



HAL
open science

**Étude de l'influence des paramètres environnementaux
sur l'apparition et l'évolution des lésions cutanées
retrouvées chez les amphibiens du genre Trachycephalus
maintenus en captivité, avec l'exemple du vivarium de la
Ménagerie du Jardin des Plantes**

Typhanie Tan

► **To cite this version:**

Typhanie Tan. Étude de l'influence des paramètres environnementaux sur l'apparition et l'évolution des lésions cutanées retrouvées chez les amphibiens du genre Trachycephalus maintenus en captivité, avec l'exemple du vivarium de la Ménagerie du Jardin des Plantes. Médecine vétérinaire et santé animale. 2021. dumas-04811740

HAL Id: dumas-04811740

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04811740v1>

Submitted on 29 Nov 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Copyright

Année 2021

**ÉTUDE DE L'INFLUENCE DES PARAMÈTRES
ENVIRONNEMENTAUX SUR L'APPARITION ET
L'ÉVOLUTION DES LÉSIONS CUTANÉES RETROUVÉES
CHEZ LES AMPHIBIENS DU GENRE *TRACHYCEPHALUS*
MAINTENUS EN CAPTIVITÉ, AVEC L'EXEMPLE DU
VIVARIUM DE LA MÉNAGERIE DU JARDIN DES PLANTES**

THÈSE

pour obtenir le diplôme d'État de

DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

présentée et soutenue publiquement devant

la Faculté de Médecine de Créteil (UPEC)

le 24 juin 2021

par

Typhanie TAN

sous la direction de

Pascal ARNÉ

et avec la participation en tant qu'invités de

Amaury BRIAND et Dylan DUBY

Président du jury :	M. Matthias KOHLHAUER	Maître de conférences à l'EnVA
Directeur :	M. Pascal ARNÉ	Maître de conférences à l'EnVA
Examineur 1 :	M. Jacques GUILLOT	Professeur à l'EnVA

Liste des personnes intervenant dans l'enseignement



Directeur : Pr Christophe Degueurce
 Directeur des formations : Pr Henry Chateau
 Directrice de la scolarité et de la vie étudiante : Dr Catherine Colmin

Professeurs émérites : Pr Pascal Fayolle, Pr Bernard Paragon
 Directeurs honoraires : MM. les Professeurs C. Pilet, B. Toma, A.-L. Parodi, R. Moraillon, J.-P. Cotard, J.-P. Mialot & M. Gogny

Département d'Élevage et de Pathologie des Équidés et des Carnivores (DEPEC)

Chef du département : Pr Grandjean Dominique - Adjoint : Pr Blot Stéphane

<p>Discipline : anesthésie, réanimation, urgences, soins intensifs - Pr Verwaerde Patrick</p> <p>Discipline : cardiologie - Pr Chetboul Valérie - Dr Saponaro Vittorio, Praticien hospitalier contractuel</p> <p>Discipline : nouveaux animaux de compagnie - Dr Pignon Charly, Ingénieur de recherche - Praticien hospitalier - Dr Volait Laetitia, Praticienne hospitalier contractuelle</p> <p>Discipline : dermatologie - Dr Cochet-Faivre Noëlle, Praticienne hospitalier contractuelle</p> <p>Discipline : ophtalmologie - Dr Chahory Sabine, Maître de conférences</p> <p>Unité pédagogique de clinique équine - Pr Audigé Fabrice - Dr Bertoni Lélia, Maître de conférences - Dr Coudry Virginie, Praticienne hospitalier contractuelle - Pr Denoix Jean-Marie - Dr Giraudet Aude, Ingénieure de recherche - Praticienne hospitalier - Dr Jacquet Sandrine, Ingénieure de recherche - Praticienne hospitalier - Dr Mespoulhès-Rivière Céline, Ingénieure de recherche-Praticienne hospitalier* - Dr Moiroud Claire, Praticienne hospitalier contractuelle - Dr Tallaj Amélie, Praticienne hospitalier contractuelle - Dr Tanquerel Ludovic, Chargé d'enseignement contractuel</p>	<p>Unité pédagogique de médecine et imagerie médicale - Dr Benckroun Ghita, Maître de conférences - Pr Blot Stéphane* - Dr Canonne-Guibert Morgane, Maître de conférences - Dr Freiche-Legros Valérie, Praticienne hospitalier contractuelle - Dr Maurey-Guèzec Christelle, Maître de conférences - Dr Mortier Jérémie, Maître de conférences associé</p> <p>Unité pédagogique de médecine de l'élevage et du sport - Dr Cabrera Gonzales Joaquin, Chargé d'enseignement contractuel - Pr Fontbonne Alain - Pr Grandjean Dominique* - Dr Maenhoudt Cindy, Praticienne hospitalier contractuelle - Dr Nudelmann Nicolas, Maître de conférences - Dr Ribeiro dos Santos Natalia, Praticienne hospitalier contractuelle</p> <p>Unité pédagogique de pathologie chirurgicale - Dr Decambon Adeline, Maître de conférences - Pr Manassero Mathieu - Dr Maurice Emeline, Assistante d'Enseignement et de Recherche Contractuelle - Pr Viateau-Duval Véronique*</p>
---	---

Département des Productions Animales et de Santé Publique (DPASP)

Chef du département : Pr Millemann Yves - Adjoint : Pr Dufour Barbara

<p>Unité pédagogique d'hygiène, qualité et sécurité des aliments - Dr Bolnot François, Maître de conférences* - Pr Carlier Vincent - Dr Gauthier Michel, Maître de conférences associé - Dr Mtimet Narjes, Chargée d'enseignement contractuelle</p> <p>Unité pédagogique de maladies réglementées, zoonoses et épidémiologie - Dr Crozet Guillaume, Chargé d'enseignement contractuel - Pr Dufour Barbara* - Dr Guétin Poirier Valentine, Chargée d'enseignement contractuelle - Pr Haddad/Hoang-Xuan Nadia - Dr Rivière Julie, Maître de conférences</p> <p>Unité pédagogique de pathologie des animaux de production - Pr Adjou Karim - Dr Belbis Guillaume, Maître de conférences* - Dr Delsart Maxime, Maître de conférences associé - Pr Millemann Yves - Dr Plassard Vincent, Praticien hospitalier contractuel - Dr Ravary-Plumioën Bérangère, Maître de conférences</p>	<p>Unité pédagogique de reproduction animale - Dr Constant Fabienne, Maître de conférences* - Dr Denis Marine, Chargée d'enseignement contractuelle - Dr Desbois Christophe, Maître de conférences (rattaché au DEPEC) - Dr Mauffré Vincent, Maître de conférences</p> <p>Unité pédagogique de zootechnie, économie rurale - Dr Arné Pascal, Maître de conférences - Dr Barassin Isabelle, Maître de conférences - Dr De Paula Reis Alline, Maître de conférences* - Pr Grimard-Ballif Bénédicte - Pr Ponter Andrew</p> <p>Rattachée DPASP - Dr Wolgust Valérie, Praticienne hospitalier contractuelle</p>
--	---

Département des Sciences Biologiques et Pharmaceutiques (DSBP)

Chef du département : Pr Desquilbet Loïc - Adjoint : Pr Pilot-Storck Fanny

<p>Unité pédagogique d'anatomie des animaux domestiques - Pr Chateau Henry - Pr Crevier-Denoix Nathalie - Pr Robert Céline*</p> <p>Unité pédagogique de bactériologie, immunologie, virologie - Pr Boulouis Henri-Jean - Pr Eloit Marc - Dr Lagrée Anne-Claire, Maître de conférences - Pr Le Pöder Sophie - Dr Le Roux Delphine, Maître de conférences*</p> <p>Unité pédagogique de biochimie, biologie clinique - Pr Bellier Sylvain* - Dr Deshuillers Pierre, Maître de conférences</p> <p>Unité pédagogique d'histologie, anatomie pathologique - Dr Cordonnier-Lefort Nathalie, Maître de conférences - Pr Fontaine Jean-Jacques - Dr Jouvion Grégory, Professeur associé - Dr Reyes-Gomez Edouard, Maître de conférences*</p> <p>Unité pédagogique de management, communication, outils scientifiques - Mme Conan Muriel, Professeur certifié (Anglais) - Pr Desquilbet Loïc, (Biostatistique, Épidémiologie) - Dr Legrand Chantal, Maître de conférences associée - Dr Marnigac Geneviève, Maître de conférences* - Dr Rose Hélène, Maître de conférences associée</p>	<p>Unité de parasitologie, mycologie - Dr Blaga Radu, Maître de conférences (rattaché au DPASP) - Pr Guillot Jacques - Dr Polack Bruno, Maître de conférences* - Dr Risco-Castillo Veronica, Maître de conférences</p> <p>Unité pédagogique de pharmacie et toxicologie - Dr Kohlhauser Matthias, Maître de conférences - Dr Perrot Sébastien, Maître de conférences* - Pr Tissier Renaud</p> <p>Unité pédagogique de physiologie, éthologie, génétique - Dr Chevallier Lucie, Maître de conférences (Génétique) - Dr Crépeaux Guillemette, Maître de conférences (Physiologie, Pharmacologie) - Pr Gilbert Caroline (Ethologie) - Pr Pilot-Storck Fanny (Physiologie, Pharmacologie) - Pr Tiret Laurent (Physiologie, Pharmacologie)* - Dr Titeux Emmanuelle (Ethologie), Praticienne hospitalier contractuelle</p> <p>Rattachée DSBP - Mme Dalaine Stéphanie, Professeur agrégée (Sciences de la Vie et de la Terre)</p> <p>* responsable d'unité pédagogique</p>
--	---

REMERCIEMENTS

Au Président du Jury de cette thèse, le Docteur Kohlhauer, Maître de conférences à l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort,

Qui me fait honneur d'accepter la présidence de mon jury de thèse.

Hommages respectueux.

À Monsieur le Docteur Arné, Maître de conférences à l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort,

Qui m'a fait honneur de diriger ma thèse.

Recevez l'expression de toute ma reconnaissance et de mon profond respect pour votre intérêt sur ce sujet original, votre soutien, vos précieuses indications, votre bienveillance et votre grande disponibilité.

À Monsieur le Docteur Guillot, Professeur à l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort,

Qui m'a fait l'honneur d'être mon assesseur de thèse.

Un grand merci pour votre aide et d'avoir accepté de m'accompagner dans la réalisation de ma thèse.

À Monsieur le Docteur Briand, Vétérinaire spécialiste à l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort,

Qui m'a fait l'honneur d'être mon co-directeur de thèse.

Un grand merci pour votre aide et d'avoir accepté de m'accompagner dans la réalisation de ma thèse.

À toute l'équipe de la bibliothèque de l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort,

Un grand merci pour votre disponibilité et votre aide précieuse.

À Monsieur le Docteur Duby, Vétérinaire à la Ménagerie du Jardin des Plantes,

À Madame le Docteur Bourgeois, Vétérinaire à la Ménagerie du Jardin des Plantes,

À Madame le Docteur Agnès, Interne à la Ménagerie du Jardin des Plantes,

Pour le temps qu'ils m'ont consacré, pour m'avoir encadrée et pour avoir partagé leurs connaissances, pour m'avoir accueillie en stage et pour leur aide précieuse.

Un grand merci pour votre bienveillance, votre patience, votre sympathie, votre disponibilité et votre implication dans ma thèse.

À toute l'équipe de la Ménagerie du Jardin des Plantes,

Un grand merci à tous pour votre sympathie et votre implication dans mon travail.

À mes parents,

À mon frère,

À toute ma famille,

Merci pour votre présence, votre accompagnement et votre soutien.

À tous mes amis,

Je vous remercie énormément pour votre amitié, votre bienveillance, votre soutien et tous les merveilleux moments passés ensemble.

TABLE DES MATIERES

Remerciements	5
TABLE DES ILLUSTRATIONS :	15
TABLE DES TABLEAUX :	21
TABLE DES ANNEXES :	23
LISTES DES ABREVIATIONS :	25
Introduction.....	27
Première partie : Présentation de la Rainette Kunawalu (<i>Trachycephalus resinifictrix</i>) et des affections cutanées et des conditions de captivité de cette espèce	28
Chapitre I : Biologie et écologie des Amphibiens	28
I - Taxonomie et biologie générale	28
A. Un cycle biologique complexe	28
B. Principales espèces maintenues en captivité.....	29
C. <i>Trachycephalus resinifictrix</i> dans la classification	30
1) Généralités	30
2) Rainette Kunawalu	31
II - Anatomie générale, biologie et écologie	33
A. Organisation générale	33
B. Vie aquatique	33
1) Ponte et développement larvaire.....	33
2) Stade larvaire	35
C. Passage de la vie aquatique à la vie terrestre : la métamorphose.....	38
D. Vie terrestre	39
1) Stade juvénile	39
2) Stade adulte	39
a) Système musculo-squelettique et locomotion	40
b) Système nerveux.....	42
c) Appareil respiratoire	43
i. Respiration et échanges gazeux	43
ii. Respiration et métabolisme.....	44
d) Appareil cardiovasculaire	44
e) Régulation de la balance hydro-électrolytique et maintien de l'homéostasie	45
i. Appareil urinaire	45
ii. Système tégumentaire	47
iii. Particularités comportementales et thermorégulation	47
iv. Appareil digestif	49
f) Système endocrinien	50
g) Système immunitaire	51

h) Organes des sens	51
i) Communication	52
i. Production et réception du son.....	52
Appareil émetteur	52
Appareil récepteur	53
ii. Apparition du chant	53
iii. Le répertoire acoustique.....	53
iv. Chant des femelles.....	54
E. Reproduction et fécondation des anoures.....	54
1) Anatomie du système reproducteur et dimorphisme sexuelle.....	54
2) Gamétogénèse et fertilisation.....	55
3) Gamètes.....	56
a) Gamètes mâles	56
b) Gamètes femelles	58
4) Fécondation.....	59
5) Comportement reproducteur	60
6) Écologie de la reproduction.....	60
a) Saisonnalité.....	60
b) Amplexus.....	60
c) Sites d'oviposition, nidification.....	62
III - Répartition géographique	65
IV - Réglementation et statut de conservation	66
V - Identification des individus	66
Chapitre II : Biologie de la peau des amphibiens	70
I - Biologie de la peau.....	70
A. Généralités	70
B. Organisation de la peau	70
1) Épiderme	71
2) Derme.....	73
3) Glandes	74
4) Cellules du système immunitaire.....	77
5) Phanères	77
6) Vascularisation	78
II - Fonctions de la peau	78
A. Thermorégulation et échanges thermiques avec l'environnement.....	78
B. Peau et maintien de l'homéostasie hydrique.....	79
C. Rôle de la peau comme barrière physique.....	81
D. Rôle de la peau comme barrière chimique.....	82

1) Sécrétions toxiques et venimeuses.....	82
2) Couleur.....	82
E. Rôle de la peau comme barrière microbiologique.....	82
1) Peptides antimicrobiens.....	82
2) Fonctions des peptides antimicrobiens.....	83
3) Les cellules épithéliales comme senseurs microbiens et initiateurs de la réponse immunitaire innée 84	
F. Impacts de l'environnement sur la barrière cutanée de l'hôte.....	84
1) Facteurs abiotiques.....	84
2) Les contaminants chimiques.....	85
3) Rayonnements UV.....	85
4) Alcaloïdes.....	85
5) Microbiome.....	86
G. Processus de cicatrisation.....	86
III - Flore cutanée.....	91
Chapitre III : Paramètres environnementaux pouvant potentialiser ou favoriser le développement d'affections cutanées chez les anoures en captivité.....	
	93
I - Quarantaine.....	93
II - Alimentation en captivité.....	94
A. Composition de la ration.....	94
B. Distribution de la ration.....	96
C. Complémentations minérales et vitaminiques.....	97
1) Complémentation en vitamine A.....	98
2) Complémentation en vitamine D ₃	98
3) Complémentation par modulation de la composition nutritionnelle des proies.....	99
D. Métabolisme et équilibre hydro-électrolytique.....	101
E. Un exemple de ration alimentaire.....	102
III - Particularités de la reproduction et élevage des juvéniles <i>Trachycephalus resinifictrix</i> en captivité 103	
A. Ponte et éclosion.....	103
B. Saisonnalité.....	103
C. Élevage des larves.....	103
D. Individus fraîchement métamorphosés.....	105
IV - Le bien-être.....	106
A. Stress et bien-être.....	106
B. Physiologie du stress et effet sur l'organisme.....	107
C. Stress lié à la captivité.....	108
1) Contention et manipulation.....	108
2) Stress lié aux congénères.....	111

3)	Stress lié au logement.....	111
V -	Aménagement du terrarium.....	112
A.	Généralités	112
B.	Type de contenant pouvant être utilisé comme base du terrarium	113
C.	Systèmes ouverts et fermés.....	116
D.	Recommandations générales sur les matériaux utilisés dans la construction et l'aménagement du terrarium.....	119
1)	Colles et enduits de scellement.....	119
2)	Fond du terrarium.....	119
3)	Substrat	119
4)	Plantes	123
5)	Abris	125
6)	Particularités des terrariums arboricoles.....	126
E.	Brumisation	127
F.	Stratégie d'allotement.....	128
G.	Qualité de l'eau	128
1)	Paramètres de la qualité de l'eau.....	128
a)	Dioxyde de carbone	129
b)	Dioxygène dissous	129
c)	Dureté de l'eau	131
d)	Les déchets azotés	132
e)	pH.....	134
f)	Chlore.....	135
g)	Fluor	136
h)	Métaux lourds.....	136
i)	Phosphates	137
j)	Microorganismes	137
k)	Biphényles polychlorés et autres toxiques provenant du plastique.....	137
l)	Autres toxiques.....	137
2)	Traitement des sources d'eau	138
3)	Tests pour la qualité de l'eau	139
H.	Conditions environnementales	139
1)	Ventilation.....	140
2)	Température.....	141
a)	Température de l'air ambiant	141
b)	Température de l'eau	142
3)	Hygrométrie.....	143
4)	Éclairage et UVB	144
I.	Hygiène et désinfection	147

Chapitre IV - Étude bibliographique des agents environnementaux et infectieux pouvant potentialiser ou favoriser l'apparition des lésions cutanées chez les anoures en captivité	149
I - Étude bibliographique des agents environnementaux pouvant potentialiser ou favoriser l'apparition de lésions cutanées chez les anoures	149
A. Lésions cutanées traumatiques et environnementales	149
1) Blessures cutanées	149
2) Qualité de l'eau et irritants chimiques	151
II - Agents bactériens pouvant potentialiser ou favoriser l'apparition de lésions cutanées chez les anoures	151
A. « Red Leg Syndrome »	151
1) Épidémiologie	151
2) Signes cliniques et lésions	152
3) Diagnostic.....	152
4) Traitement	153
B. Flavobactériose	154
1) Épidémiologie	154
2) Signes cliniques et lésions	154
3) Diagnostic.....	154
4) Traitement	154
C. Chlamydirose.....	154
1) Épidémiologie	154
2) Signes cliniques et lésions	155
3) Diagnostic.....	155
4) Traitement	155
D. Mycobactériose	155
1) Épidémiologie et caractéristiques.....	155
2) Signes cliniques et lésions	155
3) Diagnostic.....	156
4) Traitement	156
5) Impact sur l'homme	156
E. Infections bactériennes diverses	156
III - Champignons et organismes apparentés pouvant potentialiser ou favoriser l'apparition de lésions cutanées chez les anoures	157
A. Saprolognieose	157
1) Épidémiologie	157
2) Signes cliniques et lésions	157
3) Diagnostic.....	157
4) Traitement	158
B. Chytridiomycose.....	158

1) Épidémiologie	158
2) Signes cliniques et lésions	158
3) Diagnostic.....	160
4) Traitement	160
C. Chromomycose	161
1) Épidémiologie	161
2) Signes cliniques et lésions	161
3) Diagnostic.....	161
4) Traitement	161
D. Autres infections fongiques	162
1) Basidiobolomycose	162
2) Zygomycètes	162
3) Eucaryotes unicellaires	162
IV - Agents viraux pouvant potentialiser ou favoriser l'apparition de lésions cutanées chez les anoures	163
A. Infections par <i>Iridovirus</i>	163
1) Épidémiologie	163
2) Signes cliniques et lésions	163
3) Diagnostic.....	164
4) Traitement	164
B. Autres infections virales	164
V - Agents parasitaires pouvant potentialiser ou favoriser l'apparition de lésions cutanées chez les anoures	165
A. Arthropodes	165
1) Épidémiologie	165
2) Signes cliniques et lésions	165
3) Diagnostic.....	165
B. Nématodes	166
1) <i>Pseudocapillaroides xenopi</i>	166
a) Épidémiologie	166
b) Signes cliniques	166
c) Diagnostic.....	166
d) Traitement	166
2) Autres nématodes	167
C. Autres parasites métazoaires	167
1) <i>Gyrodactylus</i> spp.....	167
a) Épidémiologie	167
b) Signes cliniques et lésions	167
c) Diagnostic.....	167

d) Traitement	167
2) <i>Clinostomum</i> spp.....	167
a) Épidémiologie	167
b) Signes cliniques et lésions	167
c) Diagnostic.....	167
d) Traitement	168
VI - Maladies cutanées néoplasiques	168
Deuxième partie : Présentation du Vivarium de la Ménagerie du Jardin des Plantes et étude expérimentale des conditions de captivité des rainettes Kunawalu	
Introduction.....	169
Chapitre I – Paramètres zootechniques	170
I - Le Vivarium de la Ménagerie du Jardin des Plantes	170
A. Historique et objectifs de la Ménagerie	170
B. Le Vivarium	171
1) Présentation des lieux	171
2) Personnel	172
3) Animaux exposés	172
II - Paramètres environnementaux de captivité auxquels sont soumises les rainettes du Vivarium de la Ménagerie du Jardin des Plantes	173
A. Introduction.....	173
B. Alimentation.....	173
1) Composition et distribution de la ration	173
2) Conservation et préparation des aliments.....	174
3) Bilan	174
C. Aménagement du terrarium et bien-être	175
4) Agressivité et comportement territorial.....	178
5) Manipulation et contention	181
6) Exposition au public	181
7) Aménagement du milieu et enrichissement	181
D. Paramètres environnementaux	184
1) Éclairage	184
2) Température et hygrométrie.....	184
a) Objectif de l'étude expérimentale	184
b) Hypothèses	185
c) Matériels et méthodes	185
d) Résultats	187
i. Période du 29 septembre au 9 octobre 2020	188
Température.....	188
Hygrométrie.....	191

ii. Période du 12 octobre 2020 au 11 janvier 2021	192
Température.....	192
Hygrométrie.....	195
e) Complément à cette étude expérimentale.....	198
f) Discussion	200
3) Qualité de l'eau	203
a) Nettoyage des bassins	203
b) Analyse expérimentale de la qualité de l'eau :	203
i. Objectif	203
ii. Hypothèses	203
iii. Matériels et méthodes	204
Monographie des tests de qualité de l'eau utilisés (JBL, 2021)	204
Protocole appliqué pour l'analyse de la qualité de l'eau	209
iv. Résultats	211
Bassin de droite « Bassin D »	211
Bassin de gauche « Bassin G »	214
Comparaison Bassin D/Bassin G	216
v. Discussion	220
4) Hygiène	223
Chapitre II – Lésions cutanées rostrales chez les rainettes Kunawalu	225
I - Historique de la pathologie rencontrée au Vivarium.....	225
A. Circonstances d'apparition et historique	225
B. Caractérisation des lésions	230
1) Description des lésions	231
2) Examens complémentaires	233
II - Discussion	235
A. Prise en charge médicale des lésions cutanées	236
B. Modifications pouvant être apportées au niveau environnemental	237
C. Discussion autour de la démarche diagnostique.....	238
Conclusion.....	241
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :.....	243
Annexes :	251

TABLE DES ILLUSTRATIONS :

Figure 1: Cycle de développement de <i>Trachycephalus resinifictrix</i> (Mignet, 2015 ; Bea-Creations, 2020, modifié).....	29
Figure 2 : Classification simplifié de la classe des Amphibia.....	30
Figure 3 : Principaux représentants de la famille des Hylidés.....	31
Figure 4 : Schéma de la main d'une grenouille du genre <i>Trachycephalus</i> montrant les ventouses digitales (Dewynter <i>et al.</i> , 2016).....	32
Figure 5 : Classification taxonomique de <i>Trachycephalus resinifictrix</i> simplifiée.....	32
Figure 6 : Chronologie du développement larvaire (ACEMAV <i>et al.</i> , 2003).....	35
Figure 7 : Développement larvaire d'un anoure (Vitt et Caldwell, 2013a).....	36
Figure 8 : Les branchies du têtard (Anselme, 2019).....	37
Figure 9 : Juvénile <i>Trachycephalus resinifictrix</i> (Lima <i>et al.</i> , 2005).....	39
Figure 10 : Adulte de <i>Trachycephalus resinifictrix</i> (photo personnelle, Vivarium – Ménagerie du Jardin des Plantes, 2020).....	39
Figure 11 : Squelette d'un anoure typique, (Wright, 2001a, modifié).....	41
Figure 12 : Exemples de structures tégumentaires spécialisées chez les amphibiens (Vitt et Caldwell, 2013d ; Vitt et Caldwell, 2013f).....	44
Figure 13 : Localisation d'un sac lymphatique dorsal chez un anoure (Whitaker et Wright, 2019).....	45
Figure 14 : Représentation schématique du fonctionnement rénal chez les amphibiens (Vitt et Caldwell, 2013d).....	46
Figure 15 : Posture d'épargne hydrique chez les anoures (Vitt et Caldwell, 2013d).....	49
Figure 16 : Anatomie viscérale d'une grenouille (Wright, 2001a, modifié).....	50
Figure 17 : Schéma de l'ensemble des structures de l'appareil vocal au moment du chant (ACEMAV <i>et al.</i> , 2003).....	52
Figure 18 : Schéma du système auditif des anoures (ACEMAV <i>et al.</i> , 2003).....	53
Figure 19 : Anatomie viscérale d'une grenouille femelle, après retrait du foie et de la vésicule biliaire et réclinaison de l'estomac pour faire apparaître l'appareil uro-génital (Wright, 2001a, modifié).....	55
Figure 20 : Photographie d'un mâle <i>Trachycephalus resinifictrix</i> et de son pad nuptial gauche (photographie personnelle).....	55
Figure 21 : Régulation de la fonction de reproduction chez les amphibiens. Schéma de synthèse personnel inspiré de Vitt et Caldwell (2013b).....	56
Figure 22 : Coupe transversale d'un tube séminifère permettant l'illustration de la spermatogenèse chez les amphibiens (Vitt et Caldwell, 2013b).....	57
Figure 23 : Schématisation de la structure du spermatozoïde d'un Hylidé (Vitt et Caldwell, 2013b, modifié).....	57
Figure 24 : Développement des œufs chez les amphibiens (Vitt et Caldwell, 2013b, modifié).....	58
Figure 25 : Comparaison d'un œuf anamniotique d'un amphibien et d'un œuf amniotique d'un reptile (Vitt et Caldwell, 2013b, modifié).....	59
Figure 26 : Amplexus axillaire d'un couple de <i>Trachycephalus resinifictrix</i> (Mignet, 2015).....	61
Figure 27 : Schématisation des différents modes d'amplexus retrouvés chez les anoures (Willaert et Biju, 2016, modifié).....	61
Figure 28 : Différents sites d'oviposition chez les anoures (Vitt et Caldwell, 2013c).....	63
Figure 29 : Mâle <i>Trachycephalus resinifictrix</i> vocalisant à l'entrée d'un trou d'arbre rempli d'eau. Dessin de T. Guttman d'après une photo prise par l'auteur au Panguana (Pérou) (Hödl, 1991).....	65
Figure 30 : Distribution mondiale des Hylidés (Vitt et Caldwell, 2013g).....	65
Figure 31 : Aire de répartition de <i>Trachycephalus resinifictrix</i> , représentée par l'aire colorée en jaune (BerkeleyMapper, 2021).....	65
Figure 32 : <i>Trachycephalus resinifictrix</i> sur la liste rouge mondiale des espèces menacées (IUCN, 2008).....	66
Figure 33 : Éléments de diagnose des <i>Trachycephalus resinifictrix</i> (Dewynter <i>et al.</i> , 2016).....	68
Figure 34 : Changement morphologique et développement des patrons de couleurs chez <i>Trachycephalus resinifictrix</i> (Mignet, 2015).....	69

Figure 35 : Schéma de l'organisation et des barrières immunitaires physiques, chimiques, cellulaire et microbiologique de la peau d'une grenouille (Varga <i>et al.</i> , 2019).	71
Figure 36 : Coupe transversale de la peau ventrale de <i>Rhinella marina</i> (Vitt et Caldwell, 2013a, modifié).	72
Figure 37 : Coupes histologiques de la peau d'une rainette arboricole (Goniakowska-Witalińska et Kubiczek, 1998).	73
Figure 38 : Coupes histologiques de la peau d'une rainette arboricole en partie dorsale (a, b) et ventrale (c, d), grossissement x 300 (Goniakowska-Witalińska et Kubiczek, 1998).	76
Figure 39 : Photographie montrant les glandes parotoïdes hypertrophiées de <i>Rhaebo guttatus</i> . Les sécrétions des glandes parotoïdes sont toxiques, (Vitt et Caldwell, 2013a, modifié).	77
Figure 40 : Différents échanges ayant lieu entre les amphibiens et leur milieu de vie, adapté de Brattstrom, 1979 (Vitt et Caldwell, 2013e, modifié).	79
Figure 41 : Photographie d'une grenouille <i>Anaxyrus punctatus</i> (Bufonidés) sur une vitre montrant l'absorption hydrique par le patch pelvien. Photo de L. J. Vitt et J. P. Cadwell, tirée de Vitt et Caldwell (2013d).	80
Figure 42 : Illustration de <i>Phyllomedusa sauvagii</i> (Hylidés) étalant les sécrétions lipidiques sur sa peau par des mouvements répétés des pattes. Les flèches indiquent les mouvements des pattes (Vitt et Caldwell, 2013c).	80
Figure 43 : Étapes de la cicatrisation (Demori <i>et al.</i> , 2019).	86
Figure 44 : Schéma chronologique du potentiel de régénération chez les anoures (Godwin et Rosenthal, 2014).	89
Figure 45 : Diagramme représentant la distribution des taxa (OTUs) partagés entre les populations captives et sauvage de <i>Atelopus zeteki</i> (Becker <i>et al.</i> , 2014).	91
Figure 46 : Représentation en camembert de l'abondance relative moyennes des principaux embranchements (phyla) retrouvées au sein des populations captive et sauvage de <i>Atelopus zeteki</i> (Becker <i>et al.</i> , 2014, modifié).	92
Figure 47 : Composition chimique du Virkon S (Germineo, 2021).	93
Figure 48 : Coupe longitudinale de <i>Rana catesbeiana</i> montrant le prolongement du sac endolymphatique vers la colonne vertébrale et délimitant des sacs endolymphatiques contenant des cristaux de carbonate de calcium (indiqués par les flèches blanches) de part et d'autre de la colonne vertébrale.	102
Figure 49 : Modifications morphologiques lors du développement larvaire de <i>Trachycephalus resinifictrix</i> (Mignet, 2015).	104
Figure 50 : Réponse de stress à un stress aigu. Schéma personnel basé sur Hunt (2019).	107
Figure 51: Réponse de stress à un stress chronique. Schéma personnel basé sur Hunt (2019).	108
Figure 52 : Contention d'un anoure en avant des membres pelviens. Photo de F. Pasmans (Pasmans et Martel, 2019b).	109
Figure 53 : Contention chimique de <i>Bufo guttata</i> dans un bain de tricaine méthanesulfonate. Photo de G. Grall, Aquarium National de Baltimore, (Wright, 2001d).	110
Figure 54 : Signes cliniques pouvant être révélateurs d'un stress chez les amphibiens (Hunt, 2019 ; Pasmans et Martel, 2019b).	110
Figure 55 : Changement de coloration chez <i>Trachycephalus resinifictrix</i> suite à une contention, (photographie personnelle).	111
Figure 56 : Un exemple de terrariums construits avec des bacs en plastique, à système ouvert, utilisés pour les quarantaines. Photo de J. Pramuk (Pramuk et Gagliardo, 2012).	114
Figure 57 : Vue latérale d'un terrarium classique sans fourniture utilisé à l'Aquarium National de Baltimore pour l'élevage des anoures. Illustration de Sandy Barnett (Barnett <i>et al.</i> , 2001).	115
Figure 58 : Différences entre un système ouvert (à gauche) et fermé (à droite) dotés d'un couvercle hermétique permettant la ventilation, illustration de J. Pramuk (Pramuk et Gagliardo, 2012).	117
Figure 59 : Exemple de terrariums légers et grillagés facilement déplaçables pouvant être utilisés pour les espèces arboricoles. Ils nécessitent d'être placée dans une pièce où les paramètres climatiques sont optimaux pour l'espèce hébergée. Photo de R. Gagliardo (Pramuk et Gagliardo, 2012).	118

