

PROTOCOLE D'HYGIÈNE POUR LIMITER LA DISSÉMINATION DES AGENTS INFECTIEUX DES AMPHIBIENS SUR LE TERRAIN

FICHE TECHNIQUE

Protocole sanitaire . version 03.2025

DOI: 10.48716/FTSHF-002

**Société herpétologique
de France**



Salamandre tachetée infectée par *Bsal*

PRÉFACE



Cette fiche a été conçue afin de fournir des informations pédagogiques et techniques dans le domaine de l'étude des amphibiens.

La fiche technique "Protocole d'hygiène pour limiter la dissémination des agents infectieux des amphibiens sur le terrain" fait partie de la collection de fiches disponibles sur le site internet de la SHF (www.lashf.org/ressources).

La Société herpétologique de France

Fondée en 1971, la Société herpétologique de France (SHF) regroupe des spécialistes des reptiles et amphibiens organisés en réseaux et en groupes thématiques avec une coordination aux niveaux national et régional. Elle a pour buts :

- de contribuer à une meilleure connaissance de l'herpétofaune et de sa répartition ;
- d'aider à la protection des différentes espèces et de leur environnement ;
- de mieux faire connaître les reptiles et les amphibiens et leur rôle dans les équilibres naturels ;
- de faciliter et renforcer les échanges entre herpétologues francophones ;
- d'améliorer les conditions d'élevage des amphibiens et des reptiles, notamment à des fins scientifiques.

Elle est agréée au titre de la protection de l'environnement depuis 1978.

Plus d'informations sur : www.lashf.org

Rédaction

Ce document a été initialement rédigé par Claude Miaud (EPHE, Montpellier) et mis à jour par Thibault Cuenot et Alix Michon en 2025 (LPO Bourgogne-Franche-Comté) suite aux dernières recommandations de l'OFB (Sandor *et al.*, 2024).

Mise en page

Myriam Labadesse (Société herpétologique de France)

Relecture

Anne Lombardi et Audrey Trochet (Société herpétologique de France)

Citation du document

Miaud C., Cuenot T. & Michon A. 2025 - Protocole d'hygiène pour limiter la dissémination des agents infectieux des amphibiens sur le terrain. Société herpétologique de France. Version 06.2025, 10pp.



CONTEXTE

Les amphibiens sont exposés dans leur environnement naturel à de nombreux organismes qui peuvent être plus ou moins pathogènes.

Depuis une vingtaine d'années, des mortalités massives d'amphibiens sont observées en France, causées par des pathogènes (champignons et virus) qui ont pu être introduits dans le milieu naturel via les activités humaines. Plus particulièrement, il a été démontré que des scientifiques et des naturalistes ont été à l'origine d'introduction d'agents infectieux des amphibiens par le passé (Walker *et al.*, 2008).

Dans ce contexte, les personnes pouvant accéder et/ou travailler dans les milieux humides, susceptibles d'introduire ou de disséminer ces pathogènes, **doivent intégrer dans toutes leurs activités un protocole standard de mesures sanitaires de précaution**, à mettre en œuvre lors de leurs campagnes de terrain. L'objectif étant de ne pas augmenter la vitesse de dissémination des agents infectieux et de ne pas favoriser leur diffusion sur le territoire.

Si ce protocole est ciblé sur les pathogènes responsables de maladies voire de mortalités chez les amphibiens, les précautions permettront également de limiter la dissémination d'espèces végétales ou animales envahissantes.

Il est important de rappeler qu'une réflexion en amont des campagnes de terrain visant à limiter au strict nécessaire les contacts avec le milieu humide et les animaux reste le meilleur moyen de lutte contre la dissémination des agents infectieux dans la nature.

Ce document doit permettre de :

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

Quel type de lecteur pour ce document ?

Ce protocole est proposé pour tous les professionnels de l'environnement : chercheurs, gestionnaires d'espaces, naturalistes professionnels, étudiants, etc. (appelés par la suite "opérateurs de terrain") qui fréquentent les milieux humides.

Ce protocole doit en particulier être diffusé auprès des professionnels et amateurs qui contactent et manipulent régulièrement des amphibiens sur le terrain et fréquentent des milieux humides. Ce protocole est une actualisation du protocole d'hygiène proposé par l'Agence de l'eau Rhône-Méditerranée-Corse (Miaud, 2014) et plus récemment de celui proposé par le réseau SAGIR (Sandor *et al.*, 2024) de l'OFB, tenant compte des avancées de la connaissance sur les maladies des amphibiens. Son application doit devenir une règle pour toute action qui nécessite une intervention dans les milieux humides.

