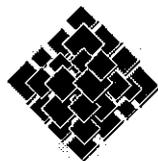




CENTRE D'ÉCOLOGIE
FONCTIONNELLE
& ÉVOLUTIVE



École Pratique
des Hautes Études

Étude transversale sur la Chytridiomycose en France : instructions pour les participants

Coordinateur scientifique de l'étude :

Claude MIAUD - Laboratoire Biogéographie et Ecologie des Vertébrés, UMR CNRS CEFE, 1919, Route de Mende – 34293 Montpellier cedex 5. ☎ +33 (0)4 67 61 33 43 - 06 51 17 62 43
claude.miaud@cefe.cnrs.fr

1. Préparatifs pour le terrain :

Assurer vous d'avoir les autorisations de capture d'amphibiens (arrêté préfectoral, disponible sur le site www.alerte-amphibien.fr et l'autorisation de pénétrer dans les propriétés privées. Un minimum de deux personnes est souvent nécessaire pour le bon déroulement de ce protocole et la sécurité sur le terrain.

Pour chaque site, le matériel nécessaire à la réalisation des prélèvements et à la désinfection du matériel :

- ✓ Feutre indélébile pour étiquetage
- ✓ Sacs plastiques de congélation pour contention des animaux
- ✓ Un pulvérisateur (ou bouteille) et dose de Virkon® ou F10® pour la désinfection.
- ✓ 30 écouillons (ou plus).

- Chaque participant devra se munir du matériel nécessaire à la capture des amphibiens (épuisette, wadders, etc.).

2. Mise en œuvre :

a) **Capter un amphibien** (les animaux (adultes) doivent être capturés au cours de la même journée). Si le nombre d'adultes est faible, et que des juvéniles ou têtards et larves sont accessibles, vous pouvez les utiliser pour atteindre les 30 individus). On peut réaliser toutes les captures avant de passer à la phase de frottis en stockant les animaux capturés dans des sacs plastiques individuels (ou petits groupes) avec un peu d'eau.

b) **Faire le frottis à l'aide de l'écouvillon** (description ci-dessous),

- c) **Placer l'individu dans un sac plastique à fermeture « zip » le temps de réaliser les 30 échantillons** si le site d'intervention est de petite taille et que l'individu déjà analysé risque d'être recapturé. Pour les grands sites et les sites en mosaïque (plusieurs pièces d'eau), les individus peuvent être relâchés au fur et à mesure de l'échantillonnage. Relâcher chaque individu à son point de capture.
- d) **Marquer chaque écouvillon avec un numéro d'identification et reporter ce numéro et les informations complémentaires** (date, lieu, espèce, stade, sexe) **sur la fiche de terrain fournie,**
- e) **Avant de quitter un site, appliquer le protocole d'hygiène** en désinfectant le matériel.
- f) **Placer les écouvillons dans des sacs plastiques et garder les au réfrigérateur (4°C),**
- g) **Envoyer les échantillons** dans une enveloppe épaisse à Claude MIAUD - Laboratoire Biogéographie et Ecologie des Vertébrés, UMR CNRS CEFE, 1919, Route de Mende – 34293 Montpellier cedex 5.

3. Comment faire un frottis ?

a. **Avant de saisir un individu, humidifier ses mains ou les gants avec l'eau du site.** Le frottis peut se faire par une ou deux personnes (l'un tient l'amphibien et l'autre fait le frottis).

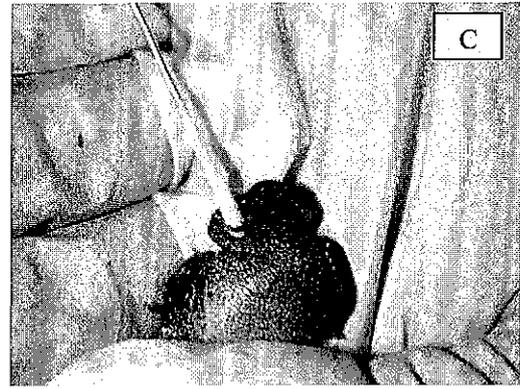
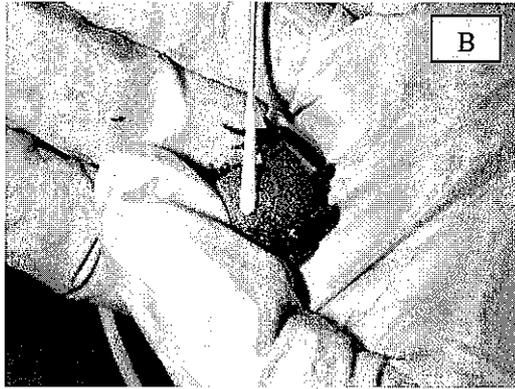
b. **Tenir l'individu en le maintenant par une pression entre pouce et index sur la gorge/tête (photo ci-contre).** Les amphibiens n'ont pas de cage thoracique aussi ne pas appuyer sur l'abdomen.



c. **Passer l'écouvillon sur différentes parties du corps pour récupérer la peau morte, les sporanges et zoospores (trois passages sur chaque partie) :**

- sur la face interne des cuisses (A),
- sur la région pelvienne (B),
- sur la face interne des pieds en insistant entre les orteils sur la palmure (C),
- sur la face interne des mains.





d. Pour les Tritons, le protocole est très similaire :

Faire les frottis sur la face interne des pattes avant et arrière, le bas abdomen et la base de la queue (trois passages).



d. Replacer l'écouvillon dans son tube et l'annoter clairement et complètement ((date, lieu, espèce, stade, sexe).

e) Changer de gants ou se rincer les main à l'eau claire.