Figure 60 : Exemples de cachettes pouvant être mis à disposition des animaux, (Pramuk et Gagliardo, 2012).	125
Figure 61 : Exemple d'aménagement pour un terrarium arboricole, illustration de S. Barnett (Pramuk et Gagliardo, 2012).	127
Figure 62 : Cycle de l'azote (schématisation basée sur Salters Institute (2021)).	132
Figure 63 : Formule présentant les paramètres intervenant dans la détermination de la part d'ammoniacque non dissociée présentant dans l'eau (Svobodova <i>et al.</i> , 1993).	133
Figure 64 : Vue latérale d'un terrarium arboricole montrant une circulation correcte de l'air, illustration de S. Barnett (Barnett <i>et al.</i> , 2001).	140
Figure 65 : Utilisation d'un humidificateur pour simuler une augmentation rapide de l'humidité relative (Pramuk et Gagliardo, 2012).	144
Figure 66 : Abrasion rostrale chez <i>Agalychnis callidryas</i> (Whitaker et Wright, 2019).	150
Figure 67 : Érythème ventral évocateur d'un « Red Leg Syndrome » chez un anoure (Whitaker et Wright, 2019).	152
Figure 68 : Signes cliniques et histopathologiques associées à une infection par <i>Batrachochytrium dendrobatidis</i> chez <i>Alytes obstetricans</i> (Van Rooij <i>et al.</i> , 2015).	159
Figure 69 : Lésions cutanées chez <i>Mantella baroni</i> (flèches blanches) au niveau des membres thoraciques (a) et sur la face ventrale (b) (Briand <i>et al.</i> , 2019).	165
Figure 70 : Examen histologique d'une biopsie cutanée de <i>Mantella baroni</i> (Briand <i>et al.</i> , 2019).	166
Figure 71 : Plan du Vivarium de la Ménagerie du Jardin des Plantes, plan provenant du Museum National d'Histoire Naturelle (modifié).	171
Figure 72 : Galerie intérieure du Vivarium, photographie de la Ménagerie du Jardin des Plantes.	171
Figure 73 : Locaux du Vivarium et environnement immédiat du terrarium des <i>Trachycephalus resinifictrix</i> , photographies personnelles.	172
Figure 74 : Criquets (à gauche) et grillons (à droite) distribués en tant que proie vivante et évoluant au sein du terrarium, photographies personnelles.	174
Figure 75 : Vue d'ensemble du terrarium des rainettes Kunawalu en exposition et en réserve, (remerciements au Dr D. Duby pour les photographies (a, b, c) des terrariums. Les autres photographies sont personnelles).	176
Figure 76 : Vue d'ensemble du terrarium des rainettes Kunawalu en exposition et en réserve, (remerciements au Dr D. Duby pour les photographies (a, b, c) des terrariums. Les autres photographies sont personnelles).	177
Figure 77 : Photographies automatiques des rainettes Kunawalu illustrant les déplacements et la répartition des animaux au sein du terrarium (photographies de la Ménagerie).	179
Figure 78 : Évaluation de la note d'état corporelle chez <i>Dendrobates tinctorius</i> , illustration de J. Abraham (Whitaker et Wright, 2019).	180
Figure 79 : Variation de la note d'état corporel parmi les rainettes Kunawalu du Vivarium de la Ménagerie du Jardin des Plantes.	181
Figure 80 : Environnement crée au sein du terrarium d'exposition des rainettes Kunawalu, photographies personnelles.	183
Figure 81 : Aménagement de l'environnement au sein du terrarium de réserve, photographies personnelles.	184
Figure 82 : Localisation des différents capteurs de température au sein du terrarium, vue côté visiteur (photographie de D. Duby, modifiée).	186
Figure 83 : Localisation des différents capteurs de température au sein du terrarium, vue côté visiteur au 10 octobre 2020 (photographie de D. Duby, modifiée).	187
Figure 84 : Variations de températures enregistrées au sein du terrarium d'exposition des rainettes Kunawalu entre le 29 septembre et le 9 octobre 2020.	188
Figure 85 : Différence de températures entre les sondes "Feuillage" et "Sol" par rapport à la sonde "Extérieur" du 29 septembre au 9 octobre 2020.	189
Figure 86 : Différence des températures de la sonde « Feuillage » par rapport à la sonde « Sol » entre le 29 septembre et le 9 octobre 2020.	190

Figure 87 : Variations de l'hygrométrie enregistrée au sein du terrarium d'exposition des rainettes Kunawalu entre le 29 septembre et le 9 octobre 2020.....	191
Figure 88 : Variations de températures enregistrées au sein du terrarium d'exposition des rainettes Kunawalu entre le 12 octobre 2020 au 11 janvier 2021.....	192
Figure 89 : Différence de températures entre les sondes "Feuillage" et "Sol" par rapport à la sonde "Extérieur" du 12 octobre 2020 au 11 janvier 2021.....	193
Figure 90 : Différence des températures de la sonde "Feuillage" par rapport à la sonde "Sol" du 12 octobre 2020 au 8 janvier 2021.....	194
Figure 91 : Variations de l'hygrométrie enregistrée au sein du terrarium d'exposition des rainettes Kunawalu entre le 29 septembre au 9 octobre 2020.	195
Figure 92 : Représentation des valeurs d'hygrométrie selon les heures de relevés au cours de la journée au sein du terrarium des rainettes Kunawalu entre le 29 septembre au 9 octobre 2020.....	196
Figure 93 : Variations de l'hygrométrie enregistrée au sein du terrarium d'exposition des rainettes Kunawalu entre le 12 octobre 2020 au 11 janvier 2021.....	197
Figure 94 : Représentation des valeurs d'hygrométrie selon les heures de relevés au cours de la journée au sein du terrarium des rainettes Kunawalu entre le 10 octobre 2020 et le 8 janvier.	198
Figure 95 : Variations des températures enregistrées au sein du terrarium de réserve des rainettes Kunawalu entre le 7 octobre 2020 et le 11 janvier 2021.....	199
Figure 96 : Variation de l'hygrométrie enregistrée au sein du terrarium de réserve des rainettes Kunawalu entre le 7 octobre 2020 et le 11 janvier 2021.....	200
Figure 97 : Localisations préférentielles des rainettes Kunawalu au sein du terrarium d'exposition (photographies personnelles).....	201
Figure 98 : Présentation des tests de qualité de l'eau.	204
Figure 99 : Lecture des résultats du colorimétrique de pH, photographie personnelle.....	206
Figure 100 : Résultat du test NH ₄ en cours de lecture, photographie personnelle.....	207
Figure 101 : Lecture des résultats des tests colorimétriques appliqués au test NO ₂ , photographie personnelle.....	208
Figure 102 : Lecture du test NO ₃ , photographie personnelle.....	209
Figure 103 : Lecture des résultats de la bandelette après les temps d'attentes indiqués, photographie personnelle.....	209
Figure 104 : Plan de travail classique pour la réalisation des tests de qualité de l'eau, photographie personnelle.....	210
Figure 105 : Graphique représentant la teneur en NH ₄ ⁺ /NH ₃ , du pH et de la température au sein du bassin D entre le 29 septembre et le 16 octobre 2020.	211
Figure 106 : Graphique représentant l'évolution des métabolites azotés dans le bassin D entre le 29 septembre et le 16 octobre 2020.....	212
Figure 107 : Graphique représentant l'évolution de la dureté totale et carbonatée, et du pH, dans le bassin D entre le 29 septembre et le 16 octobre 2020.	213
Figure 108 : Graphique représentant l'évolution de la teneur en dichlore dans le bassin D entre le 29 septembre et le 16 octobre 2020.....	213
Figure 109 : Graphique représentant la teneur en NH ₄ ⁺ /NH ₃ , du pH et de la température au sein du bassin G entre le 29 septembre et le 16 octobre 2020.	214
Figure 110 : Graphique représentant l'évolution de la teneur en métabolites azotés dans le bassin G entre le 29 septembre et le 16 octobre 2020.....	215
Figure 111 : Graphique représentant l'évolution de la dureté totale et carbonatée, et du pH dans le bassin G entre le 29 septembre et le 16 octobre 2020.	215
Figure 112 : Graphique représentant l'évolution de la teneur en dichlore dans le bassin G entre le 29 septembre et le 16 octobre 2020.....	216
Figure 113 : Comparaison de la variation de la concentration en NH ₄ ⁺ /NH ₃ dans l'eau des bassins Droit, Gauche, dans l'eau du robinet et dans l'eau osmosée entre le 29 septembre et le 16 octobre 2020.	216
Figure 114 : Comparaison de la variation de la concentration en NO ₂ ⁻ dans l'eau des bassins Droit, Gauche, dans l'eau du robinet et dans l'eau osmosée entre le 29 septembre et le 16 octobre 2020.	217

Figure 115 : Comparaison de la variation de la concentration en NO ₃ ⁻ dans l'eau des bassins Droit, Gauche, dans l'eau du robinet et dans l'eau osmosée entre le 29 septembre et le 16 octobre 2020.	217
Figure 116 : Comparaison de la variation du pH de l'eau des bassins Droit, Gauche, de l'eau du robinet et de l'eau osmosée entre le 29 septembre et le 16 octobre 2020.	218
Figure 117 : Comparaison de la variation de la dureté totale de l'eau des bassins Droit, Gauche, de l'eau du robinet et de l'eau osmosée entre le 29 septembre et le 16 octobre 2020.	218
Figure 118 : Comparaison de la variation de la dureté carbonatée de l'eau des bassins Droit, Gauche, de l'eau du robinet et de l'eau osmosée entre le 29 septembre et le 16 octobre 2020.	219
Figure 119 : Comparaison de la variation de la concentration en dichlore dans l'eau des bassins Droit, Gauche, dans l'eau du robinet et dans l'eau osmosée entre le 29 septembre et le 16 octobre 2020.	219
Figure 120 : Comparaison de la variation de la température de l'eau des bassins Droit, Gauche, de l'eau du robinet et de l'eau osmosée entre le 29 septembre et le 16 octobre 2020.	220
Figure 121 : Chronologie de l'évolution des lésions rostrales chez les rainettes Kunawalu en 2016.	226
Figure 122 : Aspect des lésions rostrales observées initialement (photographie de la Ménagerie du Jardin des Plantes).	227
Figure 123 : Chronologie de l'évolution des lésions cutanées chez les rainettes Kunawalu en 2017 et 2018.	228
Figure 124 : Composition du mélange phytothérapeutique Fleur de Bach (Ménagerie du Jardin des Plantes).	229
Figure 125 : Chronologie de l'évolution des lésions cutanées chez les rainettes Kunawalu en 2019.	230
Figure 126 : Représentation du nombre de grenouilles atteintes en fonction de la gravité des lésions rostrales observées au 13 octobre 2020.	233
Figure 127 : Réalisation de la biopsie sur la grenouille 6 à l'aide d'un biopsie-punch, photographie personnelle.	233
Figure 128 : Anesthésie de la grenouille 9 par balnéation dans une solution de MS-222 tamponnée avec du bicarbonate de sodium, photographie personnelle.	234
Figure 129 : Grenouille 9 avant (à gauche) et après (à droite) biopsie, photographies personnelles.	234
Figure 130: Radiographie des rainettes Kunawalu 6 et 9, photographie personnelle.	235
Figure 131 : Infection cutanée d'une <i>Physalaemus henselii</i> par <i>Batrachochytrium dendrobatidis</i> (Borteiro et al., 2019).	239

TABLE DES TABLEAUX :

Tableau 1 : Saisonnalité de la reproduction selon le milieu de vie (Vitt et Caldwell, 2013b).	60
Tableau 2 : Différents modes d'oviposition chez les anoures (Vitt et Caldwell, 2013c).	62
Tableau 3 : Fonctions et caractéristiques des principales glandes retrouvées chez les anoures (Goniakowska-Witalińska et Kubiczek, 1998 ; Mouret, 2001 ; Rollins-Smith et Conlon, 2005 ; Vitt et Caldwell, 2013a ; Ramsey <i>et al.</i> , 2010 ; Rollins-Smith <i>et al.</i> , 2011 ; Varga <i>et al.</i> , 2019 ; Clairambault <i>et al.</i> , 2021).	75
Tableau 4 : Aliments pouvant être proposés aux amphibiens aquatiques et terrestres en captivité (Wright, 2001b ; Mignet, 2015 ; Boyer et Scott, 2019).	96
Tableau 5 : Comparaison des deux modes de complémentation (généralement en calcium) des proies (Finke, 2003 ; Ferrie <i>et al.</i> , 2014).	100
Tableau 6 : Comparaison de l'élevage des larves de <i>Trachycephalus resinifictrix</i> au sein de deux structures ayant émis des recommandations sur l'élevage de cette espèce (Tapley et Bradfield, 2008 ; Mignet, 2015).	103
Tableau 7 : Comparaison de l'élevage des juvéniles de <i>Trachycephalus resinifictrix</i> au sein de deux structures ayant émis des recommandations sur l'élevage de <i>Trachycephalus resinifictrix</i> , (Tapley et Bradfield, 2008 ; Mignet, 2015).	105
Tableau 8 : Exemples de stimuli stressogènes chez les amphibiens en captivité (Hunt, 2019).	107
Tableau 9 : Présentation des différents matériaux utilisés pour le terrarium des anoures (Mouret, 2001 ; Barnett <i>et al.</i> , 2001 ; Pramuk et Gagliardo, 2012).	113
Tableau 10 : Particularités associées aux systèmes ouverts et fermés (Pramuk et Gagliardo, 2012).	116
Tableau 11 : Substrat à privilégier lorsque des conditions hygiéniques rigoureuses sont indispensables et en zone de quarantaine (Pramuk et Gagliardo, 2012).	120
Tableau 12 : Substrats naturels et organiques pouvant être envisagés dans un terrarium (Pramuk et Gagliardo, 2012 ; Pasmans et Martel, 2019b).	121
Tableau 13 : Plantes pouvant être utilisées pour agrémenter un terrarium (Mouret, 2001 ; Pramuk et Gagliardo, 2012).	124
Tableau 14 : Différents degrés de la dureté totale et leurs correspondances en termes de dureté de l'eau (Pramuk et Gagliardo, 2012).	131
Tableau 15 : Ammoniaque et javel sont deux désinfectants couramment utilisés (Pasmans et Martel, 2019b).	148
Tableau 16 : Traitements recommandés lors de « Red Leg Syndrome » (Pessier, 2002 ; Whitaker et Wright, 2019).	153
Tableau 17 : Traitement antibiotique recommandé lors d'une infection à <i>Chlamydia</i> sp. (Taylor <i>et al.</i> , 2001 ; Whitaker et Wright, 2019).	155
Tableau 18 : Composition du Softcanis® (Vetostore, 2021).	174
Tableau 19 : Points positifs et négatifs relatifs à l'alimentation des rainettes Kunawalu.	174
Tableau 20 : Présentation des résultats témoignant des variations de températures enregistrées au sein du terrarium d'exposition des rainettes Kunawalu entre le 29 septembre et le 9 octobre 2020, toutes sondes confondues.	188
Tableau 21 : Présentation des résultats témoignant des variations de températures enregistrées au sein du terrarium d'exposition des rainettes Kunawalu entre le 12 octobre 2020 et le 11 janvier 2021, toutes sondes confondues.	192
Tableau 22 : Présentation des résultats témoignant des variations de températures enregistrées au sein du terrarium de réserve des rainettes Kunawalu entre le 29 septembre et le 9 octobre 2020.	199
Tableau 23 : Présentation des différents biais de l'étude.	220
Tableau 24 : Description des lésions observées chez les rainettes Kunawalu au 13 octobre 2020, photographies personnelles.	231
Tableau 25bis : Aspect des lésions observées chez les rainettes Kunawalu au 13 octobre 2020, photographies personnelles.	232
Tableau 26: Résultats de l'examen histologique des biopsies cutanées.	235

Tableau 27 : Exemples de paramètres recommandés pour le traitement par laser des plaies superficielles chez les mammifères, oiseaux, reptiles et poissons (Riegel, 2018).....	236
Tableau 28 : Paramètres utilisés dans le cadre de la photobiomodulation destinée au traitement des lésions rostrales chez les rainettes Kunawalu.....	237

TABLE DES ANNEXES :

Annexe 1 : Tableau récapitulatif des modifications anatomiques observées lors de la métamorphose, (ACEMAV <i>et al.</i> , 2003).....	251
Annexe 2 : Détermination de la fraction de NH ₃ non ionisé dans l'eau selon la température et le pH (Pramuk et Gagliardo, 2012) adapté de Emerson <i>et al.</i> , 1975.....	251
Annexe 3 : Paramètres de la qualité de l'eau pour le maintien des amphibiens en captivité (National Research Council (US) Subcommittee on Amphibian Standards, 1974 ; Odum et Zippel, 2008 ; Pasmans et Martel, 2019b).....	252
Annexe 4 : Présentation des autres sources d'eau disponibles en élevage (Odum et Zippel, 2008 ; Pramuk et Gagliardo, 2012).....	254
Annexe 5 : Diagnostic différentiel des maladies cutanées des amphibiens associées à un érythème cutané ou une décoloration, (Pessier, 2002).....	255
Annexe 6 : Reconstitution d'un Ringer Lactate pour amphibiens (Whitaker et Wright, 2019).....	255
Annexe 7 : Diagnostic différentiel des maladies cutanées nodulaires chez les amphibiens, (Pessier, 2002).....	256
Annexe 8 : Diagnostic différentiel des maladies cutanées ulcérées chez les amphibiens, (Pessier, 2002).....	256
Annexe 9 : Traitements pouvant être utilisés de la saprolégniose, (Taylor, 2001).....	256
Annexe 10 : Fiche identification <i>Trachycephalus resinifictrix</i> (photographies personnelles).....	257
Annexe 11 : Variations de température enregistrées au sein du terrarium d'exposition entre le 29 septembre et le 9 octobre 2020.....	262
Annexe 12 : Différences entre les températures enregistrées au sein du terrarium d'exposition et la température extérieure entre le 29 septembre et le 9 octobre 2020.....	262
Annexe 13 : Variations de l'hygrométrie enregistrée au sein du terrarium d'exposition entre le 29 septembre et le 9 octobre 2020.....	262
Annexe 14 : Variations de température enregistrées au sein du terrarium d'exposition entre le 12 octobre 2020 et le 11 janvier 2021.....	263
Annexe 15 : Protocole « Hygiène » du Vivarium (Duby, 2017).....	264

LISTES DES ABREVIATIONS :

°dH : German Hardness, degré allemand.
ACTH : Hormone corticotrope.
ADH : Hormone antidiurétique.
ADN : Acide désoxyribonucléique.
Atm : Atmosphère (unité de pression).
BEJ : Besoin énergétique journalier.
BPC : Biphényles polychlorés.
Bpm : battements par minute.
Ca : Calcium.
CITES : Convention sur le commerce international des espèces de faune et de flore sauvages menacées d'extinction.
CIVD : Coagulation intravasculaire disséminée.
DAMPs : Damage Associated Molecular Pattern (Motifs moléculaires associés aux dommages).
EDTA : Acide éthylènediaminetétraacétique.
FSH : Hormone folliculo-stimulante.
GALT : Gut-Associated Lymphoid Tissue (Tissu lymphoïde associé au tube digestif).
GH : General hardness (Dureté totale de l'eau).
GnRH : Gonadotropin-releasing Hormone (hormone de libération des gonadotrophines hypophysaires).
ITIS : Integrated Taxonomic Information System (Système d'Information Taxonomique Intégré).
IUCN : International Union for Conservation of Nature (Union Internationale pour la Conservation de la Nature).
KH : Carbonate hardness (Dureté carbonatée).
L : Longueur ; l : largeur ; H : hauteur.
LED : Diode électroluminescente.
LH : Hormone lutéïnistante.
MS-222 : Tricaine méthylsulfonate.
MSH : Hormone mélanotrope.
NEC : Note d'état corporel.
NLRs : Nucleotide-binding oligomerization domain-like receptors (Récepteur de type NOD).
NRC : Nutrient Requirements of the Laboratory Rat (Recommandations nutritionnelles du rat de laboratoire (*Rattus norvegicus*)).
OTU : Operational taxonomic unit (unité taxonomique opérationnelle).
P : Phosphore.
PAMPs : Pathogen Associated Molecular Patterns (Motifs moléculaires associés aux agents pathogènes).
PAMs : Peptides antimicrobiens.
PAS : Periodic Acid Schiff (Acide Périodique Schiff).
PCR : Polymerase Chain reaction (Réaction en chaîne par polymérase).
ppb : part per billion (partie par milliards).
ppm : partie par million.
PRR : Pattern Recognition Receptors (Récepteurs de reconnaissance de motifs moléculaire).
PV : Poids vif.
PVC : Polychlorure de vinyle.
RGTA : polymères de carboxyméthylglucose sulfate.
RLRs : Retinoic acid inducible gene-I-like receptors (Récepteurs de type RIG-I).
RT-PCR : Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction (Réaction en chaîne par polymérase après Transcription Inverse).
T3 : Triiodothyronine.
T4 : Thyroxine.
TGFβ : Transforming growth factor β (Facteur de croissance transformant β).
TH : Titre Hydrotimétrique, degré français.

TLRs : Toll-like receptors (Récepteurs Toll-like).

TSH : Thyroestimuline.

UFC : unité formant colonie.

UV : ultraviolets.

W : Watts (unité).

INTRODUCTION

Les amphibiens sont des animaux ectothermes dont le métabolisme et le bien-être dépendent directement de l'environnement dans lequel ils vivent. Leurs biotopes sont divers, complexes et difficiles à reproduire en captivité. Une mauvaise gestion des conditions d'élevage peut se révéler délétères pour ces animaux.

Une des principales problématiques de la captivité réside dans la gestion des paramètres environnementaux régnant au sein du terrarium : le contrôle et le suivi rigoureux de la température, de l'hygrométrie et de la qualité de l'eau en particulier sont indispensables.

De plus, les amphibiens ont la particularité d'avoir une peau très perméable permettant la réalisation de fonctions vitales telles que la respiration, le maintien de l'homéostasie, la thermorégulation ou encore la protection vis-à-vis du milieu extérieur. Cette peau est fragile et peut être sujet à de nombreuses affections, en particulier infectieuses.

La constatation de lésions rostrales ne répondant pas aux traitements médicaux chez des Rainettes Kunawalu (*Trachycephalus resinifictrix*) du Vivarium de la Ménagerie du Jardin des Plantes (Paris) a motivé cette étude. Elle nous a également fourni l'occasion de nous intéresser, aux conditions d'entretien mises en place au Vivarium, afin de mettre en évidence les points pouvant faire l'objet d'amélioration.

Après avoir présenté la biologie et l'écologie particulière des amphibiens, nous aborderons dans la partie bibliographique la gestion zootechnique de ces espèces qui se matérialise par la mise en place et le fonctionnement du terrarium. Nous étudierons ensuite les facteurs pouvant contribuer au développement d'affections cutanées chez les amphibiens, plus particulièrement les anoures. En raison du peu d'information disponible sur les espèces du genre *Trachycephalus*, des inférences pourront être formulées à partir de genres ou de clades voisins.

L'objectif de cette thèse est de réaliser un état des lieux des conditions de maintien en captivité des rainettes Kunawalu au sein du Vivarium de la Ménagerie du Jardin des Plantes. Les différentes observations ainsi que l'enregistrement d'un certain nombre de paramètres nous permettront de valider la méthode d'élevage ou le cas échéant de proposer des points d'amélioration ou de contrôle. Nous espérons que cette thèse permettra d'établir des recommandations pour le maintien des anoures en captivité, en proposant une synthèse de la littérature scientifique sur les paramètres zootechniques à surveiller au sein d'un terrarium. Cette thèse permettra également d'améliorer la prévention des lésions cutanées pouvant survenir chez ces animaux en captivité.

PREMIERE PARTIE : PRESENTATION DE LA RAINETTE KUNAWALU (*TRACHYCEPHALUS RESINIFICTRIX*) ET DES AFFECTIONS CUTANEEES ET DES CONDITIONS DE CAPTIVITE DE CETTE ESPECE

Chapitre I : Biologie et écologie des Amphibiens

I - Taxonomie et biologie générale

A. Un cycle biologique complexe

Les amphibiens, ou batraciens, sont des vertébrés tétrapodes et anamniotes. Ils sont ovipares et pondent leurs œufs dans l'eau.

Le déroulement complet de leur développement implique un changement d'habitat radical et une transformation spectaculaire du batracien à l'issue de modifications morphologiques, physiologiques et comportementales majeures. Le cycle de vie d'un amphibien est donc complexe et caractérisé par une grande diversité notamment chez les anoures.

La plupart des amphibiens possèdent un cycle vital biphasique, avec une phase terrestre et une phase aquatique (Figure 1). Les formes larvaires sont aquatiques à respiration branchiale, puis suite à la métamorphose, les juvéniles poursuivent leur croissance pour atteindre la maturité sexuelle en milieu terrestre et adoptent une respiration pulmonaire (Mouret, 2001 ; ACEMAV *et al.*, 2003).

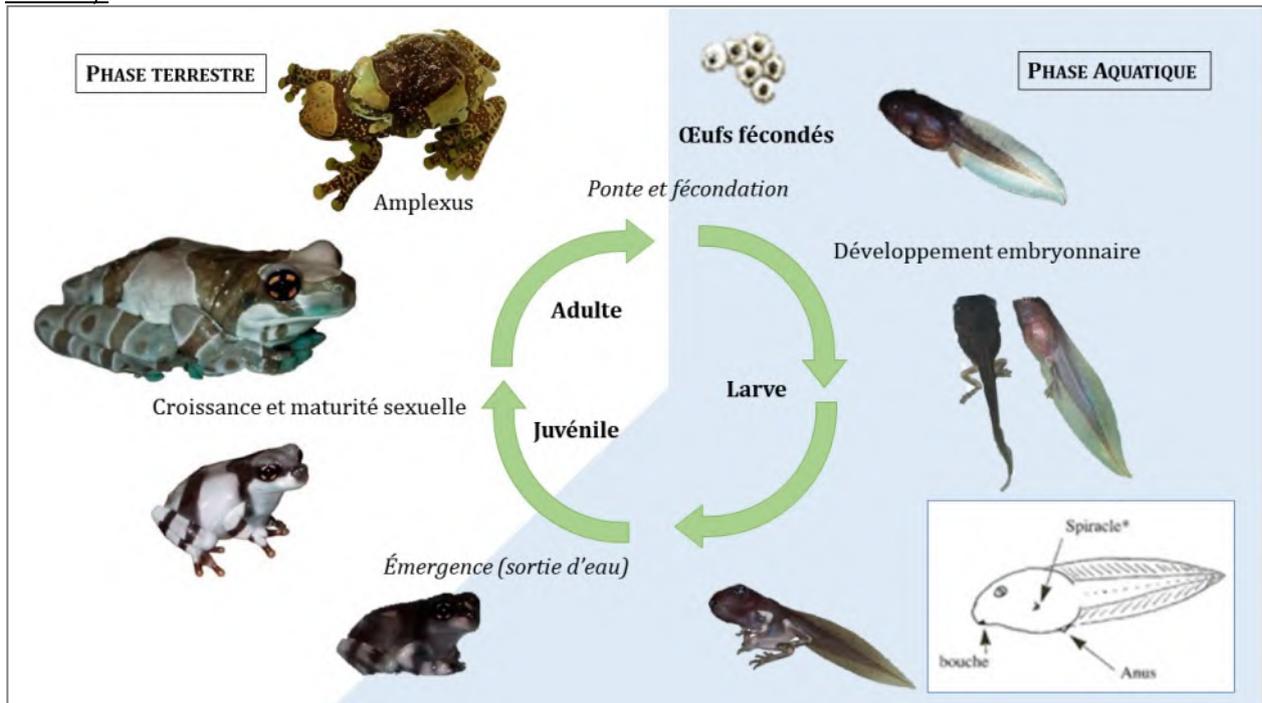
Hormis certaines espèces d'urodèles, tous les amphibiens quittent l'eau après la métamorphose. L'adulte reproducteur réalise des migrations afin de se reproduire. Au quotidien, les amphibiens doivent aussi se déplacer pour trouver leur nourriture ou des conditions de vie répondant à leurs besoins physiologiques. À plus large échelle, ils peuvent s'engager dans des déplacements à longue distance, qui les éloignent des habitats occupés par leurs parents. On parle de mouvements de dispersion, qui permettent la colonisation de nouveaux habitats ou des échanges entre populations (Mouret, 2001 ; ACEMAV *et al.*, 2003).

La complexité du cycle biologique des amphibiens s'explique aisément par les facteurs influençant la survie à chaque stade de développement.

Les œufs sont sujet à la dessiccation des sites de ponte mais aussi à la prédation par les insectes, poissons, reptiles, oiseaux et autres amphibiens. Les amphibiens se reproduisant en milieu terrestre et ceux déposant leurs œufs sur de la végétation au-dessus de plans d'eau s'affranchissent des causes de mortalité en lien avec le milieu aquatique.

Les larves de nombreuses espèces sont capables de croître rapidement. L'environnement peut rapidement passer d'une situation où les ressources sont abondantes et les prédateurs rares, à l'exact opposé, au fur et à mesure que la densité larvaire augmente. Les grandes larves sont moins sujettes à la prédation et se métamorphosent alors que leur taille est plus importante. Le stade juvénile est aussi un stade de croissance rapide. Les amphibiens viennent alors de subir la métamorphose et sont peu expérimentés vis-à-vis de leur nouvel environnement, subissant une forte mortalité par prédation. Les regroupements en nombre d'amphibiens en des lieux localisés favorisent particulièrement la prédation des adultes durant cette période. Elle est encore plus forte chez les espèces où les mâles vocalisent, attirant sur eux toute l'attention des prédateurs (Vitt et Caldwell, 2013b).

Figure 1: Cycle de développement de *Trachycephalus resinifictrix* (Mignet, 2015 ; Bea-Creations, 2020, modifié).



Les amphibiens sont des vertébrés à peau nue, poïkilothermes et ectothermes. Chaque espèce requiert des besoins bien précis. Il est donc indispensable, pour les individus captifs, de se rapprocher au maximum des conditions idéales du milieu d'origine (Mouret, 2001 ; ACEMAV *et al.*, 2003).

B. Principales espèces maintenues en captivité

Les Anoures sont les plus représentés en captivité. Les genres et espèces les plus couramment retrouvés sont *Bombina* spp., *Xenopus laevis*, *Hymenochirus* spp., *Ceratophrys* spp., *Bufo* spp., *Dendrobates* spp., *Phyllobates* spp., *Epipedobates* spp., *Rana* spp. et les *Hyla* spp.

De nombreuses espèces peuvent être maintenues et reproduites en captivité. La clé du succès réside dans l'acquisition et le maintien d'une bonne santé des animaux, fondées sur une connaissance suffisante des espèces, la fourniture d'une alimentation adaptée associée à une conduite d'élevage pertinente, ainsi que l'appui d'un vétérinaire en cas de besoin. Certaines espèces sont toutefois plus difficiles à entretenir en raison de leur taille ou de leurs exigences particulières en termes d'habitat ou d'alimentation. Nombre d'espèces sont actuellement reproduites en nombre suffisant, et l'acquisition de nouveaux individus appartenant à des populations élevées en captivité est fortement recommandé. Le prélèvement dans le milieu naturel doit être évité car il pose un problème sanitaire majeur en risquant d'introduire des maladies infectieuses dans la population captive mais aussi dans les populations indigènes sauvages. De plus, les animaux capturés *in situ* sont souvent très stressés et leur commerce est associé à un taux de mortalité très élevé. Ces prélèvements conduisent à un état général dégradé avec des affections parasitaires majeures, des infections cutanées bactériennes secondaires souvent létales ou encore des maladies fongiques ou virales. Le prélèvement non-durable des amphibiens est une cause majeure de leur déclin au niveau mondial (Pasmans et Martel, 2019b).

C. *Trachycephalus resinifictrix* dans la classification

1) Généralités

Il y a actuellement plus de 8326 espèces d'amphibiens décrites et ce nombre ne cesse de croître (Frost, 2020). Les amphibiens sont présents sur tous les continents mis à part l'Antarctique, le seul facteur limitant étant la présence d'une humidité relative suffisante. Les anoures constituent la majorité des espèces d'amphibiens connues avec plus de 6829 espèces décrites à ce jour (Pasmans et Martel, 2019a).

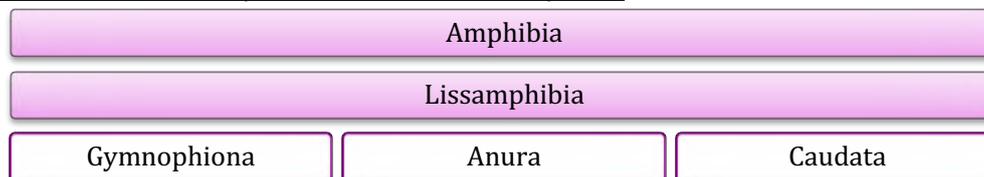
Les amphibiens sont les tétrapodes actuels les plus « primitifs ». Ce sont eux qui ont réalisé le premier passage complet de la vie aquatique à la vie terrestre chez les vertébrés. Ils sont de petite taille, ectothermes, anamniotes, pourvus (sauf exceptions) de deux paires de membres et de poumons, et d'une peau glandulaire dépourvue de phanères. Ils se définissent, en outre, par un ensemble de caractères anatomiques peu visibles situés sur les dents, dans les oreilles moyenne et interne, dans la rétine et sur le squelette du crâne (ACEMAV *et al.*, 2003).

Les lissamphibiens sont les représentants actuels de la lignée des amphibiens.

Connus depuis le Trias, la classe des Amphibia est divisée en trois ordres (Figure 2) :

- L'ordre des Caudata, ou urodèles (tritons, salamandres et protées). Ils conservent leur queue à l'âge adulte. La plupart possèdent quatre membres mais certaines familles comme les Sirénidés et les Amphiumidés présentent des membres très réduits voire absents. De nombreuses espèces d'Urodèles ne se métamorphosent pas à l'image des axolotls (*Ambystoma mexicanum*) qui conservent leurs formes larvaires à l'état adulte mais sont capables de se reproduire. Ce phénomène se nomme la néoténie (Mouret, 2001).
- L'ordre des Gymnophiona, également appelés apodes. Ce sont des amphibiens fousseurs, sous les tropiques, rarement observés dans les collections d'animaux exotiques (Mouret, 2001).
- L'ordre des Anura, ou anoures. Il compte quatre sous-ordres et regroupent un total de 56 familles. Certaines comme la famille des Hylidés comptent plus de 710 espèces, d'autres comme la famille des Nasikabatrachidés se réduisent à une seule espèce (*Nasikabatrachus sahyadrensis*). La plupart des familles hébergées en captivité sont les Bombinatoridés, les Bufonidés, les Ceratophryidés, les Dendrobatidés, les Hylidés, les Hyperoliidés, les Mantellidés, les Megophryidés, les Microhylidés, les Pipidés, les Rhacophoridés et les Ranidés (Pasmans et Martel, 2019a).

Figure 2 : Classification simplifiée de la classe des Amphibia.



