agrandissements, X 400. Hématoxyline / Eosine

**Figure 2** - Microscopic appearance of cysts in the liver. Central photo X 100. Prominent photos X 400. Hematoxylin / Eosin

Dans la nature Pyrénéenne, il n'y a pas beaucoup de cas similaires décrites chez les urodèles, à part un cas chez *Ichthyosaura alpestris* dans les Pyrénées et ses environs (Gosá et al. 2020). Cette note est la première description de ce syndrome d'œdème chez *Calotriton asper*, et ce serait donc le deuxième cas avéré avec ce syndrome pour un urodèle sauvage des Pyrénées.

Des analyses sanitaires récentes réalisées spécifiquement sur le Calotriton des Pyrénées ne rapportent aucun cas d'œdème chez cette espèce (Martínez-Silvestre et al. 2020).

Le bleu de méthylène à action antiseptique externe est utile en cas de désinfection de l'eau à titre préventif pour éviter la prolifération de bactéries ou de champignons pathogènes. Pour le traitement antibiotique de l'animal, d'autres produits seraient plus appropriés, comme de l'enrofloxacin 500 mg/L dans l'eau pour 6-8 heures tous les jours (Whitaker & McDermott 2019) mais dans notre cas, nous n'avons pas eu le temps d'essayer un traitement efficace.

Parmi les causes prédisposantes décrites, il convient de souligner la description prédominante

chez les femelles, à la fois dans le cas décrit ici et dans la littérature (Gosa et al. 2020), suggérant qu'il pourrait s'agir d'un processus métabolique lié à certains déséquilibres hormonaux ou sexuels (post-gestation ou vieillesse reproductive).

C'est la première fois qu'une étude histologique est réalisée sur un calotriton atteint d'un syndrome d'œdème. La découverte de kystes parasitaires est probablement accidentelle. Un éventuel dysfonctionnement hépatique de 75-80 % du parenchyme due à des causes parasitaires pourrait provoquer une hypoalbuminémie et par conséquent un œdème extravasculaire ou anasarque. Cependant, l'histologie limitée de ce cas ne nous a pas permis de confirmer la perte chronique de cellules hépatiques fonctionnelles qui appuieraient cette hypothèse. Les larves de trématode sont bien encapsulées, et pas entourées de tissus inflammatoire, ce qui suggère qu'elles sont bien tolérées, et probablement pas à l'origine de l'œdème. De plus, dans les autopsies réalisées sur le triton de Montseny (*Calotriton arnoldi*), ce même type de kystes parasitaires hépatiques a été retrouvé sans être lié à un œdème (Martinez-Silvestre et al. 2022).

Par rapport à d'autres travaux réalisés sur *C. asper*, une très faible prévalence de parasites est mentionnée. Dans les Pyrénées espagnoles, une prévalence de 0,8% à 17,9 % de larves de nématodes de l'ordre des Spirurida ainsi qu'une prévalence de 0,8% de métacercaires de *Leptophallus* sp ont été décrites (M.J. Hornero, J. Lluch et P. Navarro, données non publiées, dans Montori et al. 2014).

La description de plus en plus fréquente de ces cas chez les urodèles européens doit alerter les observateurs lors des études de terrain, en gardant l'opportunité de réaliser des tests cliniques sur des animaux en bon état de conservation tissulaire permettant de confirmer les causes et l'évolution de cette anomalie.

**Remerciements** - Merci à la Réserve Naturelle Régionale du massif du Pibeste-Aoulihet de nous avoir permis de capturer des Calotritons des Pyrénées sur son territoire. Merci aux étudiantes en stage pour leur aide : Thirsa Van Der Veen, Bérénice Cariou, Noémie Kuczynski et Ophélie Puissant. Merci aussi à l'histopathologue Roser Velarde (Universitat Autònoma de Barcelona). Merci aussi à la révision constructive du manuscrit original réalisée par le Dr. Sylvain Larrat.

#### Protection des espèces

Le Calotriton des Pyrénées, *Calotriton asper* (Dugès, 1852) est listé sur l'Annexe IV de la Directive Habitats (92/43/CEE, 1992), l'Annexe II de la Convention de Bern, et est classé comme vulnérable sur la liste rouge des amphibiens de France métropolitaine (UICN France, 2015). A ce titre, nous avons bénéficié d'une autorisation de capture par la DREAL Occitanie (permis no. 2017-s-02) pour les travaux présentés dans cette note.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Ayres C. (2022). A case of Edema syndrome in a fire salamander larva (*Salamandra salamandra*) from Galicia (North-Western Iberian Peninsula). *Butlletí de la Societat Catalana d'Herpetologia*, **29**: 145-148.

Duffus A.L.J. & Cunningham A. (2010). Major disease threats to European amphibians. *The Herpetological Journal*, **20**(3): 117-127.

Gosa A., Martínez-Silvestre A., Cruset E., Pou-Rovira O & Ventura M. (2020). Síndrome de edema en *Lissotriton helveticus* salvajes del Pirineo y su entorno. *Boletín de la Asociación Herpetológica Española*, **31**: 165-171.

Le Chevalier H., Calvez O., Martínez-Silvestre A., Picard D., Guerin S., Isselin-Nondedeu F., Riberon A. & Trochet A. (2017). Marking techniques in the Marbled Newt (*Triturus marmoratus*): PIT-Tag and tracking device implant protocols. *Acta herpetologica*, **12**: 79-88.

Martinez-Silvestre A., Trochet A., Calvez O., Poignet M., Le Chevalier H., Souchet J., Darnet E., Guillaume O., Aubret F., Bertrand R., Mossoll-Torres M., Lucati F., Tomas J., O'Brien D., Miro A., Ventura M., Barthe L., Pottier G., Marschang R.E. & Bosch J. (2020). Presence of the Fungus *Batrachochytrium dendrobatidis*, but not *Batrachochytrium salamandrivorans*, in Wild Pyrenean Brook Newts (*Calotriton asper*) in Spain and France. *Herpetological Review*, **51**: 738-743.

Martinez-Silvestre A., Thumsova B., Obon E., Carbonell F., Velarde R., Ribas A., Marschang R.E. & Bosch J. (2021). Seguiment sanitari dels amfibis del Montseny (2015-2020): noves amenaces sanitàries per al tritó (*Calotriton arnoldi*). *Trobada d'Estudiosos del Montseny*, **10**: 15-16.

Miaud C., Pozet F., Gaudin N., 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**: 242-252.

Montori A. & Llorente G. A. (2014). Tritón pirenaico - *Calotriton asper*. In: *Enciclopedia Virtual de los Vertebrados Españoles*. Salvador A. & Martínez-Solano I. (Eds.). Museo Nacional de Ciencias Naturales, Madrid. <http://www.vertebradosibericos.org/>

Whitaker B.R. & McDermott C.T. (2019). Amphibian formulary. 1212-1219. In: Divers, S.J. & Stahl S.J. (eds.), *Mader's Reptile and Amphibian Medicine and Surgery*. St Louis, Elsevier.

Wright K.M & DeVoe R.S. (2013). Amphibians. In: Carpenter J.W., ed. *Exotic Animal Formulary*. 4<sup>th</sup> ed. St. Louis: Saunders/Elsevier. 53-82.

Date de soumission : mercredi 2 février 2022

Date d'acceptation : jeudi 1<sup>er</sup> juin 2023

Date de publication : mercredi 26 juillet 2023

Editeur-en-Chef : Jean-Marie Ballouard

Editeur associé : Aurélien Miralles

Relecteur : Philippe Geniez