> Plus d'informations sur : <https://www.ofb.gouv.fr/le-reseau-sagir>



MISE EN OEUVRE SUR LE TERRAIN

Définition d'un site

Les opérateurs de terrain qui travaillent dans les milieux humides (avec ou sans amphibiens) fréquentent souvent plusieurs milieux humides lors d'une même campagne de terrain. Ces milieux étant parfois déconnectés les uns des autres, il est nécessaire de définir les limites entre les milieux fréquentés et de prendre des mesures pour limiter la dissémination des pathogènes potentiels. Cette délimitation doit alors prendre en compte les capacités de dispersion des amphibiens, ainsi que les types d'habitats, à la fois aquatiques et terrestres, fréquentés par ces espèces, afin de définir des unités interconnectées nommées dans la suite du document « site ». On considère alors que l'on passe d'un site à un autre et donc qu'un changement d'équipement ou l'application complète (nettoyage et désinfection) du protocole d'hygiène est nécessaire, si :

- les sites sont distants de plus de 500 mètres (distance adaptable en fonction du contexte local) et/ou ;
- une barrière géographique naturellement infranchissable par les amphibiens les sépare (par exemple, autoroutes, falaises, cultures intensives, etc.) et/ou ;
- les sites sont liés à des bassins versants topographiques différents et/ou ;
- un des sites est suspecté ou connu pour abriter un ou des agents infectieux de la faune sauvage.

Les critères de définition d'un site sont adaptés de Sandor *et al.*, 2024.

Evaluation des risques

1. Il est important de bien réfléchir à la pertinence de l'entrée dans l'eau de l'opérateur (et de son équipement) et de la manipulation des animaux (soumise à dérogation réglementaire) afin de les limiter au strict nécessaire et ainsi réduire les risques de dissémination des agents infectieux et le stress des animaux (Sandor *et al.*, 2024).
2. Si l'intervention est réalisée sur des sites où la présence d'agents infectieux de la faune sauvage est suspectée (observation de mortalités d'amphibiens, présence d'espèces exotiques, etc.) ou avérée, il est impératif d'appliquer rigoureusement et dans son ensemble (nettoyage et désinfection) le protocole d'hygiène. Par ailleurs, ledit site devra être visité en fin de campagne de terrain ou lors d'une campagne dédiée.

3. Si plusieurs sites sont répartis le long d'un cours d'eau, la campagne de terrain devra être réalisée d'amont en aval afin d'éviter la remontée éventuelle d'agents infectieux.
4. Si plusieurs sites doivent être visités au cours d'une même campagne de terrain, le changement d'équipement ou le nettoyage et la désinfection du matériel entre chaque site est obligatoire (voir ci-après).
5. Lors d'intervention sur une pièce d'eau de taille importante (marais, rivière, grand lac, étang), le changement d'équipement ou le nettoyage et la désinfection du matériel entre chaque site selon la définition ci-dessus sont obligatoires.
6. Avant toute sortie sur le terrain, il est indispensable de s'assurer que l'ensemble du matériel qui va être utilisé (bottes, waders, épuisettes, nasses, etc.) a été correctement nettoyé et désinfecté à la fin de la dernière campagne de terrain où il a été utilisé.
7. Il est important de ne pas utiliser ses chaussures de terrain pour conduire. Prévoir une paire spécifique à cet usage afin de ne pas contaminer l'intérieur du véhicule.
8. Prévoir des bacs de stockage dédiés au matériel de terrain usagé dans le véhicule afin de ne pas le contaminer.
9. Il existe dans le commerce plusieurs produits désinfectants efficaces pour éliminer les agents pathogènes. Néanmoins, pour des raisons d'efficacité sur la plupart des agents infectieux (bactéries, virus et champignons) et de respect de l'environnement, **nous recommandons l'utilisation des produits suivants** : l'éthanol à 70° pur, le **Virkon S**® en poudre dilué à 1% et le **SeptiOne néoprène Pro**® dilué à 0.5%. Le rejet de Virkon S® et de SeptiOne néoprène Pro® dans l'environnement doit être limité. Leurs effluents doivent idéalement être éliminés par le biais d'un centre de traitement spécialisé. Si c'est impossible, les effluents de ces deux produits devront être fortement dilués pour être ensuite déversés dans le réseau des eaux usées (Sandor *et al.*, 2024). Avant toute utilisation, lire les instructions d'usage fournies par le fabricant.
10. Lorsque celle-ci est indispensable, la manipulation d'amphibiens doit être réalisée avec des gants jetables non poudrés en nitrile. Ces derniers doivent être changés entre chaque site, ou toutes les trente minutes ou plus fréquemment lorsque des signes cliniques et/ou des cadavres sont observés sur le terrain (Sandor *et al.*, 2024).