Malgré l'hétérogénéité apparente des trois ordres d'amphibiens, ils possèdent au moins deux caractères communs qui leur sont propres : des dents pédicellées, c'est-à-dire avec une zone de moindre résistance entre la couronne et la base d'une part, et un deuxième osselet, l'opercule, dans l'oreille moyenne, qui recouvre la fenêtre ovale à côté de la columelle d'autre part. Ces deux particularités ont permis de reconnaître à l'ensemble de la classe une origine monophylétique. (Clément, 2005)

Grenouilles et crapauds sont les plus connus et les plus populaires. Les premières ont généralement une peau lisse et un mode de vie aquatique plus prononcé, contrairement aux seconds à la peau

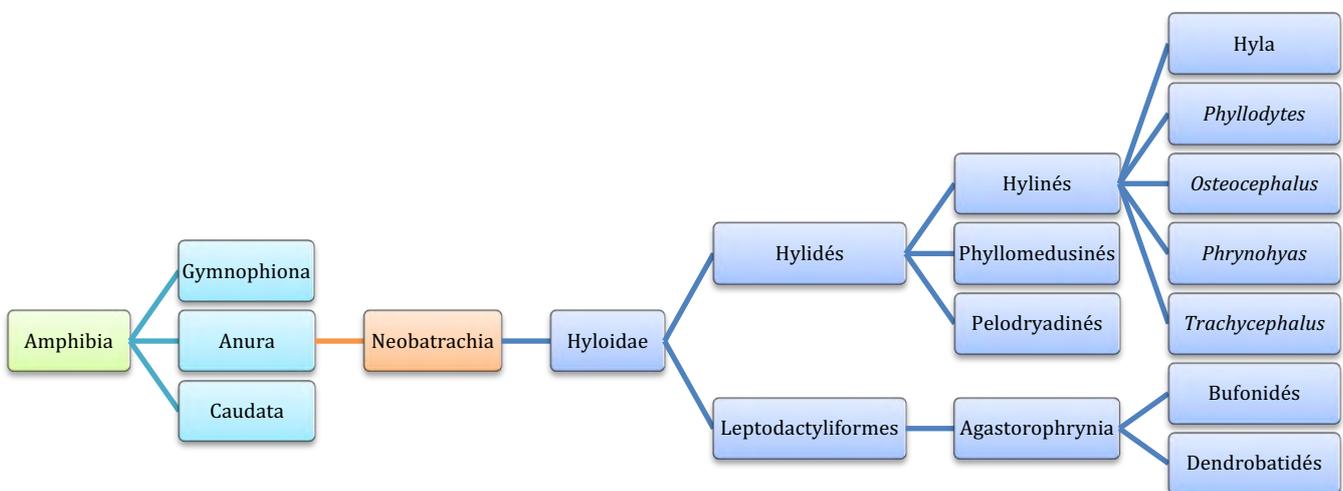
verruqueuse et occupant en majorité les habitats terrestres. Ces deux appellations distinguent les « vraies » grenouilles (Ranidés) et les « vrais » crapauds (Bufonidés) au sens taxonomique. Les échanges respiratoires chez l'adulte s'effectuent essentiellement à travers la peau et la muqueuse de la cavité buccale. Les anoures assimilent ainsi le dioxygène dissous dans l'eau, et peuvent demeurer en immersion prolongée (Santiani, 2002). Leur répartition géographique est très étendue, ayant colonisé des habitats particulièrement diversifiés, avec une préférence pour les zones intertropicales (Mouret, 2001).

Les gymnophiones sont quasi-exclusivement retrouvés dans l'hémisphère sud, alors que les urodèles se limitent principalement à l'hémisphère nord, à l'exception de la famille des Plethodontidés qui est retrouvée jusqu'au Brésil (Vitt et Caldwell, 2013f). Quant aux anoures, présents sur l'ensemble du globe, leurs deux principales lignées ont des distributions grossièrement complémentaires : le sous-ordre des Ranoidei se localisant principalement dans l'hémisphère sud, à l'inverse des Discoglossoidei. Ces derniers regroupent les anoures actuels les plus primitifs, que l'on retrouve en majorité en Europe, en Asie et en Amérique du Nord. Ils ne sont plus représentés en milieu naturel que par un nombre relativement restreint d'espèces, dispersées au sein de plusieurs familles dont certaines n'ont plus désormais que des distributions discontinues sur le globe. Le sous-ordre des Ranoidei rassemble au contraire la grande majorité des anoures actuels (ACEMAV *et al.*, 2003).

2) Rainette Kunawalu

La Rainette Kunawalu, *Trachycephalus resinifictrix*, fait partie de la classe des Amphibia, de la sous-classe des Lissamphibia, de l'ordre des Anoura, du sous-ordre Neobatrachia, de la super famille des Hyloidea, et de la famille des Hylidés (Figure 3) (Muséum National d'Histoire Naturelle, 2021b).

Figure 3 : Principaux représentants de la famille des Hylidés.



Le sous-ordre *Neobatrachia* compte plus de 5 000 espèces, soit 96% des espèces actuelles (Mouret, 2001).

La famille des Hylidés est une des 21 familles de l'ordre des anoures et regroupe les grenouilles arboricoles des continents américains et australiens. Elle comprend trois sous familles : Hylinés, Pelodyradinés, Phyllomedusinés, soit un total de 844 espèces (Vitt et Caldwell, 2013g).

Les représentants de la famille des Hylidés sont retrouvés sur l'ensemble du continent américain, les Antilles, en Eurasie et en Australie. Elle rassemble les petites rainettes, arboricoles pour la plupart, ayant des modes et des milieux de vie très variés, ainsi que des individus de toutes tailles : *Litoria microbelos* mesure 12-20 mm à l'âge adulte alors que des individus de l'espèce *Litoria infrafrenata* peut atteindre 135-140 mm au même stade (Mouret, 2001).

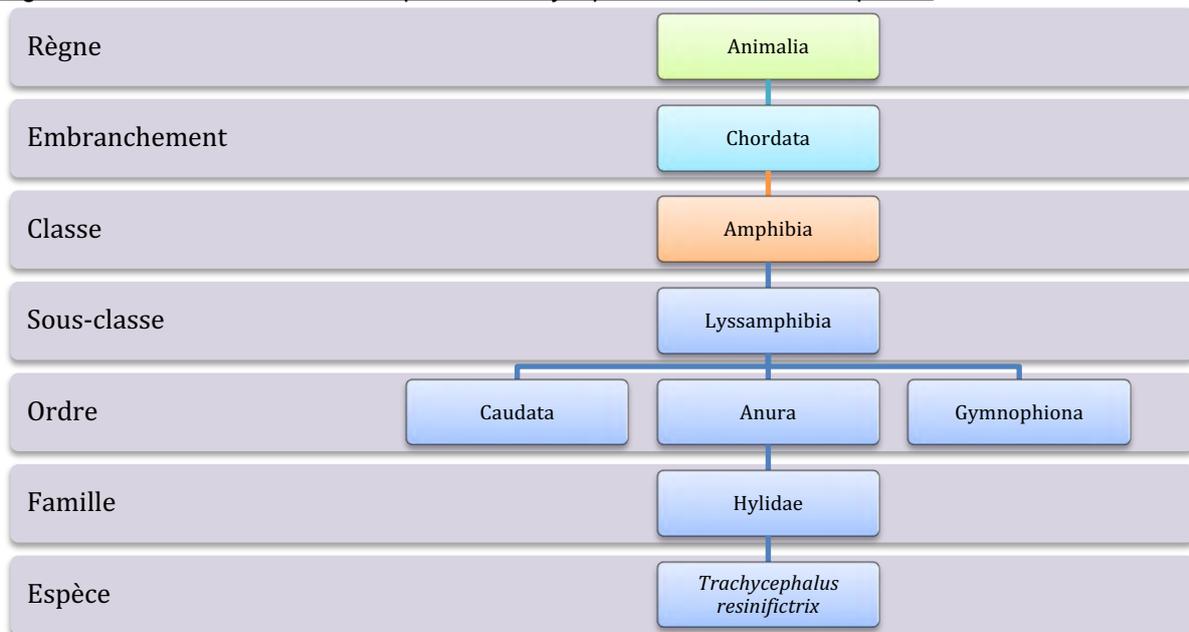
Ces rainettes possèdent des disques adhésifs au bout des doigts, ou ventouses digitales, et la peau ventrale granuleuse fait également ventouse pour se plaquer aux arbres ou se dissimuler sur les feuilles (Figure 4) (Vitt et Caldwell, 2013a).



Figure 4 : Schéma de la main d'une grenouille du genre *Trachycephalus* montrant les ventouses digitales (Dewynter *et al.*, 2016).

Trachycephalus resinifictrix (Figure 5), plus communément appelée **Rainette Kunawalu**, ou encore « Grenouille lait », a été décrite la première fois sous le nom de *Hyla resinifictrix* (Goeldi, 1907), puis suite à plusieurs évolutions taxonomiques, l'espèce a été classée dans le genre *Trachycephalus*, après avoir été précédemment répertoriée dans le genre *Phrynohyas* (Faivovich *et al.*, 2005 ; Tapley et Bradfield, 2008).

Figure 5 : Classification taxonomique de *Trachycephalus resinifictrix* simplifiée.



Le genre *Trachycephalus* comprend 14 espèces : *T. resinifictrix*, *T. typhonius*, *T. nigromaculatus*, *T. coriaceus*, *T. jordani*, *T. imitatrix*, *T. atlas*, *T. hadroceps*, *T. lepidus*, *T. dibernardoi*, *T. mambaiensis*, *T. helioi*, *T. cunauaru*. (Mignet, 2015)

D'après le rapport de l'ITIS publié en 2019, il existe environ 8 000 espèces d'amphibiens connues, dont près de 90 % sont des grenouilles (« Amphibian Species of the World », 2020), et selon la liste rouge des espèces menacées de l'Union Internationale pour la Conservation de la Nature publiée en 2019, 41 % des espèces d'amphibiens répertoriées sont menacées de disparition (IUCN, 2008).

II - Anatomie générale, biologie et écologie

A. Organisation générale

Elle est typique des vertébrés tétrapodes. Les anoues ont une tête, un tronc et une queue, laquelle disparaît chez l'adulte, ainsi que des membres pairs. Les larves n'ont pas de vraies nageoires impaires mais de simples replis cutanés, dorsaux ou caudaux, non soutenus par des pièces squelettiques. Le névraxe est situé dorsalement, protégé par le crâne et le canal vertébral. La cavité générale, indivisée, renferme les viscères dans les replis du mésentère (Clément, 2005).

Les anoues possèdent quatre membres, rattachés aux ceintures scapulaire et pelvienne, dotés de quatre doigts à l'avant et cinq à l'arrière. Ils sont dépourvus de sternum et donc de cage thoracique (Mouret, 2001).

Les orifices des conduits génitaux, urinaires et digestifs s'abouchent dans une même cavité, le cloaque (Mouret, 2001).

Les anoues sont également caractérisés par leur corps court et trapu, portant des membres postérieurs plus développés que les antérieurs, adaptés au saut à la nage. Les mâles sont dotés de sacs vocaux qui amplifient leur chant. Les œufs dépourvus de coque calcaire, sont généralement pondus dans l'eau, isolément, en grappes ou en cordons. Après l'incubation éclosent des jeunes larves qui subissent des métamorphoses, plus marquées que chez les autres amphibiens. Chez l'embryon, la tête est volumineuse et bien distincte du corps qui est allongé, tandis que la queue est absente ou rudimentaire. Elle se développera progressivement, avant de se résorber. Les pattes postérieures apparaissent avant les antérieurs (Santiani, 2002).

B. Vie aquatique

1) Ponte et développement larvaire

Le mode primitif de reproduction chez les amphibiens consiste à pondre en eau libre des œufs qui donnent naissance à des larves aquatiques. Ces œufs doivent être *a minima* déposés dans des milieux humides pour éviter la dessiccation (Helmer et Whiteside, 2005).

Chez les anoues, le passage par le stade têtard constitue une invention évolutive particulièrement réussie. Les têtards exploitent les ressources abondantes que recèlent les petites étendues d'eau douce, parfois temporaires, où les adultes pondent, constituées d'algues et autres microorganismes, matière organique en décomposition, détritus divers, etc. Une activité permanente de filtration de l'eau conduit les têtards à jouer un rôle très efficace de nettoyeurs et de transformateurs de la matière organique dans les écosystèmes aquatiques. L'utilisation performante de ces ressources, peu exploitées par ailleurs, est peut-être une des clés du succès du mode de vie biphasique de nombreux anoues (ACEMAV *et al.*, 2003).

Ce mode de vie et de développement, incluant une phase larvaire, se rencontre dans quasiment toutes les familles d'amphibiens et dans le monde entier, mais ne répond pas à tous les enjeux. En effet, dans certains cas, le passage obligatoire par un stade larvaire aquatique est un facteur limitant de la présence des amphibiens en raison de la rareté de l'eau, de la prédation par de'autres organismes aquatiques, de risques d'assèchement des points d'eau avant la fin de la métamorphose etc. C'est sans doute la raison pour laquelle il existe beaucoup d'autres modalités de reproduction et de croissance adoptées par divers groupes d'amphibiens.

Les adaptations les plus simples consistent à pondre les œufs en dehors de l'eau libre, soit à terre ou au-dessus de l'eau, soit dans des nids (de feuilles, d'écumes par exemple), soit dans des milieux aquatiques restreints (eau retenue entre les feuilles de plantes comme les broméliacées ou les

pandanus par exemple). Le stade de développement embryonnaire se déroule ainsi à l'abri de certains prédateurs, et ce n'est qu'après éclosion que les larves, capable de nager et de fuir, rejoignent l'eau libre. Œufs ou larves peuvent également être transportés à l'eau après un certain délai par l'un des parents (ACEMAV *et al.*, 2003).

D'autres modifications plus profondes portent sur les rythmes et les modalités du développement embryonnaire.

En allongeant progressivement la phase *in ovo*, certaines espèces se soustraient plus longtemps aux risques de prédation en eau libre ou d'assèchement des milieux aquatiques. L'aboutissement extrême de cette tendance évolutive consiste en la suppression complète du stade larvaire libre et de la métamorphose. C'est dans l'œuf que se déroule la totalité du développement depuis la fécondation jusqu'au stade *imago*. L'embryon développe des branchies dans la capsule de l'œuf et les perd au moment de l'éclosion. Il ne restera plus à celui-ci qu'à subir une phase de croissance et de maturation pour devenir adulte, mais sans changements physiologique, anatomique ou morphologique fondamentaux. Un tel mode de développement est dit « direct ». Il n'est possible que si l'œuf est suffisamment gros et chargé en vitellus pour permettre à l'embryon d'effectuer l'ensemble de sa croissance et sa différenciation sans faire appel à une alimentation extérieure : on qualifie ces espèces d'endotrophes (ACEMAV *et al.*, 2003).

- ❖ **Oviparité** : mode de reproduction d'une espèce au cours duquel l'ovule à maturation au sein de la femelle est pondu sous la forme d'un œuf.
- ❖ **Ovoviviparité** (ou viviparité endotrophe) : mode de reproduction dans lequel le développement se déroule jusqu'à un stade avancé, et parfois jusqu'au stade *imago*, dans l'oviducte de la femelle, mais sans qu'il y ait d'échange trophique entre celle-ci et l'embryon.
- ❖ **Viviparité** (viviparité hétérotrophe) : mode de reproduction où le zygote se développe à l'intérieur de l'utérus maternel et dans lequel un échange trophique entre la femelle et le zygote a lieu, et donnant à terme naissance à un individu complètement formé.

Le développement endotrophe peut s'effectuer dans des abris divers où les adultes ont déposé les œufs (sous les pierres ou de la végétation, dans des nids, etc.) mais il peut également s'effectuer au sein d'un des deux adultes.

Le cas le plus classique est la viviparité et l'ovoviviparité. La viviparité vraie est rare mais retrouvée chez les Bufonidés africains du genre *Nimbaphrynoides*. (ACEMAV *et al.*, 2003)

Les femelles *Trachycephalus* déposent une centaine à un millier d'œufs (d'environ 1,6 mm de diamètre chacun) à la surface de l'eau après l'amplexus (technique d'accouplement des anoures, cf. I.4.e). Dans la nature, les trous d'arbre sont souvent tapissés de feuilles mortes et de matières organiques en décomposition (Schiesari *et al.*, 2003).

L'éclosion peut survenir dans les 48h qui suivent à plusieurs mois plus tard. La détermination du sexe par la température ambiante, observée chez les reptiles n'existe pas chez les amphibiens (Vitt et Caldwell, 2013b).

Lors de l'éclosion, des glandes de l'extrémité de la tête des larves produisent des enzymes qui dissolvent les capsules des œufs. La durée du stade larvaire dépend de l'espèce et de la température environnante. Les larves sont soit omnivores, soit se nourrissent d'œufs non fertilisés laissés par la femelle qui retournent périodiquement sur le site de ponte (comme *Oophaga pumilio*) (Helmer et Whiteside, 2005 ; Vitt et Caldwell, 2013b ; Pasmans et Martel, 2019a).

D'après Schiesari *et al.* (2003), l'oophagie constatée serait davantage opportuniste chez *Trachycephalus resinifictrix* plutôt qu'un dépôt périodique d'œufs pour constituer une ressource

alimentaire pour les têtards. La densité des larves peut être très élevée et on peut retrouver jusqu'à 16 têtards/L. La métamorphose n'a pas été documentée chez les têtards dans la nature.

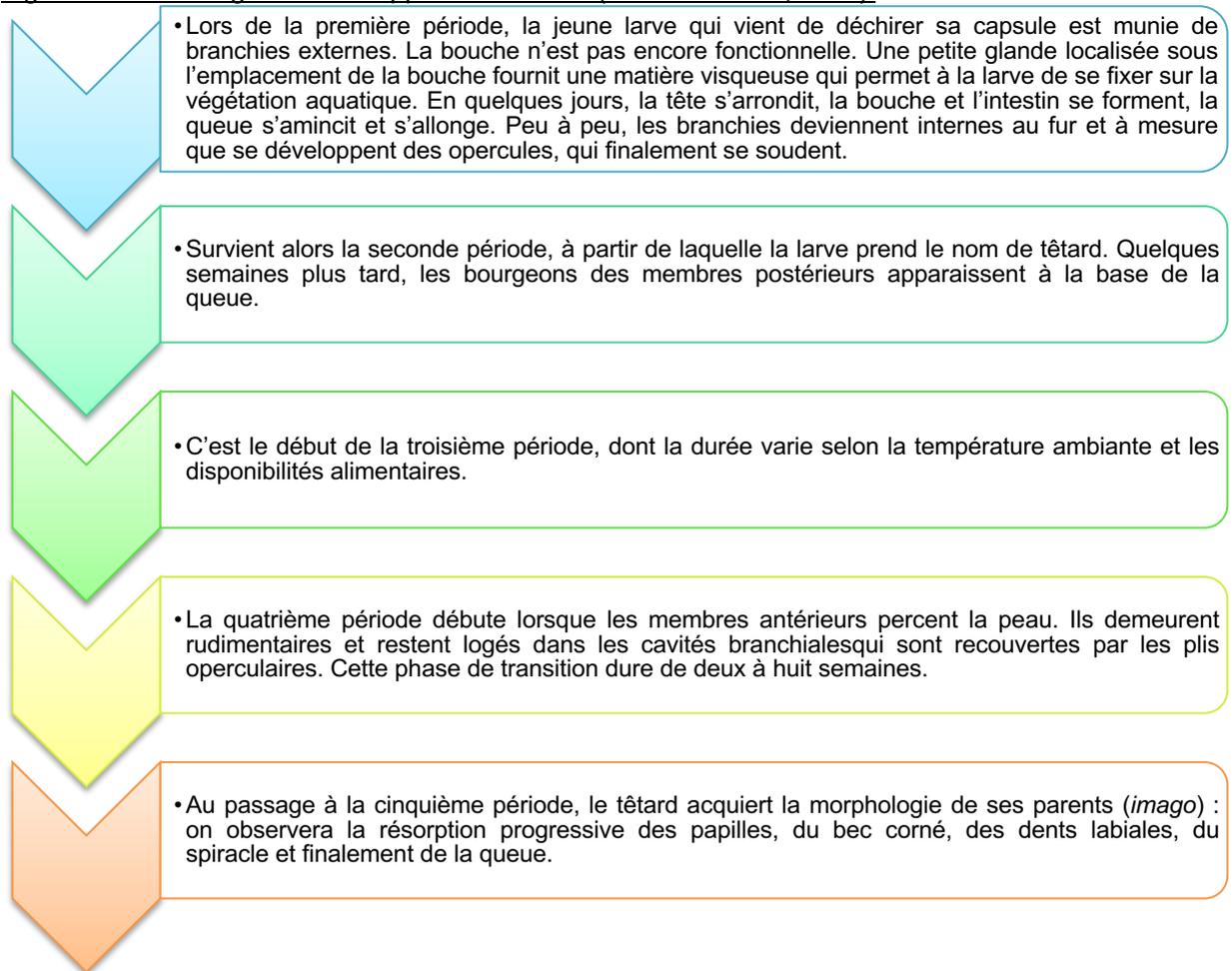
L'aspect de la larve d'anoure, ou têtard, est très différent de la morphologie de l'adulte, avec une tête de taille disproportionnée, l'absence de membres, et la présence d'une longue queue bordée de nageoires (ACEMAV *et al.*, 2003).

2) Stade larvaire

On distingue cinq grandes étapes du développement larvaire de l'éclosion à la métamorphose (Figure 6).

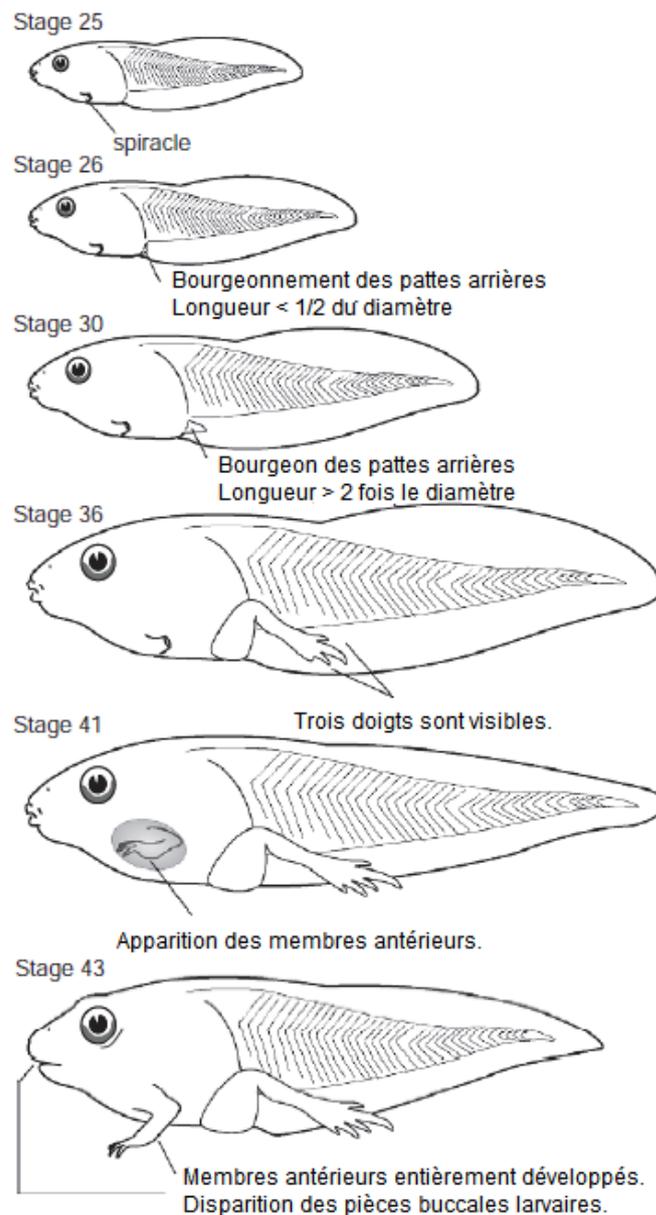
Durant la vie larvaire, la croissance est privilégiée par rapport à la morphogénèse. Les têtards se développent donc beaucoup mais se transforment peu (Figure 7) (ACEMAV *et al.*, 2003 ; Vitt et Caldwell, 2013b).

Figure 6 : Chronologie du développement larvaire (ACEMAV *et al.*, 2003).



La durée de vie larvaire est variable, elle n'est que de 20 jours chez les grenouilles de la famille des Scaphiopodidés mais peut durer des années chez d'autres espèces. Cette durée est généralement espèce-dépendante et fixée génétiquement, mais l'environnement joue également un rôle, en influant notamment sur le contrôle hormonal et donc la métamorphose (Vitt et Caldwell, 2013b). Chez *Trachycephalus resinifictrix*, elle semble être de 45 à 75 jours dans une eau à 23-25°C, bien que certains têtards ne se métamorphosent pas avant 112 jours (Mignet, 2015).

Figure 7 : Développement larvaire d'un anoure (Vitt et Caldwell, 2013a).



Les larves sont capables de régénérer leurs tissus contrairement aux anoures adultes (Helmer et Whiteside, 2005).

Chez les têtards, la face interne des lèvres est garnie de rangées parallèles de dents cornées, appelées dents labiales. Ce sont des replis pointus d'épiderme kératinisé. L'entrée de la bouche est également caractérisée par un bec corné constitué d'un épithélium kératinisé, et composé de deux mandibules en forme de croissant. Le mode alimentaire de la plupart des têtards est microphage (particules en suspension, bactéries, microorganismes planctoniques). Les mouvements respiratoires provoquent un appel d'eau et l'ingestion subséquente des particules alimentaires. Ces dernières sont captées par un appareil filtrant particulier. La microphagie n'exclut toutefois pas l'ingestion épisodique d'aliments plus volumineux, à condition qu'ils puissent être avalés. Ils leur arrivent ainsi de se nourrir d'œufs ou de larves d'amphibiens, vivantes ou mortes, parfois aux dépens de leur propre espèce (ACEMAV *et al.*, 2003).

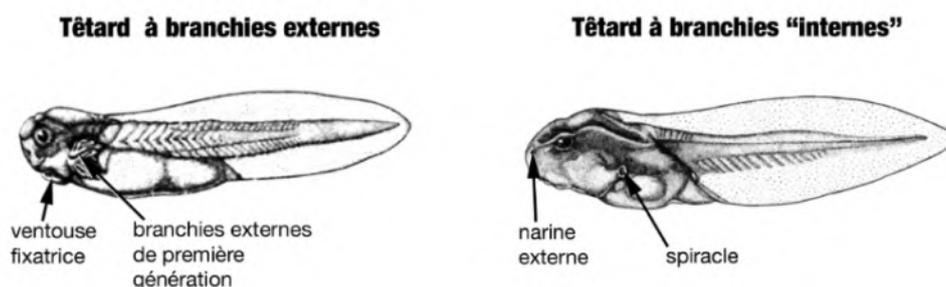
Les larves sont sourdes mais ressentent les vibrations de l'eau grâce au système latéral. Il s'agit d'un système sensoriel constitué d'un ensemble de récepteurs cutanés, les neuromastes, propre aux poissons, larves d'amphibiens et amphibiens adultes des espèces aquatiques. Il renseigne l'animal sur les vibrations de basse fréquence de l'eau et sur les changements de sens subis par les courants. Il permet ainsi la détection à distance des corps en mouvement (ou immobiles) par réflexions des ondes. Chez les anoures, dont *Trachycephalus resinifictrix*, le système latéral disparaît à la métamorphose alors l'individu gagne le milieu terrestre, mais persiste en se modifiant si celle-ci demeure en milieu aquatique (Bombinatoridés, Pipidés) (ACEMAV *et al.*, 2003 ; Helmer et Whiteside, 2005).

La queue est l'organe natatoire qui propulse l'animal par ses ondulations et permet le déplacement de la larve. Elle comprend un axe charnu s'amincissant vers l'arrière, une nageoire molle plus ou moins translucide, insérée dorsalement et ventralement, et pouvant se prolonger sur le corps (ACEMAV *et al.*, 2003).

Les larves respirent d'abord par la peau, puis apparaissent des branchies externes qui se recouvrent ensuite d'un opercule. Les poumons se forment par la suite. À l'approche de la métamorphose, sous sa forme subadulte, la larve d'amphibien dispose de trois échangeurs respiratoires qui interviennent à des degrés divers dans la respiration : les branchies, les poumons et la peau.

Les branchies sont des structures arborisées, libres dans les stades précoces des têtards d'anoures, puis couvertes par la peau dans les stades plus tardifs. Les anoures ont deux générations de branchies. La première est constituée de branchies externes composées de trois paires de structures plumeuses dont chacune est formée d'un axe duquel partent deux séries de digitations latérales, les filaments branchiaux. Ces branchies ont une existence très éphémère au moment de l'éclosion. Elles sont généralement peu développées, ne portant qu'une seule rangée de filaments latéraux courts et, leur nombre est souvent inférieur à trois paires. Peu après l'éclosion, les branchies de première génération régressent et sont recouvertes par un repli cutané mou ou repli operculaire qui se développe vers l'arrière, latéralement et ventralement, et enferme les branchies dans une chambre branchiale. Celle-ci s'ouvre vers l'extérieur par un orifice appelé spiracle. Dans le même temps, les branchies de seconde génération, dites « internes », commencent à se différencier (Figure 8). La taille relative des branchies et des autres surfaces articulaires varie en fonction du dioxygène disponible au sein du milieu (ACEMAV *et al.*, 2003).

Figure 8 : Les branchies du têtard (Anselme, 2019).



Les larves d'une part et les adultes d'espèces aquatiques d'autre part excrètent de l'ammoniaque par les reins, la peau et les branchies lorsque ces dernières sont présentes (Helmer et Whiteside, 2005 ; Pasmans et Martel, 2019a).

Les têtards sont plutôt grégaires. Ils s'agglutinent parfois par milliers et se déplacent de concert, ce qui leur confère sans doute une meilleure protection contre les prédateurs, des capacités accrues pour s'alimenter et de thermorégulation etc. Leur faculté d'agrégation repose sur une reconnaissance des congénères au moyen de substances chimiques sécrétées dans l'eau. Peu après l'éclosion, les jeunes têtards stationnent sur la masse gélatineuse de la ponte, acquièrent leur forme définitive, puis se

dispersent dans le milieu aquatique. Leur distribution spatio-temporelle dépend de facteurs physiques comme la température ou la profondeur aquatiques, et de facteurs biologiques comme la présence et la distribution locales des organismes animaux ou végétaux. Il y a également une ségrégation par la taille, liée aux mouvements de leur queue. Ceci induit une tendance au regroupement des têtards les plus gros dans les zones les plus favorables (eau plus chaude, nourriture plus abondante, etc.) qui accentue les différences de taille entre cohortes en fin de développement (ACEMAV *et al.*, 2003).

Les larves sont consommées par de nombreux prédateurs comme certains insectes aquatiques, des crustacés, des tritons métamorphosés, des oiseaux, des poissons ou des reptiles. La prédation est l'une des causes majeures de mortalité. Son intensité dépend, entre autres facteurs, du comportement des larves, de leur taille, des micro-habitats disponibles et du fait qu'ils soient ou non comestibles pour leurs prédateurs potentiels (ACEMAV *et al.*, 2003).

Chez la plupart des espèces (dont les Hylidés, Bufonidés et Ranidés), on observe une adaptation de la forme des têtards lorsqu'ils vivent dans un milieu où les prédateurs abondent : la hauteur de la membrane de la queue augmente, alors que la taille du corps régresse. Les têtards peuvent répondre aux prédateurs par une plasticité comportementale en réduisant leur activité ou en se réfugiant dans des abris. Elle est maximale chez les espèces qui occupent une grande variété d'habitats. Les réponses morphologiques peuvent avoir deux fonctions : une fonction de leurre et une amélioration de l'efficacité de la natation. L'augmentation de la surface caudale oriente les attaques vers la queue plutôt que vers le corps du têtard, réduisant ainsi leur vulnérabilité. En présence de poissons, la musculature caudale s'hypertrophie et procure une meilleure efficacité natatoire, leur permettant d'échapper plus facilement au prédateur (ACEMAV *et al.*, 2003).

Il arrive que des individus souffrant d'une carence en thyroxine ne parviennent jamais à la métamorphose. Cependant, ils continuent de croître pour former des « larves géantes », assez communes chez les grenouilles vertes ou les tritons. Celles-ci n'acquièrent jamais la maturité sexuelle à la différence des tritons adultes pédomorphiques. Ces larves géantes ne doivent pas être confondues avec des têtards issus de pontes tardives n'ayant pas eu le temps de se métamorphoser avant l'hiver, lesquels peuvent également atteindre de grandes dimensions (Alytidés, Pelobatidés etc.) mais conservent la faculté à se métamorphoser (ACEMAV *et al.*, 2003).

C. Passage de la vie aquatique à la vie terrestre : la métamorphose

Au cours de la métamorphose, la morphologie et l'anatomie de l'animal sont profondément modifiées. Des remaniements tissulaires, associés à des changements métaboliques provoquent la transformation de la larve en juvénile de forme semblable à celle de l'adulte. Cela correspond au stade *imago*, dans lequel l'individu se situe dans un stade intermédiaire entre la larve et l'adulte. Les événements de la métamorphose se réalisent dans un ordre bien précis qui s'avère particulièrement spectaculaire chez les anoues. Le fonctionnement simultané de plusieurs échangeurs respiratoires permet d'éviter une crise respiratoire aiguë au moment de cette transformation radicale, comme pourrait le laisser penser la disparition des branchies. La métamorphose des amphibiens est déclenchée par une augmentation de l'activité de la thyroïde (ACEMAV *et al.*, 2003).

Chez les anoues, les membres pelviens deviennent visibles en premier, suivis des membres thoraciques. La queue est résorbée, les poumons remplacent les branchies, l'intestin spiralé des têtards est modifié pour pouvoir digérer des proies entières tandis que mâchoires, langue et système immunitaire se développent. Les branchies externes disparaissent et les paupières se développent. La métamorphose est un stade critique où la mortalité est élevée par noyade et suite à des infections par des agents infectieux comme celui de la chytridiomycose, dont l'impact catastrophique sur les populations d'amphibiens concerne souvent les individus à ce moment précis de leur développement (Pasmans et Martel, 2019a).

Au paroxysme de la métamorphose, appelé climax, les transformations moléculaires et anatomiques qui affectent les têtards sont particulièrement spectaculaires et rapides, puisqu'elles sont achevées en moins de deux semaines à 20°C. Elles impliquent la disparition, le remodelage et l'apparition d'organes : certains tissus dégèrent tandis que d'autres se développent (Annexe 1). Au cours du processus, les animaux perdent du poids, parfois de façon très importante (ACEMAV *et al.*, 2003).

Le stade imago correspond au petit amphibien dans la période séparant la fin de la métamorphose du premier hivernage. Craignant la sécheresse, il se blottit sous des pierres, dans des trous ou des crevasses, au voisinage de l'eau où il a passé sa vie larvaire, attendant que la pluie lui permette de se disperser.

L'imago occupe souvent des milieux différents de ceux qui sont fréquentés par les adultes. Ceci contribue à sa protection vis-à-vis des prédateurs, parmi lesquels figurent ses aînés. À la différence des larves et de l'adulte, l'imago n'a pas de rythme circadien bien défini. Ce stade est une période critique qui détermine fortement les probabilités de survie future et le succès de reproduction de l'individu. Le risque de mortalité est élevé et la croissance corporelle extrêmement rapide. Par exemple, la masse corporelle d'un imago de crapaud commun (*Bufo bufo*) décuple en quelques jours (ACEMAV *et al.*, 2003).

La néoténie, observée chez les urodèles, n'existe pas chez les anoures.

D. Vie terrestre

1) Stade juvénile



Figure 9 : Juvénile *Trachycephalus resinifictrix* (Lima *et al.*, 2005).

Le stade juvénile (Figure 9) correspond au stade suivant celui d'imago et désigne un individu métamorphosé mais non mature sexuellement. Il correspond à un stade écologique bien distinct de l'adulte car ces individus possèdent souvent un comportement qui leur est propre. Ils ont ainsi tendance à demeurer grégaires, comme lors des stades larvaires, et à rester durant plusieurs jours à semaines au bord du plan d'eau dont ils sont sortis. Ce ne sera qu'au cours de leur croissance et de leur maturation qu'ils commenceront à migrer et à devenir plus solitaires, à l'instar des adultes de leur espèce, modifiant par la même occasion leur rôle dans la population et dans l'écosystème. Des modes de vie radicalement opposés entre juvéniles et adultes peuvent exister à savoir des adultes nocturnes mais dont les juvéniles de l'espèce manifestent une activité diurne (Dubois, 1978).

2) Stade adulte



Figure 10 : Adulte de *Trachycephalus resinifictrix* (photo personnelle, Vivarium – Ménagerie du Jardin des Plantes, 2020)

Chez les anoures métamorphosés (Figure 10), la bouche s'est élargie et des mâchoires plus fortes, munies de véritables dents, sont apparues. Une langue, parfois préhensile, s'est développée. Enfin de nouvelles structures digestives (glandes gastriques, épithélium intestinal ...) se sont mises en place. Ces diverses transformations accompagnent un changement de régime alimentaire : l'animal cesse d'être microphage, herbivore ou détritivore pour devenir insectivore ou carnivore. (ACEMAV *et al.*, 2003).

La plupart des espèces se disperse en milieu terrestre puis se sédentarise plus ou moins. L'adulte exploite assez régulièrement un espace relativement restreint, de quelques dizaines à quelques centaines de mètres carrés – le domaine vital – pour ses activités habituelles d'alimentation et ses déplacements quotidiens. Selon les espèces, ce domaine vital peut recouvrir celui de ses congénères ou en être distinct (ce qui peut être alors la conséquence d'un comportement territorial). Plus généralement, l'unité fonctionnelle écologique de l'adulte inclut, en plus du domaine vital, l'ensemble des zones fréquentées au cours de la vie de l'individu : vie larvaire, hivernage, migrations, recherche de partenaires sexuels, reproduction (ACEMAV *et al.*, 2003).

Les amphibiens métamorphosés passent la majeure partie de leur vie au repos. Les conditions d'activité optimales sont réunies de nuit ou au crépuscule, par temps humide et chaud, de préférence en l'absence de vent. Les chances de survie de l'animal adulte dépendent fortement des précipitations, qui facilitent la recherche alimentaire et empêchent sa déshydratation (ACEMAV *et al.*, 2003).

a) Système musculo-squelettique et locomotion

Nous nous limiterons aux particularités anatomiques des anoures (Figure 11).

La boîte crânienne se réduit à un tube médian mais le squelette céphalique est particulièrement élargi (en « piège à loup »), les arcs de la mâchoire supérieure délimitant de vastes orbites sans plancher. Les dents sont pédicellées sur la mâchoire supérieure des anoures mais absentes sur leur mandibule.

Il y a quatre paires d'arcs squelettiques branchiaux chez les larves qui fusionnent chez l'adulte en un cartilage hyobranchial (Clément, 2005).

Les vertèbres sont fusionnées et la colonne vertébrale se divise en régions pré-sacrée, sacrée et post-sacrée. Les anoures possèdent dix vertèbres :

- une vertèbre cervicale unique, l'atlas ;
- sept vertèbres dorsales à fortes apophyses transverses ;
- une vertèbre sacrée : le sacrum n'est pas présent et la ceinture pelvienne est fusionnée dorsalement à la colonne vertébrale sur cette unique vertèbre spécialisée (caractéristique anatomique décisif pour la vie terrestre).
- une vertèbre caudale, l'urostyle.

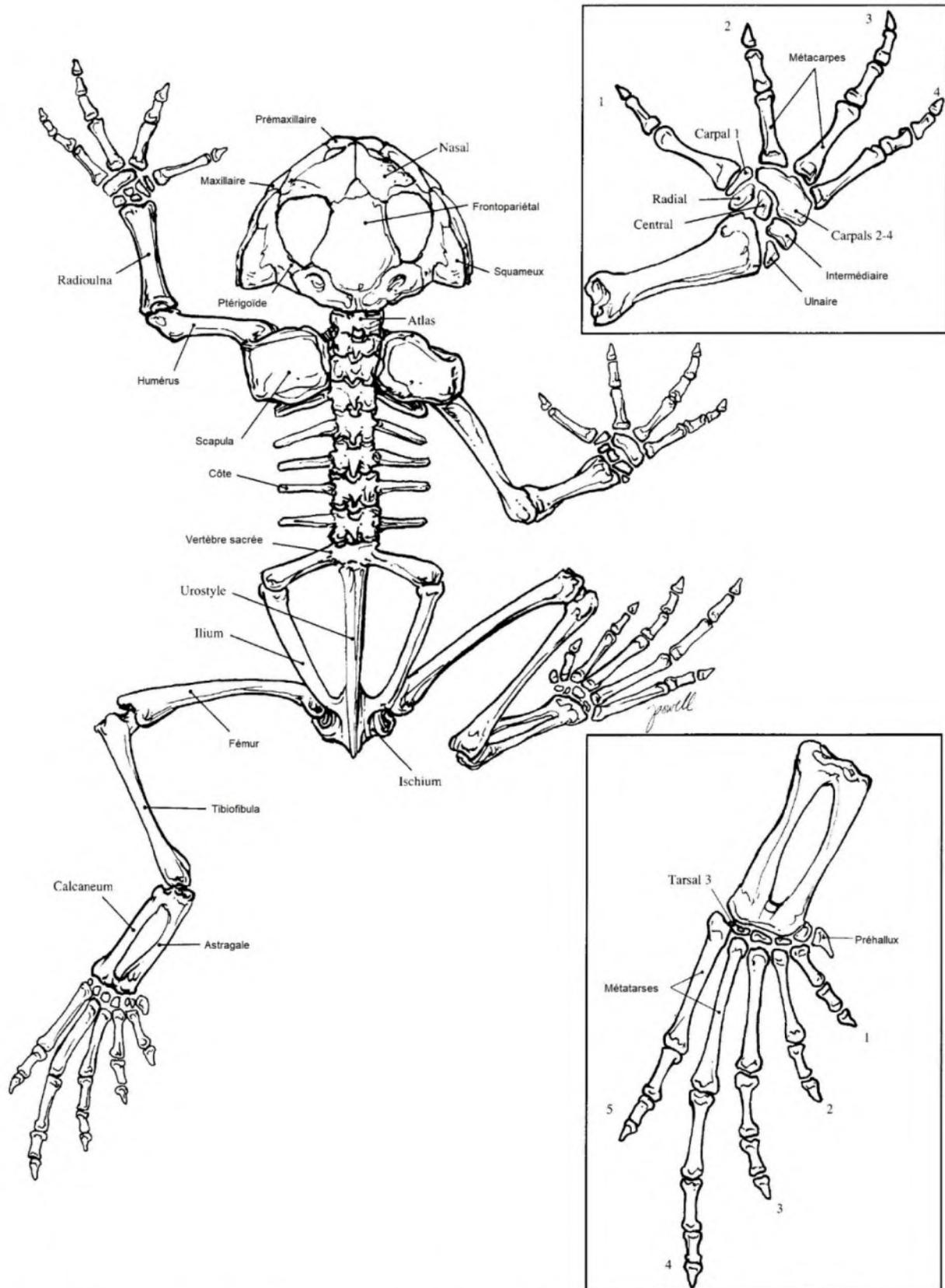
Les os des membres sont creux et légers mais totalement ossifiés (Pasmans et Martel, 2019a).

Le membre a un plan "chiridien", comprenant trois segments : le stylopede (humérus pour le membre antérieur et fémur pour le membre postérieur), le zeugopode (radius et ulna fusionnés en un os unique pour le membre antérieur, tibia et fibula fusionnés en un os unique pour le membre postérieur) et l'autopode (petits os carpiens pour la main et tarsiens pour le pied, métacarpiens et métatarsiens, et les phalanges pour les doigts et les orteils). Il y a généralement quatre doigts au niveau des antérieurs et cinq au niveau des postérieurs.

La ceinture pectorale a perdu toute relation avec le squelette céphalique et s'attache par des muscles à la colonne vertébrale. La disposition des ceintures chez les anoures présente des particularités supplémentaires. Ces derniers possèdent ainsi deux petits os dermiques supplémentaires que sont la clavicule et le cleithrum. De plus, la scapula et le coracoïde sont complètement ossifiées sur la ceinture pectorale (Helmer et Whiteside, 2005 ; Clément, 2005).

Au niveau de la ceinture pelvienne, l'ilium est attaché à la colonne par une paire de côtes sacrées, et les vertèbres caudales sont fusionnée pour ne constituer qu'une structure osseuse unique appelé urostyle (Pasmans et Martel, 2019a).

Figure 11 : Squelette d'un anoure typique, (Wright, 2001a, modifié).



Chez les anoures, l'adaptation au saut est permise par une croissance spectaculaire des membres postérieurs. Les membres antérieurs, généralement courts, sont utilisés pour la réception du corps au sol. L'adaptation au saut est favorisée par une déformation de la ceinture pelvienne. L'allongement de l'ilion qui pivote vers l'arrière, autour de la vertèbre sacrée, lui permet de devenir presque parallèle à l'axe de la colonne vertébrale. L'acétabulum se trouve ainsi reporté loin en arrière de l'insertion sacrée. Le corps ramassé, associé à une colonne vertébrale relativement courte (le nombre de vertèbres, en général de 12 chez le têtard, se réduit à 9 ou 10 chez l'animal métamorphosé), facilite aussi le saut. Le tibia et la fibula sont soudés pour ne former qu'un os, tandis que le tarse est allongé afin de former un angle supplémentaire d'appui (disposition en Z ou en ressort) dans un plan parasagittal. Au moment de sauter, la grenouille donne une impulsion avec ses membres postérieurs, puis replie ses membres antérieurs le long du corps, enfin, tend les pattes antérieures vers l'avant à la réception du saut. Les yeux sont clos durant toute la durée du saut, lequel est moins importants chez les crapauds. Ces derniers marchent davantage en s'appuyant sur les extrémités de leurs membres (Mouret, 2001 ; ACEMAV *et al.*, 2003 ; Clément, 2005).

La capacité des grenouilles à sauter est critique dans la fuite des prédateurs terrestres. La distance de fuite est fonction celle franchie en un saut et du nombre de sauts consécutifs. À titre d'exemple, *Lithobates clamitans* (mesurant 60 mm pour le mâle) peut parcourir plus de 100 cm en un seul saut. Cette distance dépend également de la température. Les bonds seront plus courts quand il fait plus froid (< 10°C) que ceux effectués entre 10 et 25°C. Ainsi, les grenouilles seront plus à même de s'échapper lorsqu'elles se trouvent dans leur intervalle préférentiel de températures. La plupart d'entre elles bondissent à l'approche des prédateurs mais le type de fuite diffère selon les espèces. Celles vivant près des cours d'eau se réfugient dans l'eau ou dans la boue. Les espèces terrestres comme les *Dendrobatides* réalisent une série de bonds pour se soustraire des prédateurs tandis que les espèces arboricoles comme les *Trachycephalus* bondissent sur d'autres perchoirs pour échapper aux prédateurs incapables de sauter (Vitt et Caldwell, 2013e).

Les grenouilles nagent en dépliant rapidement les membres postérieurs vers l'arrière puis en les ramenant le long du corps, souvent simultanément, parfois par des mouvements alternatifs. Pendant ce temps, les membres antérieurs sont peu actifs ou repliés le long du corps (Mouret, 2001 ; ACEMAV *et al.*, 2003 ; Clément, 2005).

L'animal métamorphosé recherche ses proies en les pourchassant activement ou en stationnant à l'affût, et les capture avec sa langue ou ses mâchoires. En général, il détecte visuellement les proies en mouvement. L'olfaction a souvent un rôle secondaire, mais elle permet de s'alimenter dans l'obscurité ou d'avoir accès à des aliments immobiles comme des animaux morts ou des œufs d'amphibiens. La capture d'une proie est innée. Chez une grenouille, on observe les phases de comportement suivantes : attaque (avancement de la tête), ouverture de la gueule, projection de la langue puis fermeture de la gueule. Les proies sont en général avalées sans mastication. Les plus grosses sont saisies dans la gueule et avalées par étape, le gobage étant assisté par les pattes antérieures. Le spectre alimentaire des anoures est très large : principalement des invertébrés mais aussi, de façon plus occasionnelle, de petits vertébrés (poissons, petits mammifères, petits oiseaux, d'autres amphibiens et reptiles) (ACEMAV *et al.*, 2003).

La durée de vie et l'âge à la maturité sexuelle n'ont pas été rapportés dans la nature. La durée de vie maximale en captivité est également inconnue mais certains individus peuvent vivre jusqu'à six à huit ans. La maturité sexuelle des individus *Trachycephalus resinifictrix* captifs peut être atteinte en un an et huit mois (Tapley et Bradfield, 2008).

b) Système nerveux

Comme chez tous les vertébrés, il se compose d'un système nerveux central et périphérique. Le cerveau est plus évolué que celui d'un poisson mais possède une capacité d'intégration plus modeste comparée à celle d'un oiseau ou d'un mammifère. La moelle allongée contrôle la majorité des activités

du corps tandis que le cervelet régit l'équilibre mais pas la coordination motrice fine contrairement aux autres classes de tétrapodes plus développés. Elle régule certaines fonctions organiques comme la fréquence cardiaque et la respiration. La glande pinéale est impliquée dans l'hibernation et l'estivation chez les amphibiens. Les zones les plus développées du cerveau concernent les fonctions de base à savoir la vision, l'ouïe et l'olfaction (Helmer et Whiteside, 2005 ; Pasmans et Martel, 2019a).

Comme chez les autres vertébrés, la moelle épinière s'élargit au niveau des régions cervicales caudales et lombaires, associées aux mouvements des membres, ainsi les plexus brachial et inguinal sont particulièrement développés chez les amphibiens possédant des membres bien puissants (Helmer et Whiteside, 2005).

c) Appareil respiratoire

i. Respiration et échanges gazeux

En fonction des espèces et du stade de vie, les amphibiens respirent à travers leur peau, les membranes muqueuses (notamment au niveau de la cavité buccopharyngée), les branchies et/ou les poumons dans des proportions variables. La respiration cutanée (échanges gazeux à travers le derme richement vascularisé) joue un rôle majeur chez toutes les espèces mais est essentielle chez celles qui sont aquatiques. La plupart des amphibiens terrestres respirent à travers les narines tandis que les aquatiques respirent plutôt à travers la bouche (Pasmans et Martel, 2019a).

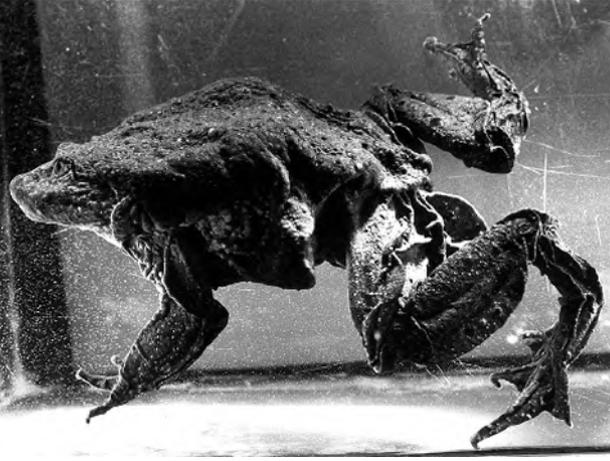
Les poumons sont présents chez la majorité des amphibiens métamorphosés (sauf les salamandres) et sont des structures sacculaires relativement simples, à parois fines et dotées de villosités augmentant la surface des échanges gazeux. À l'exception des Bufonidés chez qui les poumons apparaissent à la métamorphose, les poumons commencent à fonctionner très tôt chez la majorité des larves d'amphibiens, mais leur contribution à la respiration reste faible (ACEMAV *et al.*, 2003).

Chez les grenouilles, la peau joue un rôle respiratoire prédominant, les branchies n'intervenant que secondairement et les poumons tout à fait accessoirement. En effet, la respiration cutanée contribue à hauteur de 20 % en moyenne de l'incorporation du dioxygène et à près de 80 % de l'excrétion de CO₂ (Mouret, 2001 ; Santiani, 2002 ; ACEMAV *et al.*, 2003 ; Pasmans et Martel, 2019a).

Les amphibiens ne possèdent pas de diaphragme donc ils dépendent de la coordination des mouvements de leurs muscles axiaux et appendiculaires pour assurer les échanges pulmonaires. L'air est forcé vers les poumons par un mécanisme de pompe forcée au plancher de la cavité buccale. Les sacs pulmonaires sont gonflés par les mouvements de la gorge, et jouent aussi un rôle dans la flottaison des amphibiens et le chant des anoures (Mouret, 2001 ; Helmer et Whiteside, 2005).

Les échanges gazeux buccopharyngés se réalisent grâce à l'action de pompe du larynx lors de l'inspiration et de l'expiration. Chez les espèces qui restent submergées durant de longues périodes, les échanges gazeux par cette voie peuvent être importantes. Toutefois, lorsque la disponibilité en dioxygène est plus faible (comme durant l'hibernation), les amphibiens basculent vers une respiration cutanée. Étant moins efficace que la précédente, de nombreux amphibiens ont développé des structures tégumentaires spécialisées (Figure 12) comme les plis latéraux et des sillons costaux (retrouvés chez les urodèles) ou encore des projections cutanées, richement vascularisées, semblables à des poils comme retrouvées chez *Trichobatrachus* (Helmer et Whiteside, 2005 ; Vitt et Caldwell, 2013d).

Figure 12 : Exemples de structures tégumentaires spécialisées chez les amphibiens (Vitt et Caldwell, 2013d ; Vitt et Caldwell, 2013f).

<p>Le ménopome (<i>Cryptobranchus alleganiensis</i>) possède de larges sillons cutanés costaux ainsi qu'une peau ridée qui lui assurent une respiration quasi-exclusivement cutanée, compensant l'absence de branchies et la présence de poumons vestigiaux et non fonctionnels.</p>	
<p>La grenouille du lac Titicaca (<i>Telmatobius coleus</i>) ne remonte pas à la surface pour respirer. Les larges replis cutanés qu'elle possède augmentent la surface d'échange et facilitent ainsi la respiration cutanée.</p>	

ii. Respiration et métabolisme

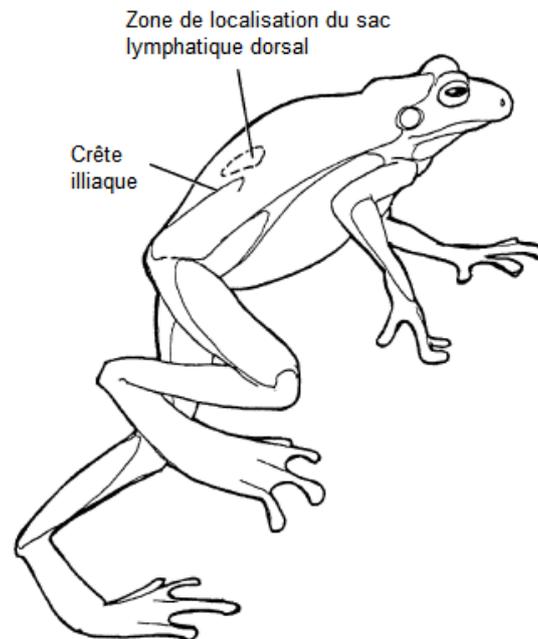
Les échanges gazeux sont indispensables au métabolisme. Ils procurent le dioxygène nécessaire à la respiration cellulaire et à la production d'énergie. La taille de l'animal et la température influencent les échanges gazeux. Plus la masse augmente, plus les échanges en dioxygène et en dioxyde de carbone augmentent, bien que le taux de consommation relativement diminue avec l'accroissement de la masse corporelle. L'intensité du métabolisme aérobique est fonction de la température et la consommation de dioxygène augmente par un facteur deux à trois par tranche supplémentaire de 10°C. La relation entre la température et le métabolisme est linéaire chez les anoures, qui sont ectothermes. Certaines espèces présentent un taux métabolique basal fluctuant avec le nyctémère ou les saisons, indiquant un rythme endogène. On note également des adaptations respiratoires spécifiques comme une diminution de la taille des érythrocytes chez les amphibiens vivant en altitude (Vitt et Caldwell, 2013d).

d) Appareil cardiovasculaire

Il est composé d'un système artériel et veineux, ainsi que de structures lymphatiques très développées. Si les larves d'amphibiens possèdent un cœur à deux cavités, les amphibiens métamorphosés ont un cœur composé d'un ventricule et deux *atria*. Le *septum* interatrial est complet chez les anoures. Les systèmes portes rénal et hépatique sont présents, les veines des membres postérieurs et de la queue se rejoignent pour former les veines de Jacobson. Des variations anatomiques interspécifiques se traduisent par une variabilité relative des mélanges des sangs oxygéné et non hématosé. Le sang provenant de la moitié caudale des amphibiens passe par les reins avant d'arriver dans la veine cave inférieure. Chez les anoures, l'espace sous-cutané est majoritairement occupé par un important système de sacs lymphatiques qui confèrent la possibilité d'administrer des médicaments par voie

intravasculaire (Figure 13). La lymphe des amphibiens est constituée de tous les composants du sang à l'exception des érythrocytes. Le système lymphatique comporte des cœurs lymphatiques (ou sacs lymphatiques) qui battent indépendamment du cœur à un rythme de 50-60 bpm. Ces structures permettent une circulation unidirectionnelle de la lymphe vers le cœur (Helmer et Whiteside, 2005 ; Pasmans et Martel., 2019a).

Figure 13 : Localisation d'un sac lymphatique dorsal chez un anoure (Whitaker et Wright, 2019).



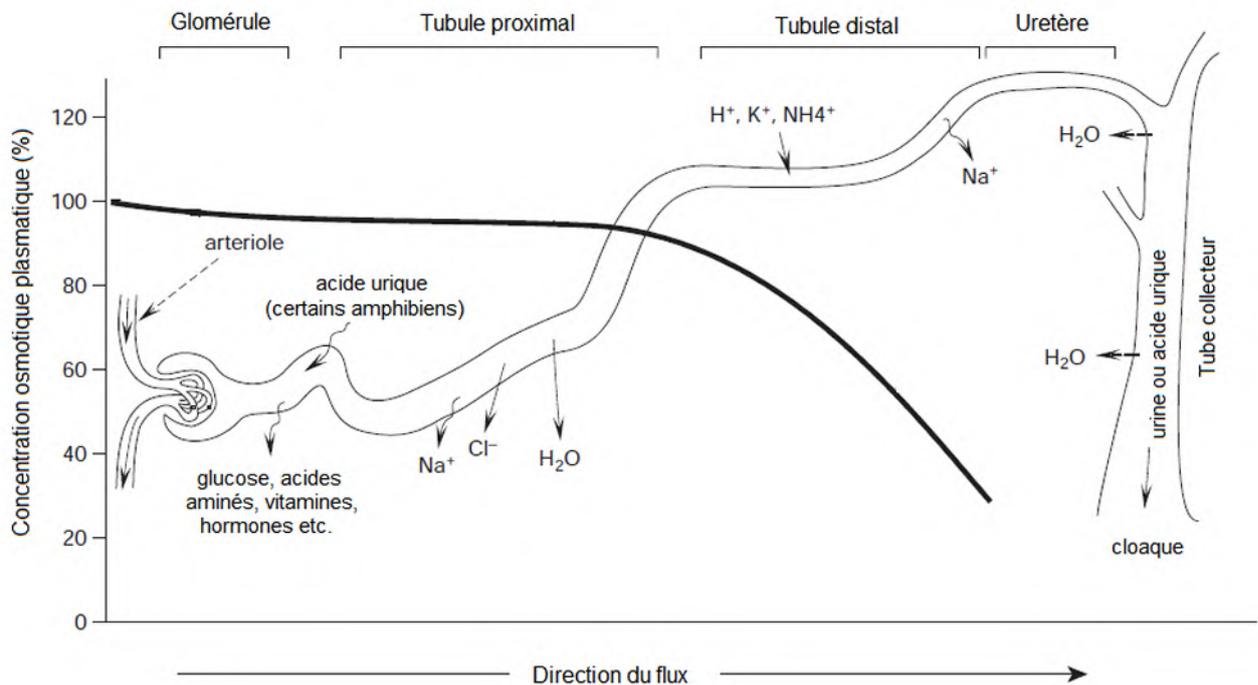
e) Régulation de la balance hydro-électrolytique et maintien de l'homéostasie

i. Appareil urinaire

L'osmorégulation présente différents enjeux selon le milieu de vie d'un organisme. De nombreux organes sont impliqués dans cette fonction dont la peau, les branchies, le tube digestif, les reins et la vessie. Dans l'eau douce, les amphibiens sont « hyperosmotiques » : la concentration ionique du corps est supérieure à celle de l'environnement, et sans régulation, l'eau rentrerait dans les cellules. L'hydratation excessive qui en résulterait peut être évitée par différents moyen : la perméabilité de la peau aux échanges peut être réduite ou la diurèse accrue, tout en épargnant les ions. Pour les espèces terrestres, le risque est la déshydratation par évaporation (Vitt et Caldwell, 2013d).

Le rein joue un rôle majeur dans l'osmorégulation (Figure 14). Les amphibiens possèdent des reins avec des néphrons mésonéphriques, localisés dorsocaudalement au cœlome, qui sont incapables de concentrer les urines à une concentration supérieure à celle du plasma. La vessie correspond à une excroissance ventrale du cloaque. L'urine passe des tubules rénaux au tube collecteur, puis dans le cloaque, et se rend dans la vessie. Celle-ci n'est donc jamais stérile. Les amphibiens excrètent une grande variété de déchets azotés selon l'habitat qu'ils occupent et les contraintes inhérentes à la conservation de l'eau. Les espèces terrestres convertissent l'ammoniaque en urée, non toxique, dans le foie. Ce produit final peut être stocké dans la vessie et excrété lorsque de l'eau est présente. Certaines espèces arboricoles excrètent aussi de l'acide urique, qui permet d'évacuer moins d'eau. Certaines espèces arboricoles, comme *Phyllomedusa saubagii*, excrètent également de l'acide urique. *Xenopus laevis*, peut convertir sa production d'ammoniaque en production d'urée en fonction de la disponibilité de l'eau dans l'environnement (Helmer et Whiteside, 2005 ; Pasmans et Martel, 2019a).

Figure 14 : Représentation schématique du fonctionnement rénal chez les amphibiens (Vitt et Caldwell, 2013d).



L'eau et le sodium peuvent encore être réabsorbés au niveau du tube distal. Chez les amphibiens, en raison du fort débit de filtration glomérulaire, environ la moitié de l'ultrafiltrat passe dans la vessie bien que plus de 99 % des ions filtrés sont réabsorbés. Ainsi, l'urine produite par les amphibiens est diluée, à l'exception de quelques espèces comme les *Phyllomedusa* qui sont uricotéliques. L'urine passe ensuite au niveau du tube collecteur vers le cloaque, puis vers la vessie ou le gros intestin (Vitt et Caldwell, 2013d).

Le corps d'un amphibien est composé d'environ 70 à 80 % d'eau. Le sodium, le magnésium, le calcium, le potassium et le chlore sont des ions indispensables aux fonctions physiologiques. Les amphibiens vivent dans des environnements très variés représentant chacun des défis particuliers en termes de maintien de la balance osmotique. Pour qu'un organisme fonctionne correctement, la concentration ionique des fluides intra et extra-cellulaires doivent rester au dans des intervalles de valeurs spécifiques, et les déchets du métabolisme excrétés. La plupart des amphibiens maintiennent une homéostasie mais certains peuvent tolérer des concentrations plasmatiques en solutés élevées sur une longue période. L'eau est en mesure de sortir et de rentrer dans le corps de différentes façons. La peau des amphibiens est hautement perméable, le maintien de la balance hydrique représente donc un enjeu physiologique majeur, et l'évaporation de l'eau un des mécanismes les plus importants de thermorégulation. La peau est également impliquée dans la respiration et doit être maintenue humide afin de permettre les échanges gazeux. Les espèces et formes aquatiques doivent éviter une surhydratation alors que les espèces terrestres ou arboricoles doivent faire face au risque de déshydratation. Cette perte d'eau rapide par évaporation limite ainsi le temps d'activité des espèces terrestres. Les amphibiens ont développé de nombreux mécanismes physiologiques et adaptations comportementales afin de faire face à ces transferts intempestifs d'eau, leur permettant de maintenir au mieux la balance osmotique. La température influe sur de nombreuses fonctions chez les amphibiens, dont le métabolisme, la locomotion, la digestion, la vitesse de développement, mais aussi le taux de vocalisations, en lien étroit avec l'équilibre hydrique. Les amphibiens absorbent de l'eau par la peau, par l'alimentation et en génèrent par le métabolisme des aliments. Ils ne boivent pas d'eau. L'évaporation peut représenter une perte hydrique significative chez les amphibiens terrestres voire semi-aquatiques. La respiration et l'excrétion constituent aussi des voies de pertes d'eau. Chez les amphibiens aquatiques, l'eau est continuellement absorbée par voie cutanée et l'excrétion d'urine diluée permet le maintien de l'équilibre

osmotique. Au contraire, les espèces terrestres se déshydratent plus rapidement et leur production d'urine est réduite afin d'épargner l'eau. La vessie joue un rôle dans l'osmorégulation et est également un organe de stockage. Les grenouilles terrestres peuvent ainsi garder près de 20 à 50 % de leur poids corporel en eau dans la vessie alors que des espèces aquatiques comme *Xenopus* possèdent de petites vessies ne pouvant contenir que 1 à 5 % de leur poids corporel en eau. De nombreuses espèces de grenouilles sont capables de réabsorber l'eau de leur vessie afin de rééquilibrer leur concentration plasmatique en soluté. Cette réserve est indispensable afin de garantir leur survie lorsqu'ils se trouvent dans un environnement dans lequel elles se déshydratent (Vitt et Caldwell, 2013d).

L'arginine vasotocine, hormone antidiurétique des amphibiens, agit au niveau de la peau, des reins et de la vessie, et permet aux espèces terrestres de préserver l'eau corporelle. En cas de déshydratation, le taux de production de l'urine diluée diminue et l'eau qu'elle contient est réabsorbée au niveau de la vessie. Cette hormone augmente la perméabilité de la peau et de la vessie afin que la réhydratation de l'animal puisse se faire plus rapidement. Le contrôle hormonal de l'absorption hydrique cutanée semble être similaire à celui régulant la prise de boisson chez les autres tétrapodes (Vitt et Caldwell, 2013d).

Comme nous l'avons vu précédemment, les larves sont des organismes hyper-osmotiques dans leur environnement aquatique tandis que la forme adulte post-métamorphose est hypo-osmotique dans son biotope terrestre. Les enjeux sont alors inversés et mettent en jeu des solutions comportementales, morphologiques et physiologiques distinctes. C'est ce changement de mode de vie qui distingue fondamentalement les amphibiens des autres vertébrés et sous-tend la transition entre vies aquatique et terrestre ayant permis la diversification des tétrapodes terrestres. Lors de la métamorphose, les organes impliqués dans l'osmorégulation subissent des modifications morphologiques et physiologiques majeures. La peau des larves est moins complexe que celle des adultes et les branchies sont remplacées par les poumons dans de nombreuses espèces. Les larves d'anoures sont incapables de réguler les échanges ioniques au niveau de la peau par transport actif contrairement aux adultes en raison d'un déficit en enzymes adaptées. Cette fonction est assurée les branchies chez les larves d'anoures (Vitt et Caldwell, 2013d).

ii. Système tégumentaire

Se référer à la partie II.

iii. Particularités comportementales et thermorégulation

Les amphibiens sont ectothermes et ont développé au cours de l'évolution un ensemble d'adaptations comportementales et physiologiques leur permettant dans une certaine mesure de contrôler leur température corporelle. La plus évidente correspond à la locomotion qui permet aux individus de rechercher activement, ou au contraire de s'éloigner, des sources de chaleur. On parlera alors de régulation thermique comportementale.

Les températures ambiantes élevées accélèrent les pertes hydriques, c'est pourquoi lorsqu'il ne leur est pas possible de bénéficier à la fois de conditions de températures et d'hygrométrie élevées, la plupart des amphibiens privilégieront l'humidité relative par rapport à la température. Ainsi, grâce aux adaptations comportementales, la température corporelle des amphibiens peut rester relativement stable sans qu'il y ait pour autant de température optimale pour les batraciens. Par contre, ils ont besoin de disposer d'un gradient de températures dans leur environnement immédiat leur permettant de réguler leur température corporelle grâce à leur comportement. L'impossibilité de satisfaire la thermorégulation comportementale peut entraîner un stress voire la mort et, avant cela constituer un signe de maladie. Comme ils sont ectothermes, les amphibiens ont un métabolisme énergétique assez bas et une assimilation des nutriments plus efficace en comparaison aux oiseaux et aux mammifères (environ 40 à 80 % de l'énergie obtenue par l'alimentation est assimilée par l'organisme). Leurs besoins métaboliques plus faibles leur permettent de se nourrir de proies plus petites et moins énergétiques, de s'alimenter moins fréquemment ou plus rapidement, notamment lorsque les conditions ne sont pas

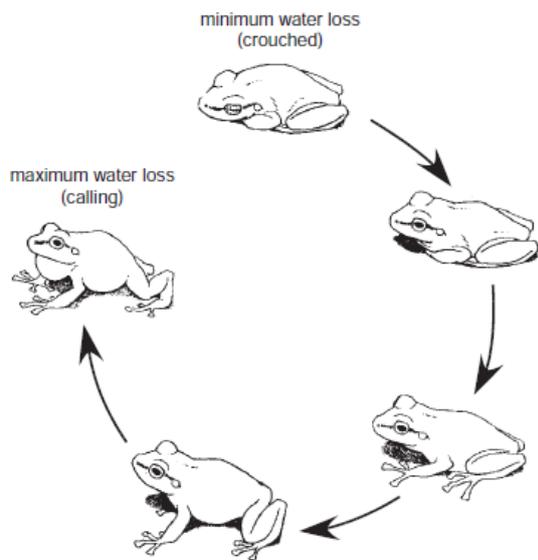
favorables. Une des conséquences de l'ectothermie est une production énergétique aérobie limitée et un recours accru au métabolisme anaérobie pour maintenir une activité soutenue. Les amphibiens, comme les reptiles, vont alors s'épuiser rapidement et peuvent avoir besoin de plusieurs heures pour récupérer après quelques minutes d'activités intenses seulement. Ainsi, la plupart des amphibiens manifestent souvent de courtes périodes d'activité succédant à de très longues périodes d'inactivité. En phase de repos, ils vont se réfugier dans des zones plus fraîches, leur température corporelle va descendre pour se rapprocher de la température ambiante, ce qui réduit la demande énergétique et augmente l'efficacité métabolique. La différence de taille entre juvéniles et adultes influence également le comportement. Par exemple, les crapauds qui sont très petits après la métamorphose vont rester diurnes jusqu'à atteindre une taille suffisante avant d'opter pour un mode de vie nocturne (Vitt et Caldwell, 2013e ; Pasmans et Martel., 2019a).