MISE EN OEUVRE DU PROTOCOLE D'HYGIÈNE

Privilégier le changement d'équipement entre chaque site. Si ce n'est pas envisageable, appliquez le protocole suivant à votre équipement :

1. Nettoyage (obligatoire)

Quand ? Entre chaque point d'eau ou *a minima* entre chaque site (voir définition d'un site ci-dessus).

Où ? Dans l'idéal sur le site même pendant la campagne de terrain, ou *a posteriori* dans un local dédié, proche des réseaux de gestion des eaux usées.

Comment ? Nettoyer à l'eau (eau du site ou eau claire), avec une brosse, tout le matériel en contact avec le milieu et/ou la faune sauvage pour enlever les résidus et les laisser sur site. En cas de nettoyage en local dédié, privilégier l'eau chaude savonneuse.

2. Désinfection (à adapter)

Quand ? Après le nettoyage, entre chaque site (voir définition d'un site ci-dessus).

Où ? A distance des milieux humides, idéalement dans un local dédié, après la campagne de terrain ou sur le terrain, sur chemin carrossable.

Comment ? (d'après Sandor *et al.*, 2024)

Techniques de désinfection					Type de matériel à désinfecter		
Désinfectant	Type	Dilution	Temps de contact minimum	Lieu d'utilisation	Petit équipement (matériel de prélèvement, bottes, épauillettes, amphicaps, etc.)	Matériel en néoprène (waders)	Vêtements
	Ethanol 70°	-	1 min	Terrain ou local dédié	X par pulvérisation ou lingettes imbibées	X par pulvérisation ou lingettes imbibées	-
	Virkon S®	1%	5 min	Local dédié (si usage sur le terrain, collecte et gestion des effluents à prévoir)	X par pulvérisation ou trempage	X par pulvérisation ou trempage	-
	SeptiOne néoprène Pro®	0.5%	10 min	Local dédié	-	X par trempage uniquement sur les équipements en néoprène	-
	Haute température	-	-	Local dédié	Stérilisation (pour le petit matériel métallique)	-	X machine à laver à 60° pendant 30 min

3. Rinçage et séchage (à adapter)

Quand ? Après la désinfection.

Où et comment ? Idéalement en local dédié, à l'eau du robinet, avec évacuation des effluents par le biais d'un centre de traitement spécialisé ou à défaut fortement dilué avant d'être évacué dans le réseau des eaux usées. Sur le terrain, à l'eau claire, prévoir la collecte et la gestion *a posteriori* des effluents ou l'utilisation de papier essuie-tout afin de diminuer les résidus de désinfectants avant réutilisation du matériel.

4. Hygiène des mains

Il est recommandé de se nettoyer les mains à l'eau savonneuse et de les désinfecter à l'éthanol à 70° le plus régulièrement possible (Sandor *et al.*, 2024)



LISTE DU MATÉRIEL NÉCESSAIRE

- Brosse
- Pulvérisateur(s)
- Désinfectants : éthanol 70° pur et/ou Virkon S[®] (pastilles ou poudre) et/ou SeptiOne néoprène Pro[®]
- Savon (pour nettoyage des mains)
- Lingettes jetables (disponibles en grandes surfaces et pharmacies)
- Sacs plastiques jetables de différentes tailles (à jeter à la fin de chaque campagne de terrain) de type Ziploc[®]
- Bacs plastiques de stockage (restant dans le véhicule et régulièrement désinfectés) et/ou de trempage
- Gants jetables non poudrés (pour préparer la solution Virkon S[®] et en cas de manipulation d'amphibiens)



Virkon S[®] (poudre et pastilles) et exemple de pulvérisateur (© A. Martin)



Ethanol 70° pur, SeptiOne néoprène Pro[®] et exemple d'un bac de trempage



À partir de 2026, l'autorisation de mise sur le marché (AMM) du Virkon S[®] change et devient professionnelle. Cela signifie que l'achat de Virkon S[®] sera conditionné à une certification "biocide" des structures souhaitant s'en procurer.