La majorité des amphibiens sont nocturnes, et sont alors moins exposés aux rayons du soleil que les espèces diurnes.

De nombreuses adaptations comportementales sont observées chez les amphibiens terrestres afin de limiter la perte hydrique. Ces amphibiens absorbent de l'eau en se baignant ou en l'extrayant de substrats humides. Par l'intermédiaire d'hormones et de tissus spécialisés, les amphibiens sont capables d'absorber l'eau à partir de sols parfois très secs (tension inférieure à 2 atm) mais l'absorption hydrique en provenance du substrat est bien plus longue que celle de l'eau en suspension. La plupart des espèces ajustent leur activité journalière et saisonnière afin de limiter la perte hydrique, en concentrant leur activité lors des périodes fraîches de la journée ou les jours de pluie, mais aussi en choisissant des micro-habitats adéquats comme des endroits frais, humides et à l'abri des courants d'air lorsqu'ils sont inactifs (Durso et Maerz, 2019).

Les anoues déshydratés ou au repos vont adopter des postures particulières permettant de limiter la perte hydrique. Celles-ci sont caractérisées par les membres croisés sous le corps, le ventre appuyé sur le substrat, la tête ramenée près du corps et les yeux fermés. Cela permet de réduire la surface exposée et de protéger les tissus sensibles à l'évaporation. L'immobilité permet également d'établir un « front humide » au sein duquel l'eau initialement perdue par l'animal au profit du substrat plus sec va former un gradient local d'eau. Une fois celui-ci constitué, l'ensemble du système se trouve à l'équilibre et permettra à l'animal de ne pas perdre davantage d'eau s'il demeure immobile (Figure 15). De nombreuses espèces vont rechercher des supports humides contre lesquels ils pourront absorber de l'eau. Ils adoptent alors une posture particulière caractérisée par des membres écartés du corps et les surfaces ventrales maintenues contre le substrat. Si ce dernier contient de l'eau renouvelable, la grenouille maintiendra cette position, au contraire, si le substrat n'est pas poreux, elle ajustera continuellement sa position afin de poursuivre l'absorption hydrique. Enfin, lorsque certaines espèces sont amenées à faire face à des conditions environnementales particulièrement défavorables, elles sont capables de s'enterrer profondément dans l'attente d'un retour à des conditions plus favorables (Vitt et Caldwell, 2013d ; Durso et Maerz, 2019).

Figure 15 : Posture d'épargne hydrique chez les anoures (Vitt et Caldwell, 2013d).



Eleutherodactylus coqui utilise différentes postures afin de réguler la perte hydrique. La posture avec la tête basse et les pattes sous le corps permet de limiter la perte hydrique. Celle-ci est maximale lors des chants des mâles car cela est associée à une exposition longue et plus importante des surfaces cutanées par rapport à la position de repos.

Lors de la reproduction, l'impact de la déshydratation en phase de chants n'est pas négligeable car la perte hydrique affecte négativement le métabolisme et donc la performance reproductive (Vitt et Caldwell, 2013d).

iv. Appareil digestif

La plupart des espèces ne possèdent pas de régime alimentaire spécifique. Les anoures sont particulièrement voraces et ingèrent toute proie vertébrée ou invertébrée qu'ils sont en mesure d'avaler. Au contraire, les larves d'anoures peuvent s'avérer plus sélectives ou spécialisées, certaines filtrant les débris présents à la surface de l'eau, d'autres sont nourris par leur mère avec des œufs non fertilisés, certains têtards peuvent également ingérer des substances organiques au moyen de leurs pièces buccales kératinisées. Les anoures recourent essentiellement à la vue pour trouver leur nourriture. Les mouvements des proies déclenchent le comportement de quête. Les surcharges gastriques et les impactions, les corps étrangers, sont des constations fréquentes (Helmer et Whiteside, 2005 ; Pasmans et Martel, 2019a).

Tous les amphibiens possèdent des dents pédiculées « articulées ». Elles ne sont pas utilisées pour mâcher mais servent à maintenir la proie et éviter sa fuite. Les couronnes sont incurvées vers le pharynx et permettent de maintenir la proie lors de la mastication. Les dents perdues sont remplacées tout au long de la vie. Certains anoures possèdent une à deux rangées de dents maxillaires et mandibulaires. Les Ranidés sont dépourvus de dents mandibulaires et les Bufonidés n'ont pas de dentition (Helmer et Whiteside, 2005 ; Pasmans et Martel, 2019a).

La langue de la plupart des anoures peut être extériorisée pour capturer les proies. Chez certaines espèces, elle peut être projetée sur une distance représentant jusqu'à 80 % de la longueur totale de l'animal. L'appendice lingual est étendu et retourné (la face postéro-dorsale de la langue pliée passe en face antéro-ventrale), et sa surface adhère à la proie avant rétractation dans la cavité buccale. La séquence complète dure 50 millisecondes. Une fois la langue rétractée, le plancher buccal est soulevé et les paupières se ferment, comprimant les globes oculaires ventralement, ce qui permet de pousser l'aliment au fond du pharynx (Helmer et Whiteside, 2005).

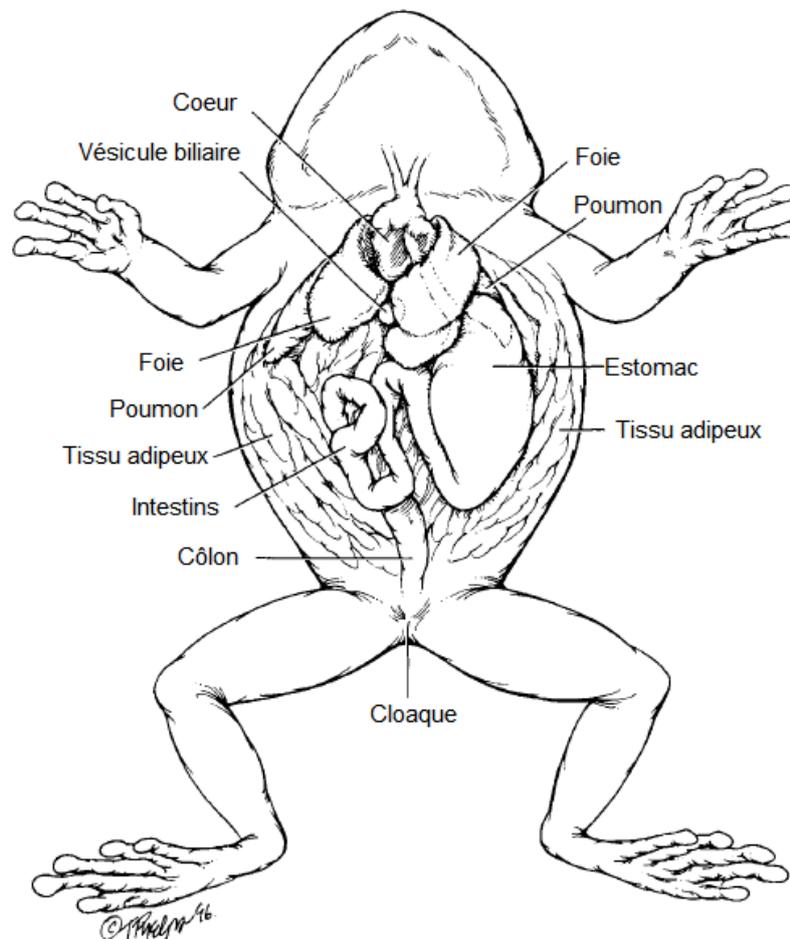
Il n'y a pas d'épiglotte. La cavité orale, l'œsophage, l'estomac et le duodénum sont tous séparés par des sphincters. Cependant, ils sont facilement traversés et l'œsophage court et large fait que la pose d'un tube gastrique est relativement simple. L'intestin est relativement court et reçoit de la bile ainsi que des sécrétions pancréatiques (Pasmans et Martel, 2019a).

Les fèces sont expulsées au niveau du cloaque, où se rejoignent les voies digestives, urinaires et reproductives.

Le foie des amphibiens est localisé postérieurement et ventralement au cœur. Les anoures possèdent un foie bilobé. La vésicule biliaire est de couleur rouge foncé à marron comme chez les autres vertébrés, est associée au foie et un conduit cholédoque la relie à cet organe. Chez certaines espèces, le canal cholédoque rejoint le canal pancréatique avant d'atteindre le tube digestif. Le foie joue aussi un rôle dans le système immunitaire du fait de la grande population de mélanomacrophages pigmentés et de cellules de Kupffer non pigmentées qu'il contient. Le nombre de mélanomacrophages hépatiques varie en fonction des saisons chez certaines espèces mais augmente avec l'âge et les stimulations immunitaires chez toutes les espèces. Il est possible de retrouver ce type cellulaire lors de ponction cœlomiques en cas de cœlomite ou d'ascite. Le foie des amphibiens joue aussi un rôle important dans la synthèse de composés azotés, les réactions antioxydantes, le métabolisme de substances endogènes et exogènes, les métabolismes glucidique, lipidique et ferrique, ainsi que la synthèse des protéines (Helmer et Whiteside, 2005 ; Pasmans et Martel, 2019a).

L'organisation anatomique viscérale est présentée dans la Figure 16.

Figure 16 : Anatomie viscérale d'une grenouille (Wright, 2001a, modifié).



f) Système endocrinien

Le système endocrinien des amphibiens a été largement étudié comme modèle des vertébrés car les organes sont très similaires à ceux des reptiles, oiseaux et mammifères. Cependant, bien que les fonctions des divers organes endocriniens soient similaires, les sécrétions présentent des différences structurales (Helmer et Whiteside, 2005).

Les glandes surrénales des amphibiens sont très proches des reins mais leur position varie énormément selon les espèces. Ces glandes, homogènes à la surface de coupe et histologiquement, sont composées à la fois d'éléments de la corticale et de la médullaire. Elles produisent des corticostéroïdes, de l'adrénaline et de la noradrénaline (Helmer et Whiteside, 2005).

La glande thyroïde joue un rôle fondamental dans la métamorphose des larves par la production de la T3 et la T4. Elle est aussi responsable du contrôle de la mue. L'hypothalamus régule la sécrétion de la TSH par la glande pituitaire, qui à son tour régule la synthèse de T3 et T4. Par ailleurs, la néoténie est due à une perte de capacité de l'hypothalamus à produire les hormones stimulant la glande pituitaire pour sécréter de la TSH (Helmer et Whiteside, 2005).

La glande pituitaire produit également l'ACTH, l'arginine vasotocine (équivalent de la vasopressine des mammifères), la FSH, la LH, la MSH, l'ocytocine et la prolactine. Les autres organes endocrines sont les gonades, synthétisant les œstrogènes, la progestérone ou la testostérone ; le pancréas produit l'insuline, les glandes parathyroïdiennes, la calcitonine et l'hormone parathyroïdienne, la glande pinéale, la mélatonine, les corps ultimobranchiaux, et le thymus, la thymosine (Helmer et Whiteside, 2005).

g) Système immunitaire

Le sang des amphibiens est composé d'érythrocytes ovales et nucléés, de cellules mononucléées (lymphocytes et monocytes) et de cellules granuleuses, peu décrites, différentes des cellules granulocytaires identifiées chez les mammifères (Helmer et Whiteside, 2005).

La moelle osseuse est retrouvée chez un certain nombre d'amphibiens terrestres mais elle ne remplit pas autant de fonctions que celles chez les vertébrés supérieurs. Chez les anoures, la moelle osseuse ne contribue qu'à la lymphocytopoïèse et à la thrombocytopoïèse (Helmer et Whiteside, 2005).

La rate des amphibiens est composée de la pulpe rouge et de la pulpe blanche, où se déroulent respectivement l'érythropoïèse et la myélopoïèse. Tous les amphibiens possèdent un thymus, où s'opère une partie de la production des lymphocytes T. Il reste fonctionnel toute la vie de l'animal. La taille de la rate et du thymus peut être affectée par des variations saisonnières. D'autres facteurs comme la malnutrition et le stress chronique peuvent conduire à une involution du thymus. Les amphibiens ne possèdent pas de nœuds lymphatiques. Cependant, le tube digestif contient des amas de tissus lymphoïdes disséminés, constituant le GALT (Helmer et Whiteside, 2005).

h) Organes des sens

Les anoures possèdent des organes des sens très développés.

C'est le cas notamment de l'ensemble des structures oculaires. Les espèces terrestres arborent entre autres des glandes lacrymales et des paupières. Le cristallin se rapproche ou s'éloigne de la cornée afin de permettre l'accommodation sans changer de forme comme chez les mammifères. Le diamètre de la pupille s'adapte à l'intensité lumineuse dans l'environnement extérieur mais l'iris est composée d'un muscle strié sous contrôle volontaire. La rétine des amphibiens terrestres est très complexe mais la vision des amphibiens repose surtout sur une vision panoramique, qui leur permet de chasser et de fuir les prédateurs, plutôt que sur l'acuité visuelle (Helmer et Whiteside, 2005).

Plusieurs types de cellules ganglionnaires rétinienne répondent à différentes caractéristiques du champ visuel, ce qui permet aux amphibiens de percevoir une image brute mais suffisante de leur environnement immédiat. Environ 90 % de l'information visuelle est traitée par la rétine tandis que 10 % seulement passent dans les centres réflexes des lobes optiques. Cette rétine performante semble compenser le cerveau relativement primitif (Helmer et Whiteside, 2005).

Leurs yeux se ferment quand les grenouilles sautent et une paupière transparente les recouvre lorsqu'elles sont immergées (Mouret, 2001).

Les papilles gustatives sont localisées sur la langue, le palais et sur la membrane muqueuse de la mandibule et du maxillaire. Les récepteurs tactiles sont disséminés dans le derme. Les amphibiens disposent aussi un organe de Jacobson, ou organe voméronasal. Il est innervé par une branche du nerf olfactif et détecte essentiellement les phéromones (Helmer et Whiteside, 2005).

i) Communication

La communication chez les anoures est principalement acoustique. Celle-ci permet d'établir des liens sociaux à distance entre individus. Elle présente un certain nombre d'avantages : elle ne nécessite pas que les animaux se touchent contrairement à la communication tactile, elle est rapide et ne laisse pas de trace contrairement à la communication chimique. Enfin, elle supplante la communication visuelle dans l'obscurité et en milieu fermé. Les particularités du chant (fréquence dominante, durée et nombre de notes, durée des silences, etc.) sont caractéristiques de chaque espèce d'anoure. De ce fait, l'étude des chants est devenue tout autant indispensable que celle des caractères morphologiques pour la distinction et la description des espèces (ACEMAV *et al.*, 2003).

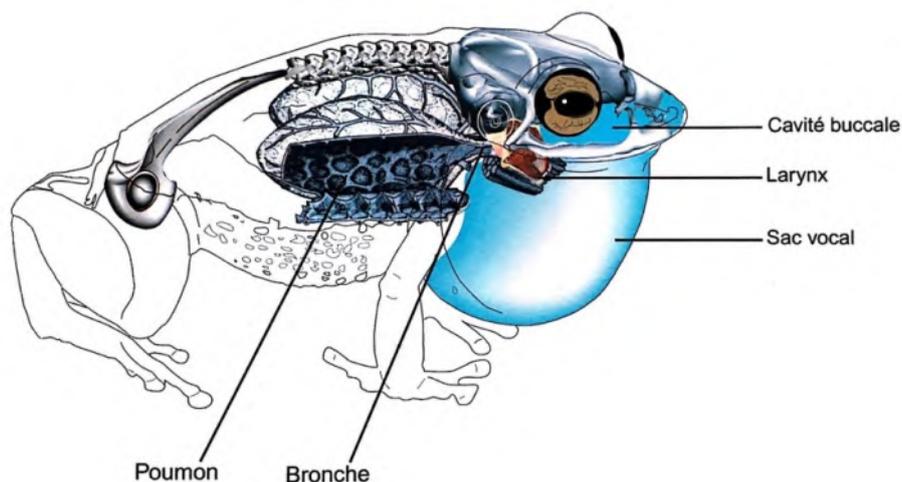
i. Production et réception du son

Appareil émetteur

Le chant, à l'exception des cris de détresse et d'agressivité, est généralement émis par les anoures la bouche et les narines fermées. Des fentes dans le plancher buccal permettent à l'air de passer dans la gorge dilatée, où sont en général différenciées des structures anatomiques particulières, les sacs vocaux, qui peuvent se distendre considérablement (Figure 17). Depuis ces poches, l'air repasse ensuite dans les poumons : il s'agit toujours du même air qui est recyclé au cours des croassements successifs en un mouvement de va-et-vient. Lors du passage dans le larynx, l'air fait vibrer les cordes vocales, ce qui produit le son qui est ensuite amplifié et réverbéré dans le milieu ambiant par les sacs vocaux. La forme, le nombre, la position et le degré de différenciation des sacs vocaux varient selon les espèces. On attribue en général au sac vocal des propriétés d'amplificateur du son. On rencontre pourtant un nombre important d'espèces, voire de genres, totalement dépourvus de sac vocal. Une telle absence n'empêche cependant pas la production des sons. Le sac vocal, propre au mâle, constitue un caractère sexuel secondaire. Il se met en place au moment du passage du stade juvénile à la maturité sexuelle où il devient pleinement fonctionnel (ACEMAV *et al.*, 2003).

Les Bufonidés et les Hylidés possèdent une grosse poche sous la gorge (Mouret, 2001).

Figure 17 : Schéma de l'ensemble des structures de l'appareil vocal au moment du chant (ACEMAV *et al.*, 2003).



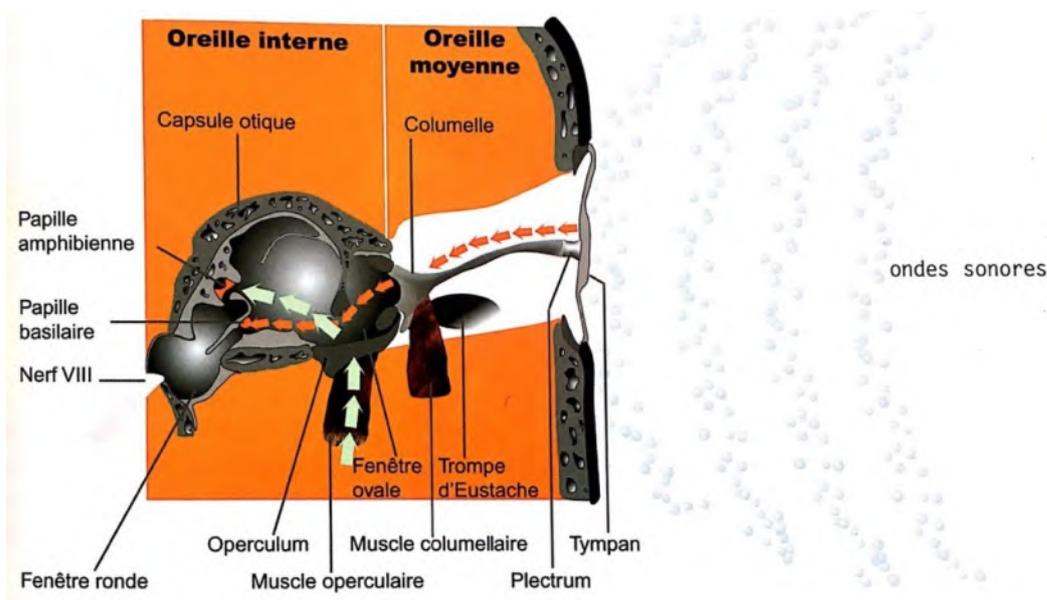
Appareil récepteur

Les anoues possèdent des structures auditives très développées (Figure 18). Les adultes n'ont pas de pavillon externe mais un tympan externe apparent, en arrière de la tête, dans le prolongement des yeux, très visible chez les Ranidés. La membrane tympanique permet la transmission des sons de hautes fréquences à la columelle (équivalent de l'étrier chez les mammifères) au niveau de l'oreille interne, qui répercute ensuite le son aux récepteurs du labyrinthe membraneux de l'oreille interne. Chez de nombreuses espèces d'amphibiens, les sons de basses fréquences sont transmis à l'oreille interne par l'opercule de la capsule auditive qui reçoit les vibrations venant des membres antérieurs (Helmer et Whiteside, 2005).

L'intégration des signaux sonores s'effectue dans l'oreille interne au niveau de trois structures : la papille amphibienne (propre aux amphibiens), la papille basilaire et le saccule. Un certain nombre d'espèces, dont les sonneurs (*Bombina* spp.), sont dépourvues d'oreille moyenne sans pour autant être sourdes, selon un mécanisme encore mal connu (ACEMAV *et al.*, 2003).

Figure 18 : Schéma du système auditif des anoues (ACEMAV *et al.*, 2003).

Les flèches vertes indiquent la voie de passage des ondes vibratoires inférieures à 1000 Hz. Les flèches oranges signalent le parcours des ondes sonores supérieures à 1000 Hz.



ii. Apparition du chant

Le chant chez les amphibiens anoues semble inné, c'est-à-dire sans apprentissage et sous contrôle génétique. On admet en général que les anoues développent leur comportement vocal à l'âge adulte. Cependant, des observations ont permis de montrer que le développement d'émission sonores apparaissait de façon plus ou moins précoce dans la vie des animaux. Par exemple, le chant de la Rainette arboricole (*Hyla arborea*) est de faible intensité au départ et prend de l'ampleur quatre mois après la métamorphose (ACEMAV *et al.*, 2003).

iii. Le répertoire acoustique

Les grenouilles ont développé un éventail de signaux acoustiques qui gèrent les relations sociales entre les individus d'une même espèce ou d'espèces différentes. Chez les anoues, on distingue deux types de signaux sonores : les cris, qui sont des signaux brefs traduisant des états comportementaux (agressivité, détresse, relâche etc.) et les chants, qui sont des signaux souvent liés à la reproduction. Ces derniers sont plus complexes et sont émis en séquence de plusieurs dizaines de secondes voire

pendant plusieurs heures. Le répertoire sonore des espèces ne peut être compris que dans le cas où les informations sur l'écologie, le comportement et la physiologie de l'espèce sont réunies. On reconnaît différents chants au sein du répertoire acoustique ayant pour but de communiquer différents états ou fonctions : marquage territorial, parade nuptiale, alarme, détresse, contact etc. (ACEMAV *et al.*, 2003).

L'appel sexuel occupe une place unique au sein du répertoire acoustique. Il est nécessaire à la rencontre des partenaires sexuels mais aussi à la défense du territoire. Il participe ainsi au succès reproducteur de l'espèce. Les mâles produisent un chant d'appel dont les paramètres temporels et fréquentiels sont caractéristiques de l'espèce. Certaines caractéristiques acoustiques de l'appel sexuel varient de surcroît d'une population à une autre et d'un individu à l'autre au sein de la même espèce. Cette diversité de chant offre alors un potentiel de codage varié, qui favorise la reconnaissance individuelle et spécifique, mais aussi le choix des partenaires sexuels. En effet, lorsque des populations d'espèces distinctes cohabitent, on observe une accentuation des caractères distinctifs du chant entre ces espèces. L'hétérogénéité du chant entre les différentes populations de la même espèce augmente ainsi, en fonction de leur cohabitation avec d'autres espèces (ACEMAV *et al.*, 2003).

iv. Chant des femelles

Les vocalisations des femelles sont beaucoup plus discrètes que celles des mâles et sont pour cette raison largement méconnues (ACEMAV *et al.*, 2003).

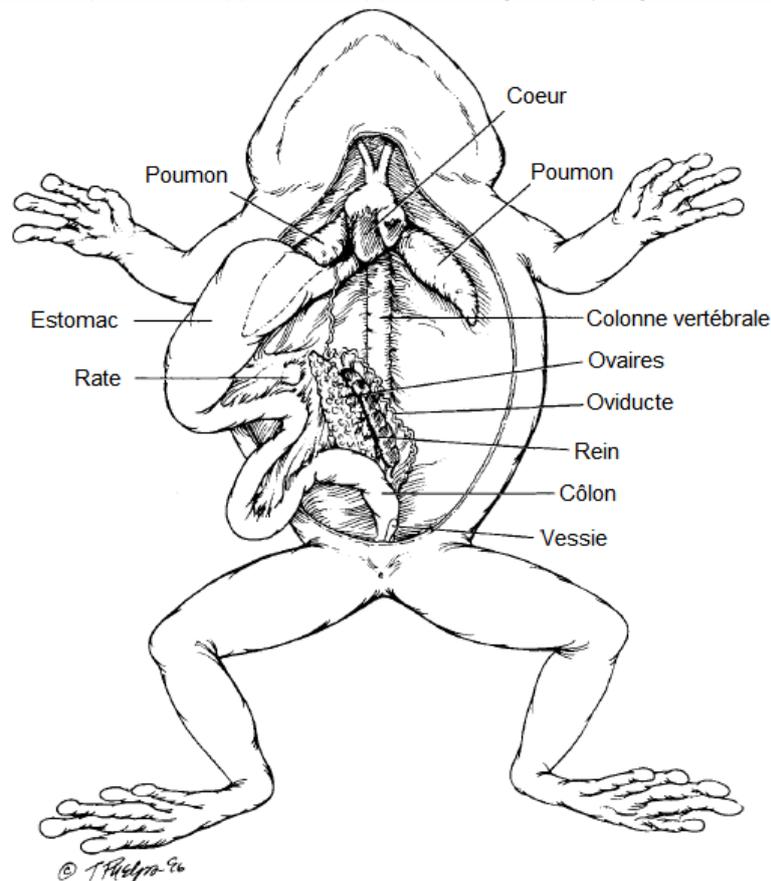
E. Reproduction et fécondation des anoures

1) Anatomie du système reproducteur et dimorphisme sexuelle

Les amphibiens possèdent des gonades paires. Celles-ci sont proches du tissu adipeux, présents au niveau de la paroi dorsale chez les anoures. Les organes copulateurs ne sont présents que chez les cécilies mâles et un petit nombre d'anoures et de caudés (Helmer et Whiteside, 2005 ; Pasmans et Martel, 2019a).

Chez les anoures mâles, les testicules sont épais, non lobés et attachés aux reins par un mésorchium. Le sperme passe des testicules vers le cloaque en cheminant dans les conduits de Wolff. Chez les anoures femelles, les ovaires sont suspendus par le mésovarium au niveau des reins. Les follicules se développent dans les ovaires, l'ovule est libéré dans le coelome lors de l'ovulation par rupture de l'ovisac qui entoure les follicules. Des cils intra-coelomique dirigent l'ovule vers l'infundibulum puis dans l'oviducte (Figure 19). Un dimorphisme sexuel est présent chez certains amphibiens mais demeure très minoritaire. L'activité et la taille des gonades fluctuent avec le stade reproducteur (Helmer et Whiteside, 2005 ; Pasmans et Martel, 2019a).

Figure 19 : Anatomie viscérale d'une grenouille femelle, après retrait du foie et de la vésicule biliaire et réclinaison de l'estomac pour faire apparaître l'appareil uro-génital (Wright, 2001a, modifié).



Les mâles sont souvent plus petits que les femelles chez les anoures. Les mâles de la plupart des amphibiens développent des caractères sexuels secondaires lors de la saison de reproduction, avec souvent le développement de pads nuptiaux (Figure 20), qui sont des plaques cutanées de kératine de couleurs foncées chez les anoures (Pasmans et Martel, 2019a).

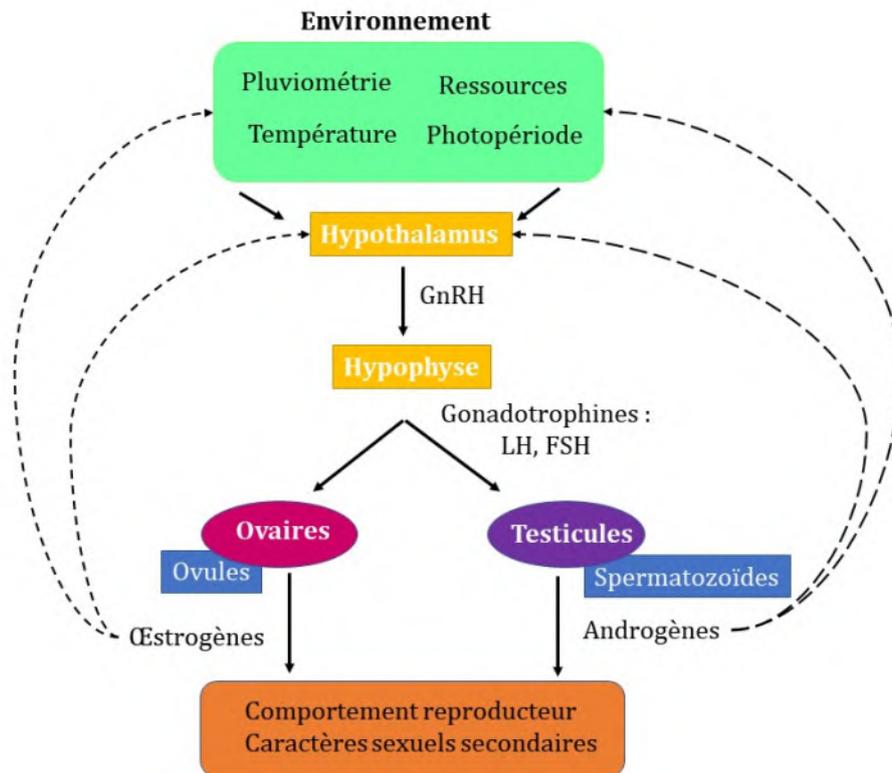
Figure 20 : Photographie d'un mâle *Trachycephalus resinifictrix* et de son pad nuptial gauche (photographie personnelle).



2) Gamétogénèse et fertilisation

Chez la majorité des amphibiens, la présence d'un mâle et d'une femelle sont nécessaires pour la reproduction. L'activité reproductive est généralement synchrone au sein d'une espèce. Le contrôle hormonal et les facteurs environnementaux (température, pluviométrie, photopériode) sont indispensables pour permettre la synchronisation de la reproduction. Les modifications hormonales permettent la gamétogénèse de manière similaire à tous les vertébrés. Les gonades produisent les gamètes mais aussi les hormones à l'origine du contrôle de la physiologie et du comportement reproducteur (Figure 21).

Figure 21 : Régulation de la fonction de reproduction chez les amphibiens. Schéma de synthèse personnel inspiré de Vitt et Caldwell (2013b).



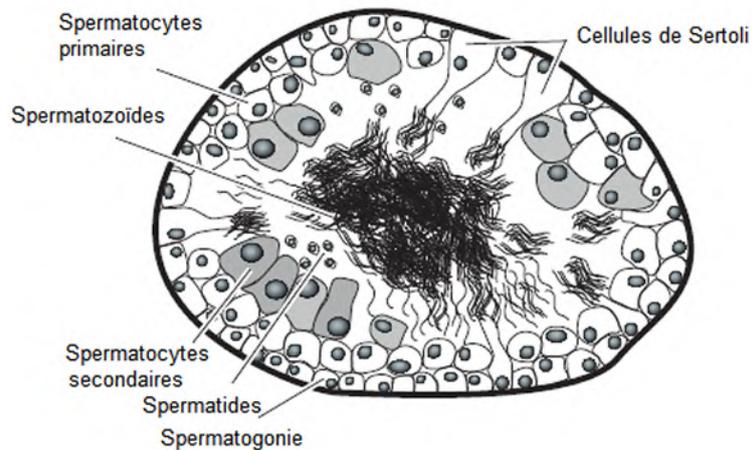
Le comportement sexuel et donc la reproduction dépendent des interactions entre facteurs environnementaux, systèmes nerveux et endocrine. L'hypothalamus produit de la GnRH, qui stimule l'hypophyse, produisant de la LH et de la FSH, qui stimulent à leur tour les gonades. Ces derniers produisent les gamètes, mais aussi les androgènes qui vont permettre le développement des caractères sexuels secondaires mais aussi être à l'origine d'un rétrocontrôle sur les comportements sexuels et le système nerveux (Vitt et Caldwell., 2013b).

3) Gamètes

a) Gamètes mâles

Les spermatozoïdes sont produits par les spermatogonies dans les tubes séminifères des testicules lors de la spermatogenèse. Les spermatogonies subissent des divisions mitotiques et se différencient en spermatocytes primaires. A l'issue de la méiose ces derniers produisent des spermatocytes secondaires puis des spermatides. La différenciation des spermatides en spermatozoïdes s'ensuit, dont la nutrition est assurée au contact des cellules de Sertoli (Figure 22).

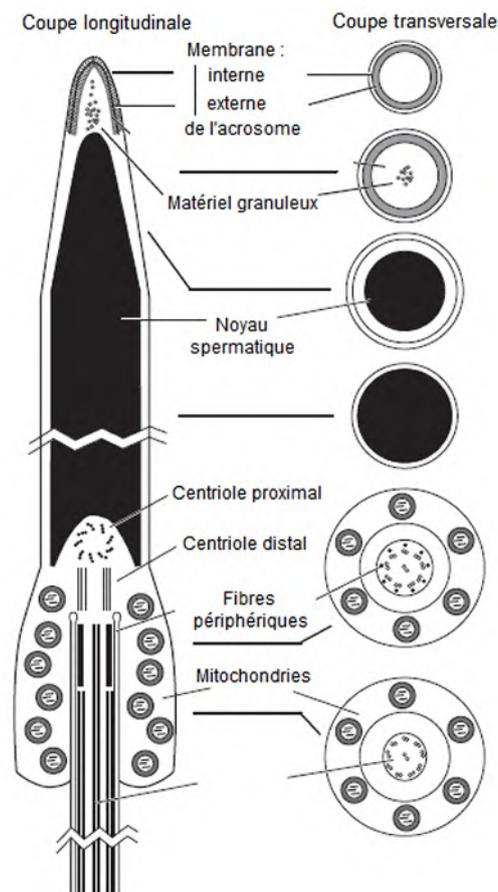
Figure 22 : Coupe transversale d'un tube séminifère permettant l'illustration de la spermatogenèse chez les amphibiens (Vitt et Caldwell, 2013b).



Les spermatozoïdes sont des cellules hautement différenciées composées de trois sections : une tête, une pièce centrale contenant les mitochondries et une queue filamenteuse permettant les déplacements. La tête contenant le noyau est surmontée d'un acrosome. Ce dernier produit des enzymes protéolytiques qui digèrent la capsule de l'ovule et permettent la pénétration du spermatozoïde. La morphologie des spermatozoïdes est très diversifiée parmi les amphibiens (Figure 23).

Figure 23 : Schématisation de la structure du spermatozoïde d'un Hylidé (Vitt et Caldwell, 2013b, modifié).

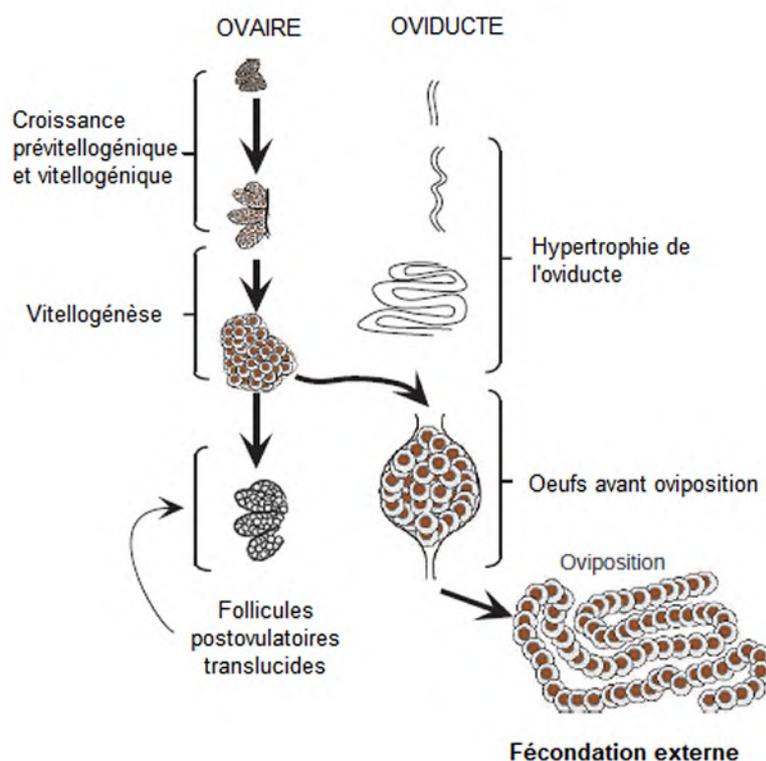
Seule la base de la queue a été représentée et la tête a été raccourcie dans ce schéma.



b) Gamètes femelles

Chez les femelles, les ovules sont produits dans les ovaires. Les cellules germinales primordiales se divisent par mitose pour donner des ovogonies. Ces dernières subissent des divisions de mitose et croissent pour donner des ovocytes primaires, qui subiront la méiose. La première division de méiose donne un ovocyte secondaire ainsi que le premier globule polaire, et la seconde, l'ovule suite à l'expulsion du second globule polaire. Les nutriments sont stockés dans le cytoplasme de l'ovule par le processus de vitellogénèse (Figure 24). Ce dernier produit un précurseur des protéines du vitellus, la vitellogénine, également retrouvée dans le foie des amphibiens. Elle arrive à l'ovaire par la circulation sanguine où elle est stockée dans les ovocytes en croissance. Elle est ensuite clivée en lipovitelline et en phosvitine, composés stockés dans l'ovule. Lors de la métamorphose, le nombre d'ovocytes non vitellogéniques, c'est-à-dire sans vitellogénine, dans l'ovaire de la femelle augmente rapidement. Les espèces produisant des pontes de petites tailles possèdent peu d'ovocytes non vitellogéniques. La croissance vitellogénique et le maintien de petits ovocytes est initiée par la GnRH et annonce le début du cycle ovarien. Chez les amphibiens à maturité, les ovaires contiennent un lot de petits ovocytes non vitellogéniques ne répondant pas aux gonadotrophines. Il semblerait que dès l'initiation de la vitellogénèse dans un lot d'ovocytes, des mécanismes de régulation intrinsèques à l'ovaire se mettent en place et empêchent d'autres ovocytes à répondre aux stimulations hormonales des gonadotrophines (Vitt et Caldwell, 2013b).

Figure 24 : Développement des œufs chez les amphibiens (Vitt et Caldwell, 2013b, modifié).



Le nombre et la taille de l'ovule varient selon les espèces. Les ovules sont généralement entourés d'une enveloppe gélatineuse et translucide, et déposés en grappes dans l'eau ou dans des habitats humides. La pigmentation mélanique des ovules permettrait de les protéger des radiations UV et de concentrer la chaleur (Helmer et Whiteside, 2005).

La fécondation est externe chez la majorité des amphibiens, dont les anoures. Après la production de la première ponte, le processus se répète. Les follicules restants mobilisent des lipides pour produire

une autre ponte. Ces nouvelles pontes peuvent se produire au cours de la même saison ou à la saison suivante, selon l'espèce et l'environnement où elle se trouve (Vitt et Caldwell, 2013b).

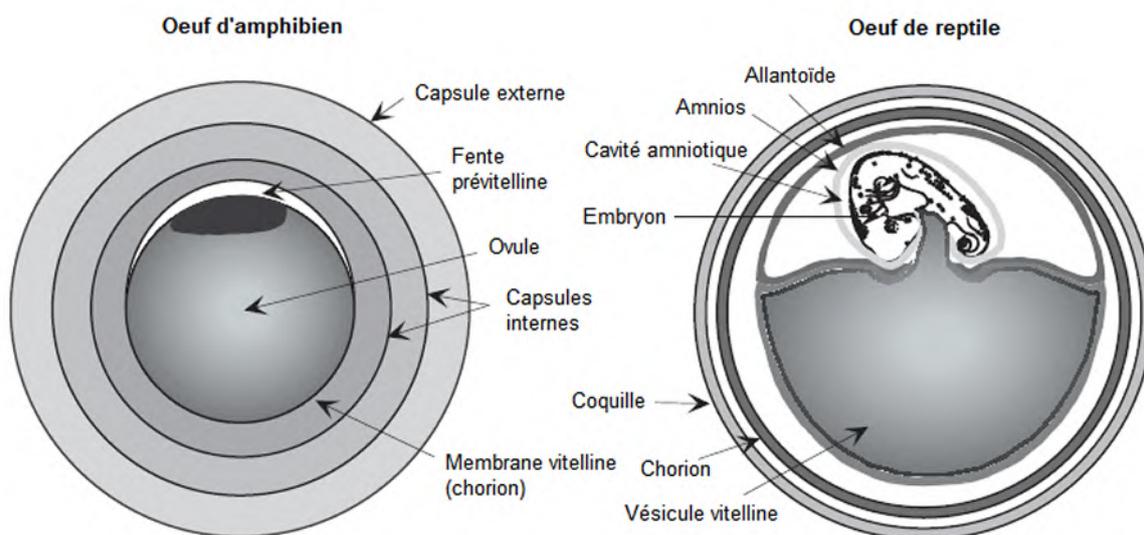
L'ovulation a lieu lorsque les parois folliculaire et ovarienne se rompent, libérant l'ovule dans le cœlome où il migre vers l'infundibulum des oviductes. Chez la plupart des amphibiens, le follicule post-ovulatoire n'existe que durant une période de temps très réduite et ne sécrète pas d'hormones. Chez les amphibiens, les ovules sont déjà enfermés dans une membrane vitelline produite par l'ovaire. Chaque ovule est entouré de plusieurs couches de mucoprotéines et de mucopolysaccharides à mesure qu'il progresse dans l'oviducte. Le nombre de couches dépend de l'espèce. Chez les anoures, il est généralement inférieur à 8. Les œufs des amphibiens sont anamniotiques car ils manquent les membranes extra-embryonnaires caractéristiques des reptiles et des mammifères. Ils ne sont donc pas protégés par une coquille comme on peut l'observer chez les reptiles, ou par une membrane amiotique à l'image des mammifères, et ne possèdent que quelques couches de protection gélatineuses (Vitt et Caldwell, 2013b).

4) Fécondation

La fécondation a lieu lorsque le spermatozoïde et l'ovule fusionnent pour former un zygote diploïde. On parle de fécondation externe lorsque cette union se produit à l'extérieur de l'organisme. C'est également dans l'environnement naturel que se réalise le développement embryonnaire des amphibiens *in ovo* (Vitt et Caldwell, 2013b).

Suite à l'accouplement, seul un spermatozoïde est en mesure de féconder l'ovule. La première phase implique une adhérence à la surface de l'ovule. Les enzymes produites par l'acrosome sont libérées pour digérer la capsule de l'ovule, permettant le contact de la tête spermatique avec la membrane plasmique de l'ovule. Le noyau spermatique pénètre ensuite dans le cytoplasme de l'ovule. En réponse à cette rentrée, la membrane vitelline se sépare et s'élève, soulevant tous les autres spermatozoïdes se trouvant à la surface de l'ovule. L'ovule complète alors sa dernière division de méiose et la fusion des deux pronucléi permet la formation d'un zygote diploïde (Figure 25). Le développement embryonnaire des amphibiens se réalise dans le milieu extérieur dans les œufs fécondés (Vitt et Caldwell, 2013b).

Figure 25 : Comparaison d'un œuf anamniotique d'un amphibien et d'un œuf amniotique d'un reptile (Vitt et Caldwell, 2013b, modifié).



5) Comportement reproducteur

La parade nuptiale et les comportements reproducteurs varient selon les espèces. Des signaux vocaux, visuels, tactiles ou chimiques sont utilisés dans ce cadre et permettent aussi d'attirer les individus afin de multiplier le choix des partenaires. Les comportements reproducteurs sont sous influence hormonale (Figure 21). Mâles et femelles possèdent des gamètes matures quand vient le temps de la reproduction (Vitt et Caldwell, 2013b).

Chez la plupart des anoures, le mâle s'agrippe à la femelle et positionne son cloaque juste au-dessus de celui de la femelle, libérant alors le sperme au fur et à mesure que celle-ci pond. C'est ce qu'on appelle « amplexus », position du mâle dépendant de l'espèce. Par rapport aux espèces où la fécondation est interne (tels que *Ascaphus truei* et *Ascaphus montanus*, certaines espèces du genre *Mertensophryne*, les espèces du genre *Nectophrynoides*), des structures morphologiques supplémentaires sont retrouvées et les rituels nuptiaux sont souvent plus complexes (Vitt et Caldwell, 2013b).

6) Écologie de la reproduction

a) Saisonnalité

Comme vu précédemment, la reproduction est influencée par les conditions environnementales. La saison de reproduction peut être influencée par la température ambiante, la pluviométrie ou un changement de photopériode (Tableau 1). Les mâles vont alors répondre aux signaux visuels, auditifs et/ou olfactifs des femelles. Seuls les mâles anoures sont capables d'attirer les femelles par des chants, amplifiés par la présence d'un ou deux sacs vocaux. La vocalisation d'autres individus peut aussi contribuer à la synchronisation de la reproduction (Helmer et Whiteside, 2005 ; Pasmans et Martel, 2019a).

La majorité des espèces des zones tempérées sont saisonnées alors que les espèces tropicales peuvent se reproduire durant la saison des pluies, la saison sèche mais aussi en permanence.

Tableau 1 : Saisonnalité de la reproduction selon le milieu de vie (Vitt et Caldwell, 2013b).

Milieu tropical avec saisons	Reproduction lors de la saison des pluies, sauf <i>Hypsiboas boans</i> (saison sèche).
Milieu tropical sans rythme saisonnier	Reproduction tout au long de l'année, ou durant une durée étendue de l'année. Le moment et l'intensité de la pluviométrie détermine le moment exact où l'accouplement a lieu.
Milieu tempéré	Saison de reproduction variable avec l'espèce (Exemples : <i>Pseudacris ornata</i> en hiver, <i>Hyla arborea</i> en été, <i>Lithobates sphenoccephala</i> en automne et au printemps).

b) Amplexus

Les grenouilles présentent la plus grande diversité de modes de reproduction parmi les vertébrés, à l'exception des téléostéens mais la plupart sont ovipares et lecithothrophique (c'est-à-dire qu'elles possèdent une vésicule vitelline). Les œufs des amphibiens sont perméables et requièrent la présence d'eau pour prévenir la dessiccation. La plupart des modes de reproduction en milieu terrestre ont lieu en régions tropicales où règnent des conditions de température et humidité élevées (Vitt et Caldwell, 2013b).

La reproduction implique un contact physique chez la majorité des anoures, appelé amplexus. (Pasmans et Martel, 2019a).

Tous les *Hylidés* engagent un amplexus axillaire (Figure 26) (Vitt et Caldwell, 2013b).



Figure 26 : Amplexus axillaire d'un couple de *Trachycephalus resinifictrix* (Mignet, 2015).

L'amplexus désigne le comportement de reproduction des anoures au cours duquel le mâle s'agrippe au dos de la femelle par ses membres thoraciques (Figure 27).

Figure 27 : Schématisation des différents modes d'amplexus retrouvés chez les anoures (Willaert et Biju, 2016, modifié).

<p>➤ Inguinal : le mâle s'agrippe en avant des membres pelviens de la femelle ;</p>	
<p>➤ Axillaire : les membres thoraciques du mâle agrippent la femelle sous les aisselles ou au niveau des membres thoraciques ;</p>	
<p>➤ Céphalique : le mâle s'agrippe au niveau de la tête ou du cou de la femelle ;</p>	
<p>➤ Par chevauchement : le mâle se positionne en position verticale sur les épaules de la femelle, le sperme coule alors le long du dos de la femelle ;</p>	
<p>➤ Collé : le mâle est accolé à l'arrière de la femelle par une substance qu'il sécrète.</p>	

Lors de l'amplexus, le cloaque du mâle et de la femelle sont appliqués l'un contre l'autre, les œufs sont fécondés au fur et à mesure de leur expulsion (Vitt et Caldwell, 2013c).

c) Sites d'oviposition, nidification

Le lieu et le mode d'oviposition sont très variés selon les espèces (Tableau 2). Les sites de ponte doivent impérativement se situer dans l'eau ou dans un lieu à partir duquel la larve d'anouère est en mesure de rejoindre un environnement aquatique. Chez les espèces pondant en milieu terrestre ou arboricole, une hygrométrie élevée est nécessaire pour éviter la dessiccation (Vitt et Caldwell, 2013c).

Les stratégies de reproduction diversifiées (39 modes de reproduction recensés à ce jour) des amphibiens sont classées selon les conditions dans lesquelles les œufs seront amenés à se développer (Vitt et Caldwell, 2013c).

Un nid est une structure construite par l'adulte reproducteur pour y déposer les œufs (Figure 28). La plupart des espèces déposent cependant leurs œufs directement dans l'eau. La plupart des espèces ne construisent pas de nid mais utilisent des sites préexistants. Les cas où les œufs, puis les larves se développent complètement en milieu aquatique sont les plus communs et sont qualifiés « d'ancestraux ». De nombreuses espèces d'hylidés comme les *Trachycephalus resinifictrix* ou *Osteocephalus oophagus* pondent dans l'eau colligée au sein de microhabitats arboricoles comme les trous d'arbre ou les broméliacées. Les soins parentaux sont rares chez les anouères bien que retrouvés par exemple, chez les grenouilles du genre *Hypsiboas* dont les mâles veillent les œufs au sein d'un nid après la ponte, ou les Dendrobatidés qui gardent leurs œufs puis transportent les petits vers des réservoirs aquatiques afin qu'ils y grandissent (Vitt et Caldwell, 2013c ; Pasmans et Martel, 2019b).

Tableau 2 : Différents modes d'oviposition chez les anouères (Vitt et Caldwell, 2013c).

Milieu aquatique		Milieu terrestre
Sans construction de nid	Avec construction d'un nid	Sans construction de nid
Dans des trous d'arbres (<i>Trachycephalus resinifictrix</i>) ; Micro-bassins formés par des plantes, généralement des broméliacées (Bromeliaceae) (<i>Osteocephalus oophagus</i>) ;	Nids de mousses (Figure XX, C) à la surface de l'eau ou dans des dépressions dans le sol (Leptodactylidés, Myobatrachidés, Rhacophoridés) ; Bassins d'eau construits par les représentants de l'espèce (<i>Hypsiboas rosenbergi</i>) ; Nids souterrains (<i>Hemisus</i>) ;	Sous la litière forestière (<i>Eleutherodactylus</i>) ; Sur les feuilles (<i>Phyllomedusa</i>) ;

Les œufs peuvent aussi être gardés sur le corps de la grenouille voire à l'intérieur de son organisme.

Le substrat des nids en mousse finit par se dissoudre avec le temps et les têtards tombent dans l'eau présente en-dessous et y poursuivent leur développement. Si le nid de mousse repose sur le sol, les larves seront acheminées aux ruisseaux ou étangs les plus proches par l'eau de pluie. Elles peuvent aussi se développer directement dans le nid. Certains têtards sont même capables de former leur propre mousse après dissolution de celle formée par la femelle (Vitt et Caldwell, 2013c).

Le nombre et la taille des œufs varient considérablement selon les espèces. De nombreux bufonidés (Bufonidés) produisent des milliers de petits œufs tandis que les grenouilles des genres *Eleutherodactylus* et *Dendrobates* pondent des œufs en nombre moins important mais plus volumineux (Vitt et Caldwell, 2013c).

La pression de prédation dépend du site d'oviposition. Les étangs temporaires abritent des larves d'insectes pouvant se nourrir des œufs et des larves d'amphibiens tels que des crustacés (Crustacea), libellules et zygoptères (Odonata), trichoptères (Trichoptera). Les œufs déposés dans les ruisseaux ou lacs sont sujets à la prédation par les poissons et ceux déposés dans les microhabitats arboricoles sont exposés à l'appétit des serpents (*Leptodeira spp.*) et de divers insectes (Vitt et Caldwell, 2013c).

Les individus de l'espèce *Trachycephalus resinifictrix* sont fidèles et les mâles territoriaux. Ces derniers vocalisent depuis des arbres creux (Figure 29) pour attirer les femelles, en général entre août/septembre et avril/mai lors de la saison des pluies. La période de reproduction peut varier selon la région géographique. Les trous utilisés par *Trachycephalus resinifictrix* sont en général elliptiques (avec une surface de 62 à 451 cm²), profonds (entre 15 et 90 cm de profondeur, pour un volume d'eau de 2,8 à 90L), et se situent entre 2 et 32 m au-dessus du sol. Le pH de l'eau varie entre 6 et 7 et la concentration en dioxygène dissous est de 0,2 à 3,9 mg/L (Schiesari *et al.*, 2003).

Les mâles sont en compétition pour trouver et défendre les trous d'arbres les plus adaptés, en usant des vocalisations spécifiques et des interactions physiques. L'amplexus axillaire est stimulé par le contact entre les deux partenaires. La fécondation est externe : une fois en amplexus, le mâle féconde les œufs au fur et à mesure que la femelle pond les œufs à la surface de l'œuf (Schiesari *et al.*, 2003).

Figure 28 : Différents sites d'oviposition chez les anoues (Vitt et Caldwell, 2013c).

a) Avec construction d'un nid



Couple de *Physalaemus cuvieri* en amplexus formant un nid de mousse au-dessus de l'eau. Photo de Daniel Loebmann issue de (Zamudio *et al.*, 2016).



Mâle *Hypsiboas faber* gardant la ponte déposée dans le bassin préalablement construit. Photo de Zamudio *et al.* Tirée de (Zamudio *et al.*, 2016).

b) Sans construction de nid



Ponte de *Eleutherodactylus monentis* Photo de J. Stabile tirée de (Stabile *et al.*, 2014).



Phyllomedusa itacolomi, photo de la Municipalité de Congonhas (état de Minas Gerais, Brésil) tirée de (Pezzuti *et al.*, 2009).



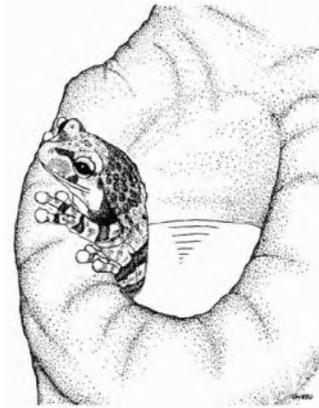
Œufs de *Trachycephalus mesophaeus* déposés directement dans l'eau. Photo de Daniel Loebmann issu de (Zamudio *et al.*, 2016).



En haut, couple de *Scinax alcatraz* en amplexus déposant les œufs dans de l'eau accumulée dans une broméliacée (Bromeliaceae). Photo de Zamudio *et al.* Tirée de (Zamudio *et al.*, 2016).

À gauche, œufs de *Dendropsophus berthaluzae* suspendus sur une feuille. Photo de Zamudio *et al.* Tirée de (Zamudio *et al.*, 2016).

Figure 29 : Mâle *Trachycephalus resinifictrix* vocalisant à l'entrée d'un trou d'arbre rempli d'eau. Dessin de T. Guttman d'après une photo prise par l'auteur au Panguana (Pérou) (Hödl, 1991).



III - Répartition géographique

Trachycephalus resinifictrix est largement répandue en Amérique du Sud (incluant la Guyane Française), en Bolivie, au Brésil, en Colombie, en Équateur, au Pérou, au Suriname et au Venezuela (Figures 30 et 31). Elle est retrouvée entre 0 et 450 m d'altitude (Tapley et Bradfield, 2008).

Figure 30 : Distribution mondiale des Hylidés (Vitt et Caldwell, 2013g).

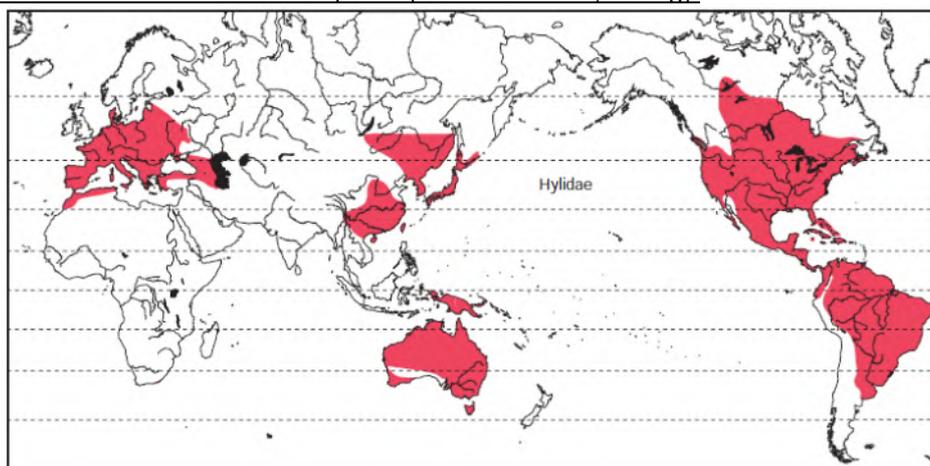


Figure 31 : Aire de répartition de *Trachycephalus resinifictrix*, représentée par l'aire coloriée en jaune (BerkeleyMapper, 2021).



Histoire naturelle

Trachycephalus resinifictrix est une espèce arboricole et nocturne qui occupe la canopée des forêts tropicales primaires. Comme la plupart des espèces d'anoures, elle est terrestre à l'état adulte mais reste dépendante de l'eau ou d'un milieu humide, en particulier pour la reproduction. Il s'agit de l'une des rares espèces d'amphibiens capables de se reproduire dans les trous d'arbres remplis d'eau, capable ainsi de réaliser l'intégralité de son cycle de vie au sein de la canopée (Schiesari *et al.*, 2003 ; Tapley et Bradfield, 2008 ; Mignet, 2015)

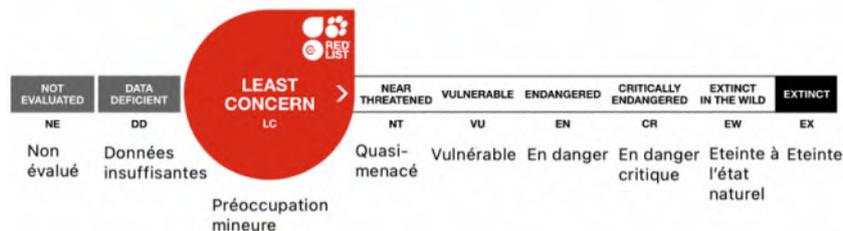
La reproduction a lieu durant la saison des pluies, entre novembre et mai. Des grappes d'environ 2500 œufs forment une masse gélatineuse près de la surface de l'eau ou adhérent à la paroi interne des trous d'arbres. Les têtards se développent au sein du trou d'arbre jusqu'à la métamorphose. Leur face dorsale est marron foncé et leur face ventrale claire. Ils se nourrissent des œufs de la même espèce ou de débris végétaux (Lima *et al.*, 2005).

Ils consomment une grande variété d'invertébrés et de petits vertébrés.

IV - Réglementation et statut de conservation

Trachycephalus resinifictrix est une espèce non inscrite dans les listes de la CITES et classée comme « Préoccupation mineure » sur la liste rouge de l'IUCN en raison de sa large distribution, de l'estimation de la taille des populations et parce qu'elle est peu susceptible de décliner suffisamment vite pour prétendre à un statut plus critique (Figure 32). Sa répartition géographique recouvre un certain nombre de régions protégées. En dépit de ce statut de conservation globalement favorable, certaines populations locales sont affectées par la destruction et la perturbation de leurs habitats suite à la déforestation et à l'extension des installations humaines et de l'agriculture (IUCN, 2008) .

Figure 32 : *Trachycephalus resinifictrix* sur la liste rouge mondiale des espèces menacées (IUCN, 2008).



Les amphibiens connaissent actuellement une phase de déclin inédite car environ 40 % des espèces sont menacées d'après l'IUCN. La chytridiomycose est considérée comme une des causes majeures de cette situation entraînant l'extinction de nombreuses espèces de batraciens (Daszak *et al.*, 1999 ; Lips *et al.*, 2006). Face à cette crise sans précédent, les programmes de reproduction en captivité sont devenus des outils majeurs de lutte pour la conservation des espèces d'amphibiens (Griffiths et Pavajeau, 2008 ; Browne *et al.*, 2011 ; Zippel *et al.*, 2011). Si les amphibiens s'avèrent être à l'heure actuelle le groupe taxonomique le plus menacé parmi les vertébrés ; ils semblent aussi les mieux « adaptés » à la reproduction en captivité. On observe par ailleurs, une augmentation des collections d'amphibiens dans les zoos en réponse aux menaces impactant ces animaux (Marris, 2008).

V - Identification des individus

L'identification des individus pour des motifs de recherches ou dans le cadre de la législation peut se révéler difficile étant donné la petite taille de nombreuses espèces. Des méthodes d'identification comme une amputation d'un ou plusieurs doigts, le tatouage, l'implant de polymères, par transpondeur électronique ou par motifs peuvent être utilisés. Pour des raisons de bien-être animal et de

reproductibilité des méthodes, seuls les polymères, transpondeurs et motifs seront envisagés. Les transpondeurs électroniques sont largement employés et permettent une identification sans ambiguïté. Leur seule limite est la taille de l'animal dont la longueur museau au cloaque doit excéder 4 cm lorsqu'un transpondeur de 1,4 mm x 9 mm est mis en place. Chez les anoures, il peut être placé au niveau de la cavité coelomique ou du sac lymphatique dorsal. Les complications associées à cette opération sont la perte du matériel (cas rares) ou un traumatisme chez les petits animaux. Le site d'injection doit être nettoyé avec une compresse stérile ou un coton-tige. Les auteurs préfèrent ne pas désinfecter la zone afin d'éviter une irritation voire une intoxication. Des photographies avec un bon contraste et une échelle graduée peuvent être utilisées pour la reconnaissance des individus arborant des motifs uniques et stables avec l'âge. Enfin, des polymères (élastomères) colorés ou fluorescents, injectés en position sous-cutanée sont très utilisés en recherche. Il s'agit là d'une technique peu onéreuse permettant l'identification d'un grand nombre d'individus dont des têtards. Cependant, la perte du marquage avec le temps ainsi qu'en l'absence de standardisation du codage rendent la technique peu adaptée pour les identifications réalisées dans un cadre règlementaire (Pasmans et Martel, 2019b).

Les individus exhibant des motifs uniques peuvent être identifiés par leur marquage naturel. Lorsque ceux-ci sont susceptibles d'évoluer avec le temps donc il est recommandé de refaire de nouvelles photographies d'identification chaque année (Tapley et Bradfield, 2008).

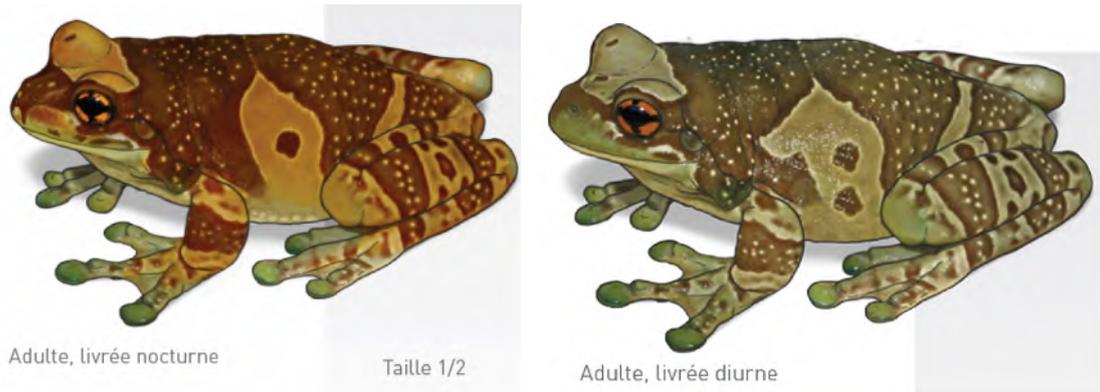
Le terme « coloration » définit la couleur de fond des rainettes, c'est-à-dire la teinte dominante de la tête et du dos. Le patron exprime la répartition des motifs plus sombres ou plus clairs que la coloration de la face dorsale. Ces derniers peuvent être constitués de points, de taches ou de macules. Une macule est un dessin contrasté et bien délimité tandis qu'une tache est une forme peu définie aux contours flous ou irréguliers. Les Hylidés présentent souvent deux livrées : une livrée nocturne et une livrée diurne généralement plus contrastée (Figure 33, a). La coloration d'une rainette peut d'ailleurs changer rapidement en fonction de la luminosité ou du stress (Dewynter *et al.*, 2016).

Trachycephalus resinifictrix est caractérisée par des iris beige à orange marqués d'une croix noire. La face dorsale du corps est parsemée de tubercules arrondis épars, ponctués de blanc tandis que la face dorsale de la tête est lisse. Les disques des doigts sont verdâtres, les palmures beiges et brunes. La face ventrale (ventre et gorge) est blanc immaculé (Figure 33, b) (Dewynter *et al.*, 2016).

Mâles et femelles présentent généralement une coloration dorsale gris verdâtre (selon l'âge du gris clair au roux, beige ou verdâtre) avec des rayures et des taches de couleur gris foncé ou marron. Les motifs sont généralement plus foncés chez les juvéniles et s'éclaircissent avec l'âge. Le patron dorsal est constitué de macules irrégulières brunes, bien délimitées. Ces macules sombres sont cernées d'un étroit halo pâle contrastant avec la coloration de fond. Le dessus de la tête, lisse, est orné d'un bandeau inter-orbital clair bien délimité et le rostre est arrondi. L'extrémité des doigts et des orteils est verte à bleue (Dewynter *et al.*, 2016).

Figure 33 : Éléments de diagnose des *Trachycephalus resinifictrix* (Dewynter et al., 2016)

a) Les deux différents types de livrées



b) Éléments de diagnose

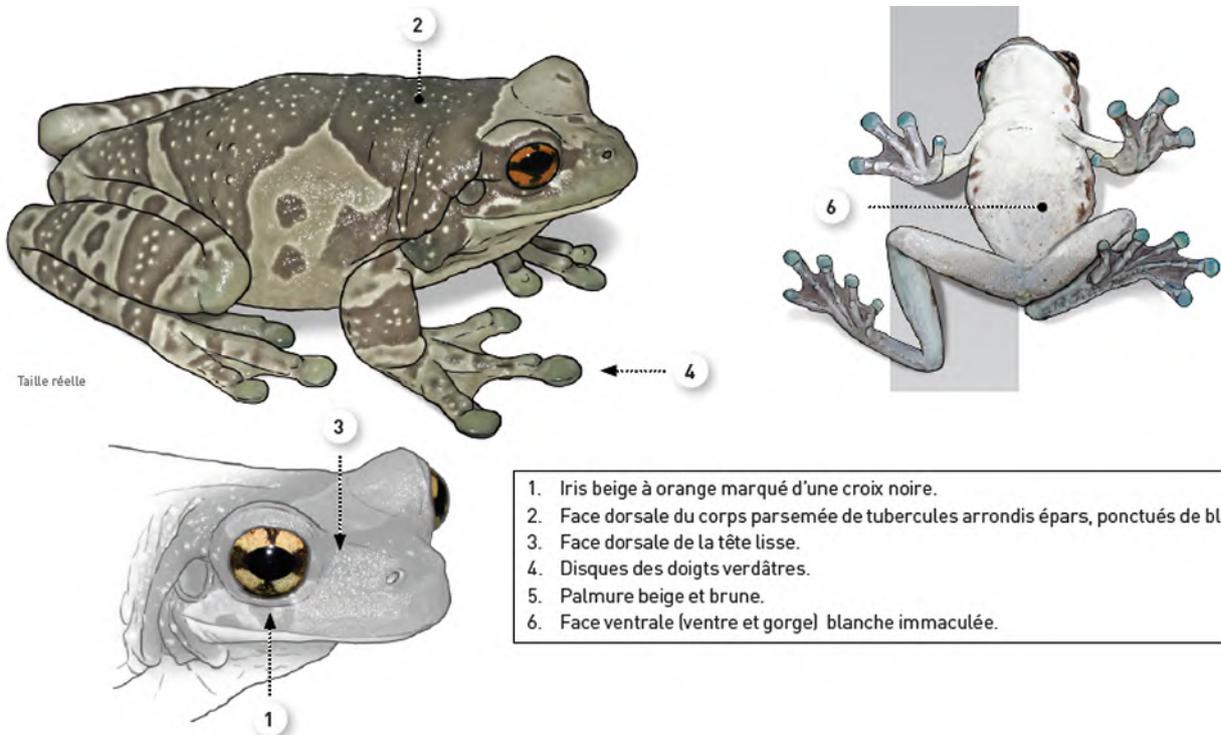


Figure 34 : Changement morphologique et développement des patrons de couleurs chez *Trachycephalus resinifictrix* (Mignet, 2015)

➤ A) Immédiatement après métamorphose



➤ B) À un mois d'âge



➤ C) À un an d'âge



Les individus nouvellement métamorphosés mesurent entre 1 et 1,5 cm. Ils arborent une coloration marron foncé à gris foncé (Figure 34, A). Les membres thoraciques et pelviens sont tachetés de blanc et la croix de l'iris est déjà visible. Trois mois après l'éclosion soit environ 1 mois après la métamorphose, certains juvéniles mesurent entre 1,5 et 2 cm de long (du rostre au cloaque). À ce stade, la coloration blanche des membres apparaît sur le dos des juvéniles. Des bandes gris foncé et des taches gris clair se développent sur un fond blanc (Figure 34, B). Les grenouilles d'un an ressemblent aux adultes et mesurent entre 5 et 5,5 cm (Figure 34, C). La surface dorsale initialement gris-marron se couvre de petites pustules. Le bout des doigts est bleu-vert. Les barres transversales sur les membres sont grises avec des nuances marron foncé (Mignet, 2015).