OBSERVATION D'AMPHIBIENS MALADES OU MORTS*

Conduite à tenir

La connaissance sur les maladies des amphibiens passe par la collecte de données sur le terrain. L'observation d'amphibiens malades ou morts (sauf dans le cas de mortalités attribuées à une cause évidente comme la prédation ou l'écrasement sur les routes) doit suivre les recommandations suivantes.

Détecter les signes cliniques chez les amphibiens malades ou mourants

Il n'y a pas de signes cliniques spécifiques des infections à chytrides ou ranavirus. On peut toutefois lister des signes pouvant être impliqués dans ces infections :

Sur l'apparence générale :

- épiderme dorsal assombri, taché ;
- épiderme dorsal rosâtre, rougeâtre - lésions cutanées (plaies) ;
- gonflement des membres (postérieurs notamment) ;
- apparence amaigrie ; infection des yeux ;
- saignements (yeux, narines...).

Sur les comportements :

- mouvements léthargiques des membres (notamment postérieurs) ; absence de comportement de fuite ;
- nage anormale (adultes et têtards) ;
- exposition au jour pour des espèces nocturnes ou discrètes ;
- absence (ou faible) réaction au toucher.

Que faire en cas d'observation ?

Il convient de **prendre en photo l'animal** malade ou mort et de **transmettre le cliché au réseau SAGIR**, en transmettant la localisation précise à l'agent du service départemental de l'OFB.

Il est interdit de prélever les animaux malades ou morts directement sur le terrain : ces derniers seront transportés, si besoin, par des personnes identifiées par le réseau et habilitées (via une dérogation réglementaire), jusqu'au laboratoire départemental d'analyses vétérinaires.

Remerciements

À l'ensemble des partenaires du programme Biodiversa (2009-2012) "Race" (coordinateur M. Fischer) pour leur implication dans les études sur les maladies des amphibiens d'Europe.

À l'ensemble des opérateurs de terrain qui alimentent la connaissance sur ces maladies par leur vigilance et leurs prélèvements sur le terrain.

Références

DEJEAN T., MIAUD C. & OUELLET M. 2007 – Proposition d'un protocole d'hygiène pour réduire les risques de dissémination d'agents infectieux et parasitaires chez les amphibiens lors d'intervention sur le terrain. *Bulletin de la Société herpétologique de France*, 122: 40-48.

DEJEAN T., MIAUD C. & OUELLET M. 2010 – La chytridiomycose : une maladie émergente des amphibiens. *Bulletin de la Société herpétologique de France*, 134: 27-46.

FISHER M. C., SCHMIDT B. R., HENLE K., SCHMELLER D. S., BOSCH J., AANENSEN D. M., MIAUD C. & GARNER T. W. J., 2012. RACE: Risk assessment of chytridiomycosis to European Amphibian Biodiversity. *FrogLog*, 101: 45-47.

MIAUD C. 2013 – Un champignon menace les amphibiens. Qu'avons-nous appris de la chytridiomycose ? *Le Courrier de la Nature*, 277: 30-36.

MIAUD C. 2014 – Protocole d'hygiène pour le contrôle des maladies des amphibiens dans la nature à destination des opérateurs de terrain. Agence de l'Eau Rhône-Méditerranée-Corse, Université de Savoie et École Pratique des Hautes Études (Eds), 7pp.

MILLERIOUX M., DEJEAN T., MIAUD C. & ARTOIS M. 2012 – Les infections à Ranavirus chez les amphibiens. *Bulletin de la Société herpétologique de France*, 141: 23-46.

NSW National Parks & Wildlife Service 2001 – Hygiene protocol for the control of disease in frogs. Information Circular Number 6. NSW NPWS, Hurstville NSW (www.npws.nsw.gov.au/wildlife/licence/frog.html).

SANDOR C., MATUTINI F., DECORS A., CARDOSO O., SENTENCE H., LARRAT S., POZET F., BERTHET M., & PALUMBO L. 2024. Biosécurité en milieu humide : bonnes pratiques d'intervention sur les amphibiens sauvages. *Naturae*, 14: 273-305.
<https://doi.org/10.5852/naturae2024a14>

WALKER S. F., BOSCH J., JAMES T. Y., LITVINTSEVA A. P., VALLS, J. A. O., PIÑA S., GARCIA 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>