Les morphologies des mâles et femelles sont très semblables mis à part la taille : les secondes peuvent atteindre les 86-100 mm (du nez au cloaque), tandis que les premiers mesurent en moyenne 65 à 77 mm. Les sacs vocaux latéraux des mâles sont bien visibles en période de reproduction et leur permettent de vocaliser de façon très sonore. Ils possèdent également des tampons nuptiaux à l'intérieur des doigts I qui deviennent très apparents lors de la saison de reproduction (Tapley et Bradfield, 2008 ; Mignet, 2015 ; Dewynter *et al.*, 2016).

Chapitre II : Biologie de la peau des amphibiens

I - Biologie de la peau

A. Généralités

Le tégument des amphibiens est de loin l'un des organes les plus importants pour leur écophysiologie. La peau a un rôle de protection mais constitue également un organe sensoriel à part entière. Elle est fondamentalement impliquée dans la thermorégulation et l'homéostasie hydro-électrolytique ; elle contribue à la reconnaissance des sexes et à la reproduction (Helmer et Whiteside, 2005).

La peau, généralement luisante, est nue, lisse ou verruqueuse, et n'a donc pas de protection mécanique de type phanères, mais elle est recouverte de mucus sécrété par les glandes muqueuses réparties à sa surface (Mouret, 2001).

Les grenouilles possèdent des adaptations uniques de leur tégument leur permettant de vivre dans les milieux aquatiques comme terrestres. La peau est une interface entre le milieu interne d'un individu et l'environnement extérieur, continûment exposée à de nombreux perturbateurs environnementaux, dont des agents pathogènes. C'est un organe clé de la réponse immunitaire innée constituant une barrière physique, chimique, immunologique et microbiologique vis-à-vis des agressions extérieures. La peau sophistiquée des amphibiens présente des adaptations spécialisées nécessaires à de nombreuses fonctions physiologiques comme le transport ionique, la respiration, la régulation de la volémie, le stockage des ressources et la thermorégulation, tout en maintenant le rôle primordial de barrière sélective. Elle dispose d'un système glandulaire très développé mais aussi d'une capacité qui la distingue de la peau des autres vertébrés à savoir la guérison de plaies profondes touchant le derme sans formation de cicatrice, avec une régénération complète de toutes les glandes atteintes (Varga *et al.*, 2019).

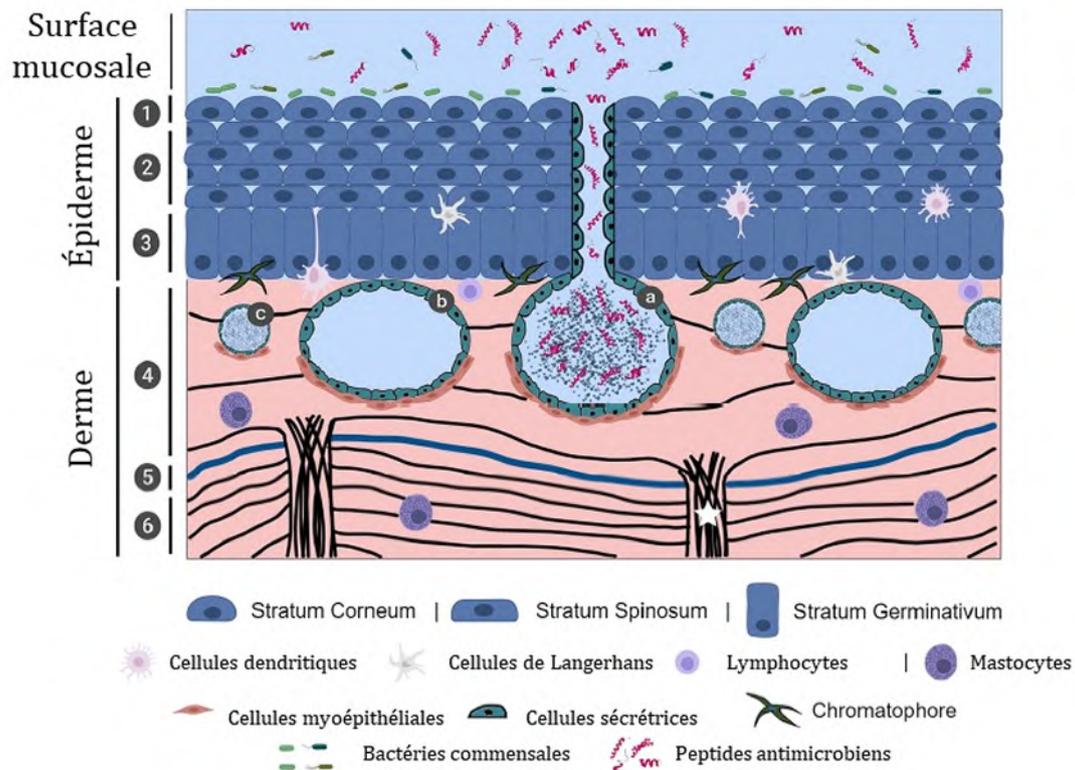
Le maintien de l'intégrité cutanée est primordial pour la santé globale de la grenouille, tant pour le bon déroulement des processus physiologiques que dans la défense contre les agents pathogènes. En fonction des espèces, la peau contribue plus ou moins à l'absorption hydrique, la respiration, les échanges thermiques, le camouflage et à la dissuasion vis-à-vis des prédateurs. Cependant, la peau des amphibiens est particulièrement vulnérable aux traumatismes cutanés en raison de sa finesse et de sa nature perméable, qui sont des caractéristiques nécessaires au support de nombreux processus physiologiques. Ainsi, la peau des amphibiens constitue la première ligne de défense contre les agents pathogènes qui peuvent en retour altérer la fonction cutanée et/ou causer des maladies cutanées ou systémiques, à l'origine d'une interruption des fonctions physiologiques puis de la mort des animaux. En plus de la réponse immunitaire innée basale, les amphibiens possèdent un système glandulaire sous-cutané leur permettant de produire pléthore de substances antimicrobiennes et toxiques, leur conférant des moyens de défense supplémentaires contre les agents pathogènes et les prédateurs (Figure 35) (Varga *et al.*, 2019).

B. Organisation de la peau

La peau des amphibiens est constituée d'une fine couche externe, l'épiderme, dépourvue de structures kératinisées comme des écailles, des poils ou des plumes. Les quelques couches de cellules épidermiques sont séparées du derme par une fine membrane basale (Pasmans et Martel, 2019a).

On note également que la peau du crâne de certains anoures, comme les bufonidés, est solidaire aux os membranaires du crâne, tandis qu'il y existe de petits os intradermiques chez certaines grenouilles comme *Phyllomedusa bicolor* (Wright, 2001a).

Figure 35 : Schéma de l'organisation et des barrières immunitaires physiques, chimiques, cellulaire et microbiologique de la peau d'une grenouille (Varga *et al.*, 2019).

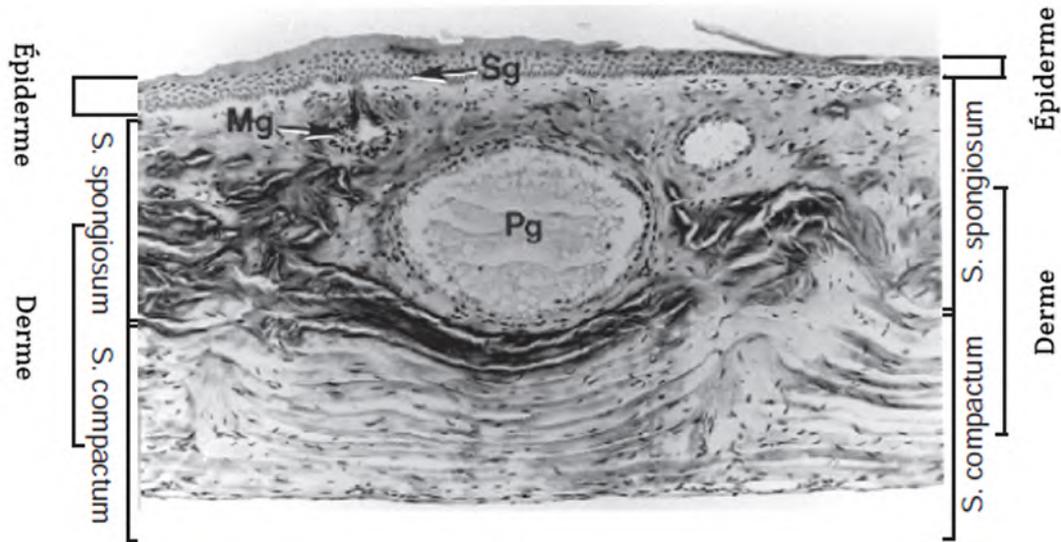


La peau des anoures est composée d'un épiderme et d'un derme. L'épiderme comprend trois couches de cellules épithéliales stratifiées et squameuses : le *stratum corneum* (1), le *stratum spinosum* (2) et le *stratum germinativum* (3). Le derme est constitué de tissu conjonctif formé par des fibres de collagènes (flèches noires) et se divise en deux couches : le derme spongieux (4) et le derme compact (6), connectés par des colonnes de collagènes (étoile blanche). Chez les anoures terrestres, la couche de Eberth-Kastschenko (5, ligne bleue épaisse) sépare les deux couches dermiques. On retrouve les glandes au sein du derme, dont les glandes granuleuses (a), les glandes muqueuses (b) et de petites glandes mixtes (c) qui sécrètent de nombreux composés dont le mucus et les peptides antimicrobiens. Les bactéries commensales retrouvées à la surface de la peau contribuent à la formation d'une barrière microbiologique.

1) Épiderme

Les différentes couches de l'épiderme des mammifères sont bien définies en raison de son épaisseur tandis que celui des grenouilles est relativement fin, dans lequel on ne distingue en général que le *stratum corneum* qui est la couche la plus externe, le *stratum spinosum*, composé de cellules différenciées qui forment la couche intermédiaire, et le *stratum germinativum*, directement en contact avec le derme (Figure 36) (Varga *et al.*, 2019).

Figure 36 : Coupe transversale de la peau ventrale de *Rhinella marina* (Vitt et Caldwell, 2013a, modifié).



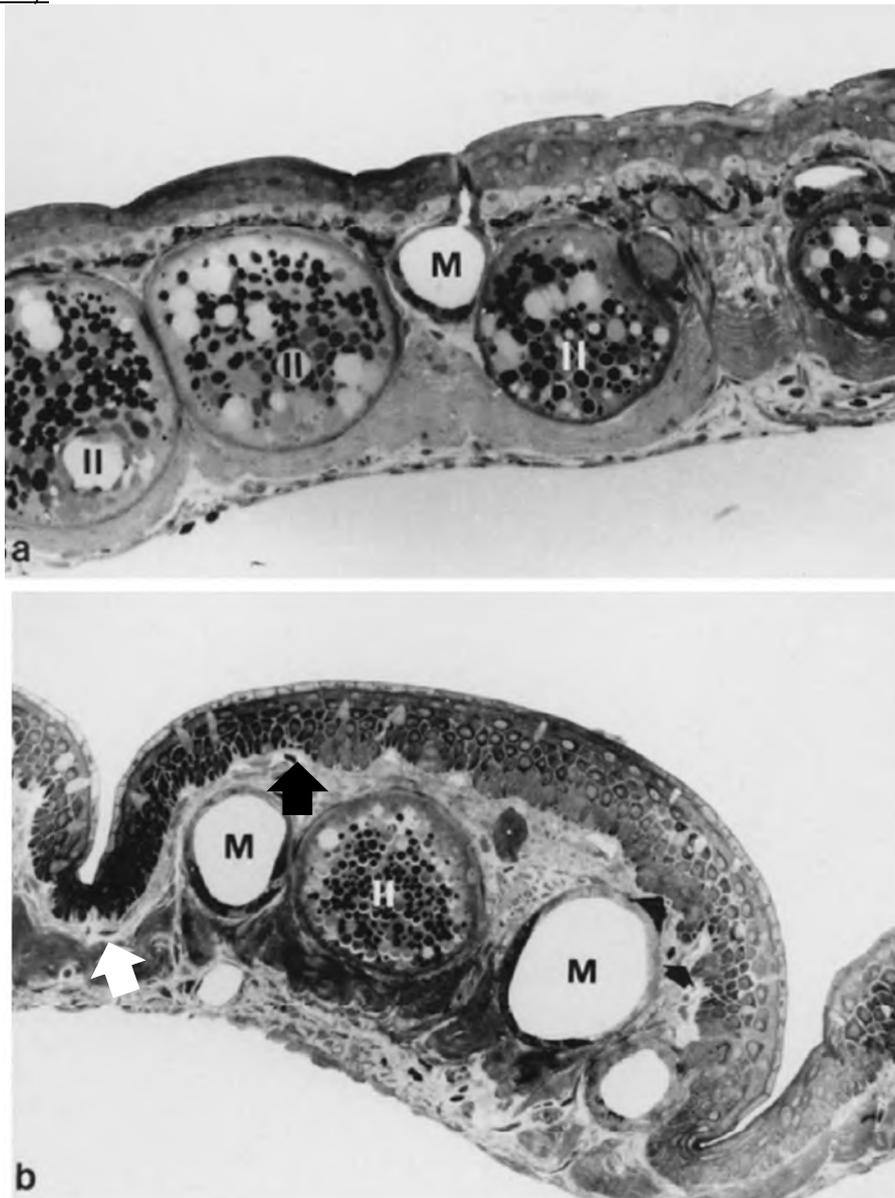
Mg, glandes muqueuses ; *Pg*, glandes granuleuses ; *Sc*, stratum compactum, *Sg*, stratum germinativum, *Ss*, stratum spongiosum.

Le *stratum corneum* est généralement constitué d'une seule couche de cellules kératinisées chez la plupart des espèces. La couche superficielle de l'épiderme est remplacée périodiquement lors des mues, dans le cadre d'un renouvellement cellulaire, et la plupart des amphibiens en consomment le produit. La couche germinative, qui compte de quatre à huit couches cellulaires, est le lieu de la régénération épidermique. Elle contient différents types de cellules dont des cellules épithéliales, des cellules immunitaires et des chromatophores qui confèrent aux grenouilles leurs pigmentations particulières (Helmer et Whiteside, 2005 ; Mylniczzenko, 2009 ; Varga *et al.*, 2019).

Bien que l'épiderme assure une certaine protection vis-à-vis des substrats abrasifs, il peut être facilement endommagé si l'animal n'est pas manipulé correctement ou s'il se retrouve en contact avec des substrats inappropriés. Les dommages qui en résultent, même en cas de blessures d'apparence mineure, peuvent avoir des conséquences sérieuses car la barrière contre les microorganismes opportunistes ne sera plus intègre (Helmer et Whiteside, 2005).

L'étude menée par Goniakowska-Witalińska et Kubiczek (1998) sur la Rainette verte *Hyla arborea arborea* a permis de caractériser la structure de la peau d'une espèce arboricole. L'épithélium de la peau situé en partie dorsale est lisse et d'épaisseur relativement homogène. Il mesure entre 16,3 et 33 μm (avec une moyenne à 23,3 μm). *A contrario*, la peau ventrale est ondulée avec des « crêtes et des sillons » (Figure 37). L'épaisseur totale de la peau y varie en moyenne de 171 μm au niveau des reliefs à 69 μm au niveau des sillons. Il y a le même nombre de couches cellulaires sur les parties dorsale et ventrale du tégument. L'épaisseur de l'épiderme au niveau des crêtes varie de 31,4 à 106 μm et de 3,7 à 49,6 μm au niveau des creux.

Figure 37 : Coupes histologiques de la peau d'une rainette arboricole (Goniakowska-Witalińska et Kubiczek, 1998).



a) Coupe transversale de la peau en région dorsale (Grossissement x 380). On observe trois couches de cellules à pigments sous l'épithélium. Il y existe deux types de cellules glandulaires au sein du tissu conjonctif dermique : les petites glandes muqueuses (M) et les grandes glandes séreuses de type II (II). Sous les glandes, on observe une couche de fibres de collagène et une fine couche sous-épidermique.

b) Coupe transversale de la peau en région ventrale (Grossissement x 330). Les glandes muqueuses (M) et les glandes séreuses (II) sont retrouvées uniquement au sein des zones en relief (crêtes). La couche ventrale de l'épithélium est ondulée par la présence de vaisseaux sanguins (flèche noire) invaginés au sein de l'épithélium. Au sein des sillons, l'épithélium et le tissu conjonctif forment une structure beaucoup plus fine comprenant des vaisseaux (flèche blanche).

2) Derme

Le derme est richement vascularisé et se divise en deux couches distinctes, le derme papillaire superficiel (*stratum spongiosum*) et le derme réticulaire profond (*stratum compactum*) (Figure 35). Le premier est composé d'un tissu conjonctif lâche tandis que le second est constitué d'une série de fibres

de collagènes entremêlées entre elles et avec de la fibronectine. Les fibroblastes, produisant les fibres de collagènes à l'origine du tissu conjonctif, sont fondamentaux dans l'ancrage de l'épiderme et du derme à l'hypoderme (Varga *et al.*, 2019).

On retrouve également au sein du *stratum spongiosum* des couches de cellules pigmentées avec les glandes se situant sous ces dernières (Goniakowska-Witalińska et Kubiczek, 1998).

Dans l'étude menée Goniakowska-Witalińska et Kubiczek (1998), le *stratum spongium* de la partie ventrale de la peau est plus développé au niveau des crêtes alors qu'il est extrêmement réduit au niveau des sillons (Figure 36). L'épaisseur du *stratum compactum* est constante sur l'ensemble de la surface cutanée. Sur la peau en partie dorsale, on retrouve trois couches de cellules à pigments : les xanthophores et les iridophores, qui sont des cellules à cytoplasme clair, ainsi qu'une troisième couche composée de mélanophores. Sur la peau en partie ventrale, il n'y a que les deux couches de cellules à pigments clairs, les mélanophores étant absents au niveau du *stratum spongiosum* et les glandes ne sont présentes qu'au niveau des crêtes (Figures 36 et 37).

Une des particularités du derme des amphibiens adultes terrestres est la couche d'Eberth-Katschenko séparant le derme papillaire du derme réticulaire (Figure 37). Cette couche acellulaire est exclusivement composée de glycosaminoglycanes et de glycoconjugués où l'acide hyaluronique et le sulfate de dermatane ont été décrits comme étant des constituants essentiels chez de nombreuses espèces. L'acide hyaluronique et les molécules apparentées de la couche de Eberth-Katschenko sont majoritairement retrouvés sur la peau de la partie dorsale des amphibiens. Les molécules d'acide hyaluronique permettent de réduire la déshydratation grâce à leur capacité à retenir l'eau, notamment lorsque les amphibiens prennent des bains de soleil. De plus, de grosses fibres de collagènes s'étendent depuis l'hypoderme vers le derme papillaire, sans affecter l'intégrité du derme profond, et permettent un ancrage des différentes couches de la peau. L'ensemble est renforcé par des hémidesmosomes qui assurent la liaison des filaments cytosquelettiques de l'épiderme aux fibrilles de collagènes dermiques (Varga *et al.*, 2019).

Trois types de chromatophores sont responsables de la coloration de la peau, en plus des glandes spécialisées, et sont retrouvés dans le *stratum spongiosum*. Contrairement aux deux autres ordres d'amphibiens, chez les anoures, il n'y a pas de liaisons fortes entre le *stratum spongiosum* et les tissus sous-jacents, créant ainsi un espace sous-cutané dans lequel les fluides injectés en sous-cutané peuvent s'accumuler. Cela explique pourquoi les anoures peuvent sembler œdématisés suite à un stockage physiologique d'eau ou lors d'un processus pathologique (Helmer et Whiteside, 2005).

Le derme est également constellé d'une grande quantité de glandes muqueuses et séreuses.

3) Glandes

Les amphibiens possèdent une grande variété de glandes au sein du derme papillaire qui permettent la réalisation de fonctions physiologiques vitales telles que la respiration, le transport ionique, les échanges hydriques et participent au bon fonctionnement du système immunitaire ainsi qu'à la défense contre les prédateurs. Il s'agit en majorité de glandes muqueuses et granuleuses (Tableau 3).

Noble (1931) rapporte au moins l'existence de ces deux types glandes chez tous les amphibiens. Ces deux types sont exocrines et relarguent le contenu de leurs granulations par contraction des cellules myoépithéliales à la faveur d'un stimulus spécifique. Les glandes muqueuses réagissent à la moindre stimulation tandis que les sécrétions laiteuses des glandes granuleuses, bien plus toxiques, nécessitent souvent une pression ou une blessure (Noble, 1931). Bien que le mécanisme moléculaire précis ne soit pas encore bien compris, des études ont montré qu'une stimulation électrique, une injection de noradrénaline dans les sacs lymphatiques dorsaux ou la chasse d'une

grenouille dans un seau pendant 5 à 10 min, stimulaient le relargage du contenu de ces glandes (Varga *et al.*, 2019).

Tableau 3 : Fonctions et caractéristiques des principales glandes retrouvées chez les anoures (Goniakowska-Witalińska et Kubiczek, 1998 ; Mouret, 2001 ; Rollins-Smith et Conlon, 2005 ; Vitt et Caldwell, 2013a ; Ramsey *et al.*, 2010 ; Rollins-Smith *et al.*, 2011 ; Varga *et al.*, 2019 ; Clairambault *et al.*, 2021).

Type de glandes	Type de sécrétion	Fonctions	Localisation et caractéristiques morphologiques
Glandes muqueuses	Mucus (mucine glycosylée, mucopolysaccharides).	Maintien de l'humidité, de la perméabilité et de l'élasticité de la peau (homéostasie). Rapprochement des sexes et locomotion chez les rainettes arboricoles.	Espèce-dépendantes. Parties dorsales et ventrales. Relativement petites par rapport aux autres glandes mais plus nombreuses : il y a environ 10 glandes muqueuses pour chaque glande granuleuse. 42 à 94,4 µm de diamètre. Chaque glande est entourée de fibres musculaires lisses.
Glandes granuleuses	Molécules bioactives avec un large spectre antibiotiques (PAMs). Alcaloïdes toxiques.	Défense et dissuasion vis-à-vis des prédateurs. Propriétés antiseptiques et antibiotiques. Odorantes : rôle dans la reconnaissance des sexes. Participe à la production de protéines et de peptides (immunoglobulines, lysozymes, neuropeptides et peptides de la peau etc.)	Distribution et densité similaires à celle des glandes muqueuses. Plus nombreuses en face dorsale qu'en face ventrale. Concentrées au niveau de la tête, épaules, et des membres pelviens. Absence de fibre musculaire lisse autour des glandes.

Les modalités de sécrétion des glandes dépendent de l'espèce.

En général, les grenouilles terrestres et les espèces s'exposant au soleil sécrètent du mucus à un rythme constant afin de faciliter les échanges thermiques et les équilibres hydriques tandis que les grenouilles arboricoles, aquatiques et nocturnes n'expérimentent pas le même niveau de pertes hydriques par évaporation : le maintien de l'humidité de la peau dépend davantage de l'environnement. *Xenopus laevis* et *Xenopus tropicalis* sont des exceptions car, bien que vivant majoritairement en milieu aquatique, ces grenouilles conservent une couverture de mucus permanente. Le volume de mucus produit et sécrété sur la peau, ainsi que l'exacte concentration des éléments le composant restent encore difficiles à déterminer (Varga *et al.*, 2019).

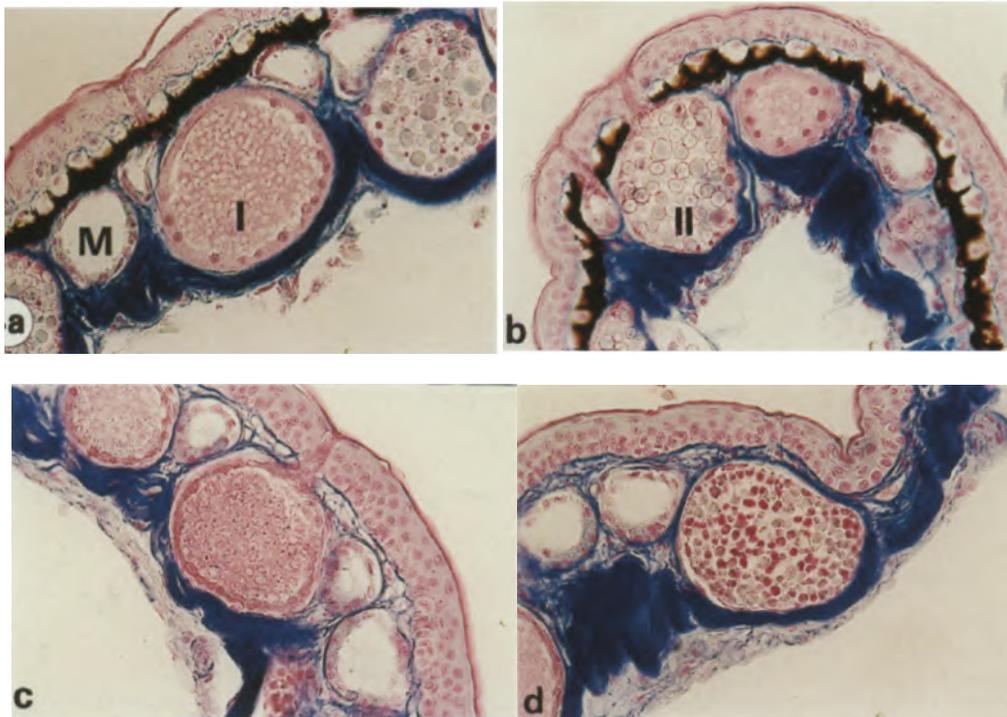
Les glandes muqueuses localisées au niveau de la couche supérieure du *stratum spongiosum* de la partie dorsale de la peau sont caractérisées par des conduits intra-épidermiques courts tandis que ceux de la peau ventrale peuvent être très longs (aussi grands que ceux des glandes granuleuses) et parfois être retrouvés jusqu'au *stratum compactum*. Les glandes muqueuses sont très nombreuses au niveau des parties ventrales de la peau (Figure XX). Elles sont entourées par une fine couche de fibres musculaires lisses (Goniakowska-Witalińska et Kubiczek, 1998).

Les glandes granuleuses, qui incluent de petites glandes mixtes et d'autres types de glandes granuleuses spécialisées, contiennent des molécules bioactives intervenant dans la défense de l'hôte et contre les prédateurs. Les glandes granuleuses, ainsi que leurs composants, sont les plus étudiées parmi les glandes cutanées des amphibiens en raison de la richesse des biomolécules qu'elles sécrètent, à savoir des peptides antimicrobiens et des alcaloïdes toxiques. Elles peuvent sécréter des

fluides séreux ou des substances toxiques, et sont alors aussi appelées des glandes séreuses, glandes parotoïdes ou glandes à venin (Varga *et al.*, 2019).

Goniakowska-Witalińska et Kubiczek, (1998) ont décrit deux types de granules en fonction de leur taille (Figure 38).

Figure 38 : Coupes histologiques de la peau d'une rainette arboricole en partie dorsale (a, b) et ventrale (c, d), grossissement x 300 (Goniakowska-Witalińska et Kubiczek, 1998).



a) Glande séreuse de type I (I) entourée de petites glandes muqueuses (M). Les glandes de type I contiennent des petits granules rose clair et sont tapissées d'une seule couche de cellules. Sous l'épithélium, on trouve une couche de cellules à pigments clairs et des mélanophores colorés en noir. La couche de fibres de collagènes ondulés est colorée en bleu foncé.

b) Glandes séreuses de type I (I) et II (II) remplies de gros granules sécrétoires.

c) Glande séreuse de type I entourée de petites cellules muqueuses contenant des sécrétions amorphes. On peut noter l'absence de cellules à pigments.

d) Glande séreuse de type II contenant de gros granules fixant la coloration de façon différente.

Les glandes mixtes sont un type de glandes granuleuses qui contiennent des molécules biologiquement actives ou du mucus mais semblent réparties de manière plus homogène à la surface de la peau. D'autres types de glandes spécialisées ont été identifiées chez certaines espèces de grenouilles avec de nombreuses autres caractéristiques ions telles qu'une capacité de stockage des granulations plus importante, une sécrétion de lipides ou la synthèse de sécrétions malodorantes visant à dissuader les prédateurs. La diversité des glandes, que ce soit en termes de types ou de compositions chimiques des sécrétions, varie avec l'espèce et le stade de développement de l'individu (Varga *et al.*, 2019).

Les glandes granuleuses sont souvent pustuleuses et se regroupent parfois pour former d'énormes glandes, les glandes parotoïdes, retrouvée à l'arrière de la tête des crapauds (Figure 39). En l'absence des dispositifs anatomiques nécessaires, il n'est ni projeté ni inoculé et constitue seulement un moyen de protection passif contre les prédateurs (Demori *et al.*, 2019 ; Clairambault *et al.*, 2021).

La dangerosité du venin est variable selon les espèces mais peut se révéler très toxique s'il est ingéré. Les couleurs aposématiques jouent un rôle d'avertissement. Ces venins sont essentiellement des protéines qui provoquent des troubles digestifs, nerveux, cardiaque et respiratoires, parfois mortels (Mouret, 2001).

Figure 39 : Photographie montrant les glandes parotoïdes hypertrophiées de *Rhaebo guttatus*. Les sécrétions des glandes parotoïdes sont toxiques. (Vitt et Caldwell, 2013a, modifié).



En plus du mucus et des peptides secrétées par les glandes séreuses, une grande diversité de bactéries et de métabolites d'origine bactérienne, composant le « mucosome », est retrouvée sur la peau des amphibiens (Woodhams *et al.*, 2014 ; Smith *et al.*, 2018).

Chaque espèce d'amphibien produit sa propre combinaison de peptides avec des séquences bien définies. Depuis 2015, plus de 2 000 peptides ont ainsi été caractérisés.

En plus de leurs activités antimicrobienne et antifongique, les peptides cutanés possèdent d'autres effets biologiques et peuvent être divisés en plusieurs catégories. À titre d'information, on peut citer les peptides opioïdes, le peptide corticotrope, l'angiotensine, les peptides inhibiteur de protéase, les neuropeptides, les peptides anti-oxydants, les lectines, les peptides insulinothropes, les peptides entraînant la dégradation des mastocytes et le relargage d'histamine, les peptides favorisant la guérison des plaies, les peptides immunorégulateurs, les peptides antimicrobiens, les peptides antiviraux, les peptides antitumoraux, les peptides antiparasitaires, les phéromones... (Demori *et al.*, 2019).

4) Cellules du système immunitaire

Bien que peu étudiées, des cellules du système immunitaire tégumentaire ont été identifiées chez les amphibiens. On retrouve des cellules semblables aux cellules dendritiques des mammifères entre les cellules épidermiques de *Rana catebeiana*, *Rana pipiens* et *Xenopus laevis*. Les mastocytes jouent un rôle important dans la réponse inflammatoire et antiparasitaire par dégranulation des composés stockés dans leurs vésicules de sécrétions (comme l'histamine) et ont été identifiés dans la peau de *Rana catebeiana*. De manière plus occasionnelle, la présence de macrophages et de lymphocytes a aussi été décrite dans une peau saine. Cependant, lors d'un traumatisme, les cellules immunitaires circulantes sont recrutées sur le site. Bien que les lymphocytes T ne semblent pas être présents dans la peau des grenouilles étudiées jusqu'à présent, des études sur des allogreffes de peau ont montré que les lymphocytes T cytotoxiques étaient en mesure d'infiltrer la peau des grenouilles et de médier un rejet des tissus du non-soi, expliquant la conservation de l'immunité adaptative ainsi que le rejet des allogreffes de la même manière que chez les mammifères. De plus, les lymphocytes B sont également capables d'infiltrer la peau des grenouilles lors de greffe cutanée de *Xenopus tropicalis* vers *Xenopus laevis* (Varga *et al.*, 2019).

Les cellules de Merkel sont des cellules neuroendocrines d'origine épidermique situées dans ou juste au-dessus de la couche basale. Elles sont retrouvées chez les larves et les adultes, et sont reliées chacune à une unique fibre nerveuse myélinisée mécanosensible. Pourtant, les études suggèrent qu'elles n'auraient pas un rôle de transducteur des *stimuli* mécaniques, le rôle de la fonction synaptique reste donc encore à déterminer (Whitear, 1989 ; Helmer et Whiteside, 2005).

5) Phanères

Les amphibiens ne possèdent pas d'écaillés ou de griffes mais certaines espèces possèdent des structures épidermiques modifiées, fortement kératinisées, ressemblant à une griffe comme le Xénope (*Xenopus laevis*).

6) Vascularisation

Au niveau de la surface cutanée dorsale, les vaisseaux passent au niveau du *stratum spongiosum*. De différents diamètres, ils cheminent près des glandes, juste sous la couche de cellules pigmentées. Les plus gros d'entre eux sont aussi présents au niveau du tissu sous-cutané. La peau de la partie ventrale contient également de nombreux vaisseaux. Les plus gros sont retrouvés dans le *stratum spongiosum* au sein des sillons dermiques et près des glandes. D'autres vaisseaux sont localisés dans la couche sous-cutanée près des nerfs. La présence de vaisseaux au sein de l'épiderme de certaines espèces est aussi à relier à la fonction de respiration cutanée (Goniakowska-Witalińska et Kubiczek, 1998).

II - Fonctions de la peau

La peau des amphibiens présente la particularité d'assurer diverses fonctions comme la respiration, l'osmorégulation, ainsi que dans une moindre mesure, la thermorégulation, en plus de sa fonction de protection physique vis-à-vis de l'environnement extérieur (Duellman et Trueb, 1994).

Pour les amphibiens, un corps de petite taille est synonyme d'échanges thermiques potentiellement plus intenses mais aussi de pertes d'eau plus marquées en raison de leur ratio surface/volume plus important.

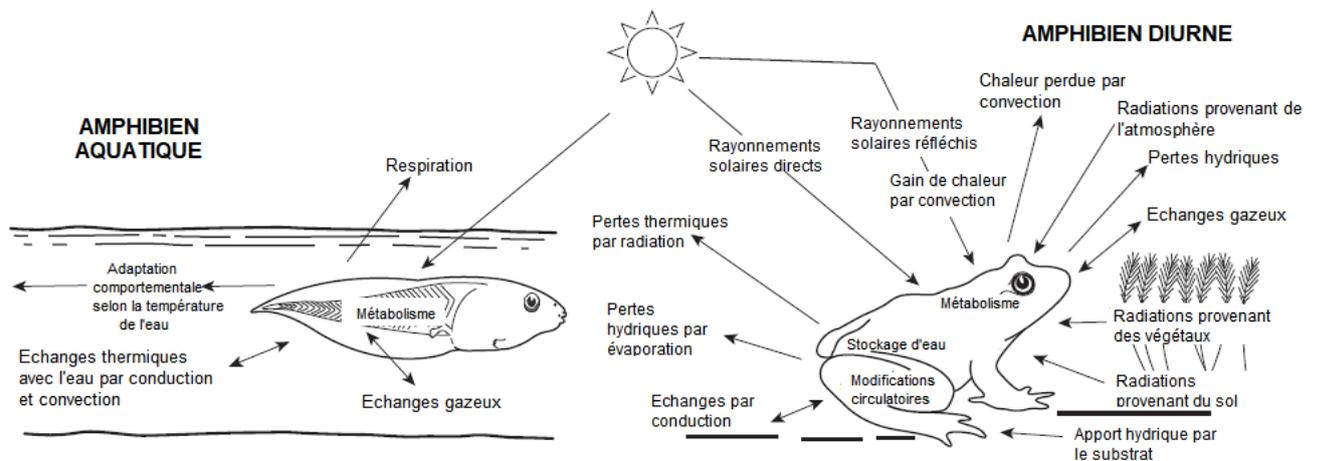
A. Thermorégulation et échanges thermiques avec l'environnement

La thermorégulation va dépendre d'un certain nombre de facteurs, dont l'espèce, l'âge, la saison. Elle est fondamentale pour garantir un fonctionnement métabolique optimal. La température corporelle optimale varie également en fonction des processus métaboliques et ne sera pas la même, par exemple, pour garantir une digestion satisfaisante ou pour la gamétogénèse.

La physiologie, le comportement, la pathologie et les thérapies sont tous influencés par la température, c'est pourquoi il est important de maintenir les individus dans une ambiance coïncidant avec leur zone de températures préférentielles pour garantir une homéostasie métabolique conforme à leurs besoins. En effet, des amphibiens maintenus à une température excessive peuvent manifester des signes d'anorexie, d'amaigrissement, d'agitation, des changements de la couleur de la peau et une immunosuppression. Les individus soumis à une température trop basse vont développer une anorexie, un abattement, un gonflement abdominal, associés à une croissance bactérienne consécutive à une mauvaise digestion, une croissance altérée ou présenter des troubles de l'immunité (Helmer et Whiteside, 2005).

Les échanges thermiques avec l'environnement (Figure 40) se font par radiation, convection et conduction. L'organisme reçoit de l'énergie radiée par le soleil directement ou indirectement et de la chaleur au contact de substrats et de l'air. Les rayons sont plus ou moins absorbés ou réfléchis par les surfaces et la plupart des organismes peuvent modifier les propriétés réfléchives de leur surface par changement de couleur. Les surfaces sombres sont plus fortement absorbantes et les surfaces claires réfléchives. La couleur et les motifs d'un animal, ainsi que sa capacité à changer de couleur reflètent un équilibre entre les besoins thermiques, la manifestation des caractères sexuels secondaires et l'intérêt du camouflage (Vitt et Caldwell, 2013e).

Figure 40 : Différents échanges ayant lieu entre les amphibiens et leur milieu de vie, adapté de Brattstrom, 1979 (Vitt et Caldwell, 2013e, modifié).



Comme vu précédemment (cf Partie I.B.4.v.), le principal mécanisme de thermorégulation est d'abord comportemental.

Un autre mécanisme essentiel de thermorégulation est basé sur la vasodilatation et la vasoconstriction périphériques permettant de réguler la température corporelle centrale, souvent en conjonction avec les sécrétions glandulaires qui rendent possible un refroidissement de la température corporelle par évaporation chez certaines espèces (Figure 40).

Le changement de couleur de la peau module l'absorption de l'énergie solaire. Les mélanophores cutanés régulent ainsi la distribution de la mélanine. De cette manière, une peau devenue claire aura tendance à réfléchir davantage les rayonnements et donc à diminuer l'absorption de la chaleur durant la photopériode. De plus, certains anoures possèdent une très grande réflectivité de la peau pour les longueurs infrarouges (700-900 nm) grâce à leurs iridophores, ce qui permet de réduire significativement les gains de chaleurs par radiation.

B. Peau et maintien de l'homéostasie hydrique

La peau des amphibiens étant perméable, leurs pertes hydriques par évaporation sont bien supérieures à celles des autres vertébrés terrestres.

Les modifications morphologiques de la peau des amphibiens contribuent à l'absorption d'eau. Les différentes régions du corps possèdent un degré de perméabilité différent. En général, les amphibiens aquatiques, semi-terrestres vivant près des cours d'eau, telles que *Lithobates* et *Rana*, ou en forêts tropicales comme *Leptodactylus* et *Dendrobates*, possèdent une peau ventrale lisse, tandis que les espèces terrestres auront une peau ventrale granuleuse. Cette dernière étant plus richement vascularisée, permettra une plus grande absorption d'eau. De plus, les rainures présentes à la surface des peaux granuleuses (en particulier chez les crapauds) retiennent l'eau et la maintiennent en région dorsale. La région de la plaque pelvienne (« drinking patch »), particulièrement vascularisée, se situe au niveau de la région coelomique caudo-ventrale et en région ventrale des cuisses de nombreuses espèces d'anoures (Figure 41). En apposant cette région sur une surface humide telle qu'un sol ou des feuilles, une grenouille peut rapidement absorber l'eau présente par contact. Ce mécanisme permet d'apporter plus de 70-80 % des apports hydriques chez certaines espèces. Des lésions ou des ruptures de solution au niveau de la peau, une altération de ses fonctions par des maladies entraînent une perte d'homéostasie et la mort (Vitt et Caldwell, 2013d ; Durso et Maerz, 2019).

Figure 41 : Photographie d'une grenouille *Anaxyrus punctatus* (Bufonidés) sur une vitre montrant l'absorption hydrique par le patch pelvien. Photo de L. J. Vitt et J. P. Cadwell, tirée de Vitt et Caldwell (2013d).



En plus des comportements spécifiques adaptés par les anoues pour limiter la perte d'eau (cf Partie I.B.4.v.), certaines espèces ont développé des modifications cutanées permettant une réduction de la perte hydrique.

De nombreux groupes de grenouilles arboricoles, dites « étanches (waterproof) », présentent des mécanismes spécialisés leur permettant de survivre à des conditions arides, en diminuant la perméabilité de la peau. La sécrétion de lipides (esters cireux) par des glandes spécialisées décrite chez des grenouilles *Phyllomedusa* vivant en Amérique du Sud, existe très probablement chez les autres espèces de rainettes arboricoles. Ces grenouilles adoptent un comportement stéréotypé au cours duquel elles étalent ces lipides de façon uniforme sur le corps à l'aide de leurs membres (Figure 42). La peau devient alors brillante et imperméable à l'eau, réduisant les pertes hydriques cutanées dans leur habitat arboricole. Les déperditions sont réduites à faible température, mais au-dessus de 35°C, la cire s'évapore et ne remplit plus son rôle de barrière. Cependant, dans le cas de *Phyllomedusa sauvagii* vivant en Bolivie, les températures les plus hautes sont enregistrées que lors de la saison des pluies durant laquelle les grenouilles se reproduisent ; la déshydratation n'est donc pas un problème (Vitt et Caldwell, 2013d).

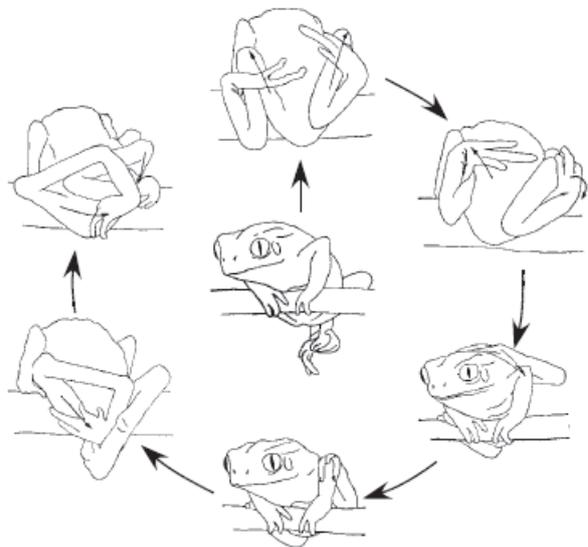


Figure 42 : Illustration de *Phyllomedusa sauvagii* (Hylidés) étalant les sécrétions lipidiques sur sa peau par des mouvements répétés des pattes. Les flèches indiquent les mouvements des pattes (Vitt et Caldwell, 2013c).

D'autres espèces, comme les grenouilles sud-africaines du genre *Chiromantis* et *Hyperolius* vivant dans des milieux semi-arides où la température excède parfois 40°C, limitent leur perte d'eau grâce à la structure particulière de leur couche dermique (Vitt et Caldwell, 2013a).

Toutes les grenouilles possèdent plusieurs types de chromatophores au sein du derme. Cependant, les grenouilles du genre *Chiromantis* présentent de nombreuses couches d'iridophores. Durant la saison sèche, ces derniers augmentent en nombre, envahissant le *stratum spongiosum*. Les iridophores permettent de diminuer la température interne en réduisant l'absorption des radiations, contribuant ainsi à la réduction de la perte hydrique (Vitt et Caldwell, 2013a).

Il faut cependant noter que ces mécanismes de protection sont absents sur la face ventrale des amphibiens. Cette partie de l'abdomen constitue une zone importante d'acquisition de l'eau depuis l'environnement (Helmer et Whiteside, 2005).

Enfin, d'autres espèces de différents taxons (*Litoria* et *Smilisca* de la famille Hyliidés, ou encore, *Ceratophrys* et *Lepidobatrachus* de la famille des Ceratophryidés pour en citer quelques-unes), peuvent aussi former un cocon imperméable afin de survivre à des périodes prolongées de sécheresse. Ce cocon est constitué de nombreuses couches de cellules épithéliales desquamées restant attachées à la peau. À chaque mue, les cellules desquamées laissent place à la nouvelle peau mais fusionnent avec les couches précédentes. Cette protection empêche la respiration cutanée et ne laisse libres que les narines. Les individus s'enterrent souvent lorsque le sol est encore humide puis commencent à former le cocon lorsqu'ils commencent à se déshydrater (Vitt et Caldwell, 2013d).

C. Rôle de la peau comme barrière physique

La peau est sans aucun doute la barrière physique la plus importante entre l'organisme et son environnement. L'intégrité et la perméabilité de la barrière cutanée sont maintenues grâce aux jonctions cellulaires entre cellules épithéliales, parmi lesquelles on retrouve les jonctions serrées (claudines), les jonctions communicantes (connexines), les jonctions adhérentes (cadhérines) et les desmosomes (desmogléines). Toutes les jonctions cellulaires sont nécessaires pour maintenir l'intégrité cutanée. Les jonctions serrées lient les cellules voisines du côté apical entre elles, tandis que les jonctions adhérentes et les desmosomes permettent une stabilisation de l'adhésion cellule-cellule. Les jonctions communicantes forment quant à elles des ponts entre cellules adjacentes pour permettre la communication intercellulaire. Bien que tous les types de jonctions cellulaires aient été identifiées chez les grenouilles à différents stades de développement, les études réalisées se limitent à *Xenopus laevis* et *Rana pipiens* et ne sont donc pas représentatives de toutes les espèces. Chez ces espèces, une perte des jonctions serrées à l'âge adulte, une diminution du rôle des jonctions adhérentes à mesure que la larve s'approche de la métamorphose et l'existence de jonctions communicantes et de desmosomes chez les adultes ont été observées. Les jonctions cellulaires sont indispensables au maintien de l'intégrité de la barrière, et donc à la défense contre les agents pathogènes, en particulier dans le cas des grenouilles dont l'épiderme est très fin. La perméabilité cutanée est aussi permise par la présence de jonctions cellulaires, qui, en réponse aux conditions environnementales, régulent l'expression et la conformation des protéines des jonctions. Les jonctions serrées contribuent au transport de molécules entre les cellules (à travers l'espace intercellulaire et l'épithélium). La présence de microorganismes, commensaux ou pathogènes, déclenche une augmentation de l'expression des gènes codant les protéines des jonctions serrées et permet alors un renforcement de l'immunité cutanée innée. Cependant, une persistance des agents pathogènes conduira à une baisse de cette régulation génomique et à un affaiblissement de cette même barrière. L'interaction entre les jonctions cellulaires et les mouvements d'eau et des ions montre la participation des jonctions serrées dans la capacité de la peau à agir comme une barrière perméable mais sélective chez les grenouilles adultes. Toutefois, les études concernant la régulation de la barrière cutanée en réponse aux *stimuli* environnementaux chez les grenouilles adultes restent encore peu nombreuses (Varga *et al.*, 2019).

La mue est un processus physiologique essentiel contribuant à l'entretien de la peau des amphibiens mais elle est aussi un élément de la réponse immunitaire innée. En effet, elle permet d'éliminer les agents pathogènes de la peau, et sa fréquence peut même augmenter en réponse à certaines infections, probablement afin de limiter la densité infectieuse sur la peau. Cependant, la mue expose également les couches sous-jacentes non kératinisées. Le mécanisme régulant l'intensité de la mue n'est pas élucidé et nécessite des investigations supplémentaires (Varga *et al.*, 2019).

D. Rôle de la peau comme barrière chimique

Les amphibiens métamorphosés sont consommés par de très nombreux vertébrés. Pour échapper à cette prédation, ils ont développé de nombreux moyens de défense : venins, couleurs et formes, comportements spécifiques (ACEMAV *et al.*, 2003).

1) Sécrétions toxiques et venimeuses

Les sécrétions cutanées sont assurées par les glandes muqueuses et séreuses. Les glandes muqueuses ne sont venimeuses que chez certaines espèces et sécrètent avant tout du mucus, composé de mucopolysaccharides, qui entretient l'humidité de la peau et la protège des agressions physiques. Le mucus est filant et peut former une mousse. La sécrétion est plus ou moins continue, mais peut être stimulée en réponse à un stress. Lorsque la sécrétion mucique se double d'une fonction venimeuse, ce « venin muqueux », présente des propriétés irritantes pour les muqueuses (ACEMAV *et al.*, 2003).

Ce sont essentiellement les glandes granuleuses qui vont sécréter du venin, composé d'amines, de peptides et d'alkaloïdes. Une couche de cellules myoépithéliales équipées de récepteurs adrénérgiques entoure les glandes séreuses. Un stress engendre le relargage d'épinéphrine et/ou de norépinéphrine, qui à leur tour, enclenchent la contraction des cellules myoépithéliales, comprimant les glandes séreuses et entraînant le relargage de leur contenu à la surface de la peau (Gammill *et al.*, 2012).

2) Couleur

Les couleurs vives, parfois changeantes, sont générées par les cellules à chromatophores, situées entre le derme et l'épiderme. Elles constituent le support physique des couleurs vives en se regroupant et en se dilatant (Mouret, 2001).

Comme nous l'avons vu précédemment (cf. II.B.1.), les changements de couleurs chez les amphibiens sont en lien avec le camouflage et joue un rôle dans la régulation thermique. Bien que certains amphibiens utilisent des indices colorés comme critère d'évaluation de leur partenaire sexuel, le changement de couleur ne semble pas intervenir dans les interactions sociales (Pasmans et Martel, 2019a).

Pour se protéger contre les prédateurs, la plupart des amphibiens pratiquent le camouflage par mimétisme, adoptant la coloration du milieu environnant, ainsi qu'un comportement favorisant la discrétion. Les espèces qui vivent sur le sol des forêts sont en général brunes, celles dont le mode de vie est arboricole sont vertes, et celles dont les biotopes naturels sont au bord de l'eau arborent une robe chamarrée de tons bruns et verts. Certaines espèces disposent, en plus, de signaux qui avertissent les prédateurs de leur toxicité potentielle : c'est ce qu'on appelle l'aposématisme. Le principe est de promouvoir l'apprentissage du prédateur potentiel vis-à-vis du danger d'empoisonnement par l'exhibition d'un signal très contrasté comme le ventre jaune du Sonneur éponyme (ACEMAV *et al.*, 2003).

E. Rôle de la peau comme barrière microbiologique

1) Peptides antimicrobiens

La peau des grenouilles est la source la plus abondante de peptides antimicrobiens retrouvée sur terre. Cette diversité est remarquable compte-tenu du cycle biphasique des batraciens. Un déficit du tégument en peptides antimicrobiens peut s'avérer délétère, ainsi que démontré chez les adultes *Xenopus laevis* infesté par *Batrachochytrium dendrobatidis*. Cependant, les connaissances concernant leur capacité à exercer une activité antimicrobienne sur les agents pathogènes des grenouilles sont limitées et leur potentielle activité immunomodulatrice demeure complètement inconnue (Varga *et al.*, 2019).

À ce jour, 1 078 peptides antimicrobiens ont été identifiés chez les amphibiens. Ils sont légèrement plus courts que ceux des mammifères, composés de 12 à 46 acides aminés. On retrouve chez les amphibiens des brévinines, des cathélicidines, des dermaseptines, des esculentines, des japonicines, des magainines, des nigrocines, des palustrines, des ranatuerines, des ranalexines, des temporines et des tigerinines. Toutes les classes de peptides antimicrobiens ne sont pas retrouvées chez toutes les espèces. Leur structure primaire est particulièrement importante car elle constitue le support de leur fonction permettant l'interaction de la molécule avec les membranes anioniques des bactéries, champignons, virus et parasites. Le mécanisme par lequel les peptides antimicrobiens interagissent et désorganisent l'intégrité membranaire de leurs cibles est bien étudié. Il est en particulier fortement influencé par la composition lipidique des membranes et met en jeu des flip-flops, des insertions et des délétions transmembranaires. La capacité à synthétiser des peptides antimicrobiens semble conférer un avantage évolutif aux grenouilles mais n'est pas indispensable à leur survie et certaines espèces en sont d'ailleurs complètement dépourvues. Il en est ainsi d'*Eleutherodactylus coqui*, capable de survivre même lorsque *Batrachochytrium dendrobatidis* est retrouvé sur sa peau. Cependant, la découverte des peptides antimicrobiens reposait sur l'identification de fractions actives sur la peau d'amphibiens ou sur des sécrétions cutanées, et en les testant *in vitro* sur des agents pathogènes affectant les humains. Il est donc probable que de nombreux peptides n'aient pas encore été identifiés. Les analyses transcriptomiques des tissus des grenouilles ont montré la puissance de l'approche non ciblée dans l'identification des peptides antimicrobiens et suggère leurs grands nombre et diversité produits par certaines espèces de grenouilles (Varga *et al.*, 2019).

La sécrétion de peptides antimicrobiens par les glandes granuleuses est physiologique et peut être induite en réponse à un stress, une blessure ou une infection. Bien que la quantité de peptides sécrétés soit difficile à quantifier, leurs concentrations dans le mucus de *X. laevis* était de 3 256 µg/mL en conditions physiologiques contre 19 581 et 1 646 µg/mL suite à un stress et une injection de noradrénaline respectivement. Certains facteurs de transcription permettraient le maintien de l'homéostasie mais aussi une production et une sécrétion rapides des peptides antimicrobiens lors de stress, traumatisme ou agression par des agents pathogènes (Varga *et al.*, 2019).

2) Fonctions des peptides antimicrobiens

Les peptides antimicrobiens possèdent une action directe antimicrobienne contre les agents pathogènes des grenouilles.

Les études récentes se focalisent d'autant plus sûr sur ces molécules dans un contexte de maladies émergentes impactant les populations d'amphibiens dans le monde. Ces peptides agissent contre des bactéries telles que *Aeromonas* sp., agents impliqués dans le syndrome des pattes rouges (Red Leg Syndrome). La différence de sensibilité aux peptides antimicrobiens parmi les *Aeromonas* sp. montre qu'il existe une sélection microbienne à l'action antibiotique. Par exemple, *Aeromonas caviae* est très sensible à la dermaseptine-S1 de la *Phyllomedusa sauvagii* à des concentrations inhibitrices minimales très faibles de l'ordre de 0,5-1 µM tandis que certaines souches d'*Aeromonas* telle que *Aeromonas hydrophila* sont résistantes à la dermaseptine-S1. Des bactéries sont complètement réfractaires à l'action de différentes familles de peptides antimicrobiens. Par exemple, les peptides antimicrobiens de *Xenopus laevis* sont incapable d'inhiber la croissance d'*Aeromonas hydrophila* mais s'avèrent très efficaces contre *Citrobacter freundii*, un autre agent causal du Red Leg Syndrome. La magainine-2 seule n'a aucun effet contre *Chryseobacterium meningiosepticum* mais lorsqu'elle est mélangée aux sécrétions cutanées physiologiques de *Xenopus laevis*, elle est capable de réduire la croissance de ce micro-organisme. Cela suggère alors la nécessité d'une synergie d'action pour certains peptides antimicrobiens afin d'être actifs contre certains agents pathogènes (Varga *et al.*, 2019).

La majorité des études scientifiques portant sur les peptides antimicrobiens concernent sans surprise les infections à *Batrachochytrium dendrobatidis*. Si on se base sur les concentrations minimales inhibitrices, les peptides les plus efficaces contre les champignons sont ceux produits par *Xenopus*

laevis et des ranidés tels que *Rana boylei* et *Rana pretiosa*. Par ailleurs, la magainine-2 et la peptide PGLa permettent toutes les deux de réduire efficacement la croissance fongique mais leur effet est encore plus remarquable lorsqu'elles agissent de concert, diminuant fortement les concentrations minimales inhibitrices nécessaires (Varga *et al.*, 2019).

Les peptides antimicrobiens auraient également un rôle antiparasitaire. Un mélange de peptides obtenu sur la peau de *Rana catebaeiana* adultes s'est révélé efficace dans l'inhibition de la viabilité de cercaires (tels que *Alaria*, *Armatae* ou *Ribeiroia*) mais la composition des peptides n'est pas connue (Varga *et al.*, 2019).

3) Les cellules épithéliales comme senseurs microbiens et initiateurs de la réponse immunitaire innée

Les cellules épithéliales sont des contributeurs majeurs de la réaction immunitaire innée par l'usage de récepteurs de reconnaissance de motifs moléculaires (PRR) leur permettant de différencier les microorganismes pathogènes de ceux de la flore commensale en reconnaissant des signatures moléculaires spécifiques aux microorganismes connus sous le nom de motifs moléculaires associés aux agents pathogènes (PAMPs). Les récepteurs de reconnaissance de motifs moléculaires identifient également les motifs moléculaires associés aux dommages (DAMPs) qui sont relargués lors d'un stress cellulaire. La reconnaissance d'un ligand par un PRR active des cascades de signalisations cellulaires qui régulent la transcription des gènes intervenant dans l'inflammation, le chimiotactisme et les fonctions anti-virales. Selon la localisation des cellules épithéliales au niveau de l'interface hôte-environnement, les cellules épithéliales des mammifères expriment divers types de PRR dont des TLRs, RLRs et NLRs afin de reconnaître les microorganismes envahissants et d'initier une réponse immunitaire. Peu d'études se sont intéressées aux PRRs des amphibiens et encore moins aux rôles biologiques de leurs cellules épithéliales. Cependant, il est clair que les cellules du tissu cutané des grenouilles soient en mesure de distinguer les agents pathogènes bactériens, viraux et fongiques, et sont en mesure d'initier une réponse immunitaire innée à travers l'activation de la transcription des gènes codant pour des cytokines pro-inflammatoires et anti-virales ainsi que des peptides antimicrobiens et d'autres protéines du système immunitaire. Les types de cellules et récepteurs impliqués dans la reconnaissance des agents pathogènes ne sont pas encore connus. L'étendue des connaissances actuelles concernant le rôle des cellules épithéliales des grenouilles dans la reconnaissance des microorganismes se base sur l'identification des signatures moléculaires spécifiques au sein du génome des grenouilles, ainsi que sur la conservation supposée de leurs fonctions au cours de l'évolution, elle-même basée sur leur expression limitée au sein du tégument (Varga *et al.*, 2019).

F. Impacts de l'environnement sur la barrière cutanée de l'hôte

La peau nue et semi-perméable des amphibiens est particulièrement sensible à la dessiccation, aux toxines et aux métabolites donc les métabolites azotés (nitrite, ammoniac) pouvant être absorbés dans l'environnement. Cependant, bien qu'il soit admis que les amphibiens sont plus sensibles aux changements environnementaux comme la pollution ou pourraient être utiles en tant qu'indicateurs biologiques, il y a actuellement peu de données montrant qu'ils sont effectivement plus sensibles aux toxiques environnementaux que les autres vertébrés. Les amphibiens semblent même capables de s'adapter à la présence de certaines toxines, et l'association entre les pesticides utilisés dans l'agriculture et le déclin des populations d'amphibiens n'est pas clair (Pasmans et Martel, 2019a).

1) Facteurs abiotiques

La majorité des études portant sur l'impact des facteurs abiotiques sur la peau des amphibiens se sont focalisées sur les peptides antimicrobiens. En effet, la température, la déshydratation, l'éclairage, le pH, le dioxygène et l'altitude ont une influence. Par exemple, une augmentation de la température de 5 à 30°C déclenche la production du peptide brévinine-1SY chez *Rana sylvatica*. Les microorganismes à la surface de la peau peuvent stimuler les PRR présents sur la membrane des cellules épithéliales

déclenchant une cascade de signalisation induisant une transcription des gènes codant les peptides antimicrobiens. Des températures basses chez *Rana sylvatica* peuvent conduire à un arrêt de la production de peptides antimicrobiens. Chez les têtards de *Rana catesbeiana*, l'éclairage et le pH modulent la production et la bioactivité des peptides antimicrobiens. La déshydratation augmente l'expression de la brévinine-1SY dans la peau chez *Rana sylvatica*. D'autres stress environnementaux comme l'anorexie ou le gel accroissent aussi l'activité antimicrobienne de la brévinine-1SY de *Rana sylvatica* contre certaines souches microbiennes. Une diminution de la quantité de dioxygène disponible ou une hypoxie est associée à une augmentation des glandes granuleuses chez *Nanorana parkeri* en partie dorsale de la peau. Ainsi, la régulation des peptides antimicrobiens et la diversité du sécrétome sont complexes mais peuvent être modulés par l'environnement (Varga *et al.*, 2019).

2) Les contaminants chimiques

Des facteurs anthropogéniques comme les pesticides peuvent altérer l'immunité et réduire les défenses chimiques de l'organisme. Contrairement aux mammifères, la peau des grenouilles peut accumuler une grande concentration de xénobiotiques potentiellement délétères pour leur santé. Dans certains cas, les produits chimiques exercent un effet direct sur les cellules épithéliales de la peau. De plus, l'exposition à des contaminants environnementaux peut aussi affecter le transport ionique paracellulaire. Elle altère aussi l'immunité antivirale chez les larves et les grenouilles adultes et pourraient avoir un impact sur l'organisation épidermique et la perméabilité de la peau des grenouilles. Certains pesticides enfin, comme le carbaryl, réduisent significativement le taux de peptides antimicrobiens à la surface de la peau mais pas leur bioactivité (Varga *et al.*, 2019).

La toxicologie et les signes cliniques dépendent de la concentration et de la nature du contaminant. Par exemple, une diminution de l'activité de *Rana pipiens*, *Rana sphenoccephala* et *Rana blairi* est observé lorsqu'elles sont exposées à de l'esfenvalérate (pyréthrinoides) dans l'eau à une concentration de 1,3 ppb pendant 24h, et des trémulations spastiques sont constatées à des concentrations de plus de 3,6 ppb pendant 36h. Les larves de ces espèces ayant exprimé des signes cliniques modérés suite à l'exposition à ce contaminant récupèrent en une semaine si elles sont placées dans une eau décontaminée mais celles ayant présenté des signes neurologiques ne survivent généralement pas (Wright, 2001f).

3) Rayonnements UV

Les chromatophores présents à la surface de la peau confèrent une protection contre les UV (Goniakowska-Witalińska et Kubiczek, 1998). Une surexposition des grenouilles aux UVB, notamment suite à la déforestation et la perte de leur habitat, entraîne des lésions au niveau de l'épiderme des larves comme des adultes. Elle se caractérise notamment par une mue excessive et des plaies, à l'origine d'une altération de l'intégrité cutanée et des processus physiologiques tels que les transports hydriques et ioniques. Une exposition simultanée de larves *Xenopus laevis* aux pesticides et à des radiations UV entraîne une mortalité plus importante ainsi que des malformations (Varga *et al.*, 2019).

4) Alcaloïdes

Les alcaloïdes liposolubles semblent provenir de l'alimentation des amphibiens, et notamment des insectes. Les alcaloïdes excrétés ont été essentiellement isolés chez les Dendrobatidés, sur plus de 150 espèces. Toutefois, des alcaloïdes toxiques sont également retrouvés chez les Eleutherodactylidés, Leptodactylidés, *Mantella*, Myobatrachidés et les Ranidés. Ils jouent un rôle primaire dans la défense contre les prédateurs, mais ils participent également à celle contre les microorganismes pathogènes (Varga *et al.*, 2019).

5) Microbiome

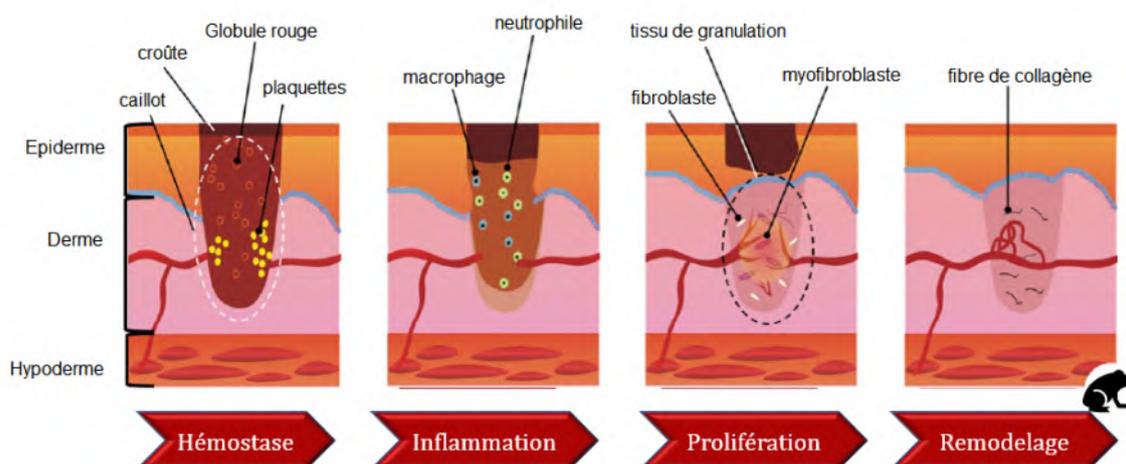
Le microbiome cutané des grenouilles provient en tout premier lieu des microorganismes de l'environnement, puis est modelé par le microenvironnement cutané. Les contributeurs externes au microbiome des grenouilles sont le milieu aquatique et le sol qui sont considérés comme étant le réservoir du microbiote cutané des amphibiens, mais d'autres sources sont possibles notamment à travers une transmission horizontale (lors de la reproduction) ou verticale (peu fréquent). Les bactéries retrouvées sur la peau des grenouilles appartiennent principalement aux groupes des Proteobacteria et des Actinobacteria, même si cette composition peut varier avec l'espèce, l'habitat et les facteurs environnementaux. Le microbiome est également influencé par le stade de vie, la région du corps, le régime alimentaire, le site de capture, l'habitat, la captivité, l'exposition à des contaminants chimiques et les traitements antibiotiques. Bien que ces facteurs puissent directement influencer les microorganismes commensaux de la peau, ils peuvent également affecter l'expression des gènes codant les peptides antimicrobiens, leurs sécrétions au niveau de la peau ainsi que leur bioactivité. La présence de microorganismes commensaux est importante pour la synthèse des peptides antimicrobiens. Une altération de l'activité de ces derniers peut aussi avoir des répercussions sur les communautés microbiennes cutanées. Selon les conditions, une dysbiose peut conduire à une sensibilité accrue des grenouilles aux maladies. De la même manière, les bactéries symbiotiques jouent un rôle important dans la défense contre les agents pathogènes. Certains microorganismes commensaux (espèces provenant notamment du groupe des γ -Proteobacteria) produisent des métabolites inhibant l'activité de *Batrachochytrium dendrobatidis* (Woodhams *et al.*, 2014). De plus, les métabolites sécrétés par les bactéries commensales peuvent aussi agir en synergie avec les peptides antimicrobiens afin d'inhiber le développement de cet agent fongique majeur. Les interactions entre l'hôte, le microbiome et l'environnement sont encore à l'étude (Varga *et al.*, 2019).

G. Processus de cicatrisation

La peau est un organe indispensable puisqu'elle sépare le milieu externe du milieu interne. Elle est particulièrement exposée aux agressions extérieures comme la déshydratation, les ultraviolets et les plaies. La cicatrisation est donc un mécanisme essentiel dans la survie des organismes. C'est un processus qui nécessite la coordination de différents types cellulaires et signaux cellulaires. Elle comporte quatre phases : l'hémostase, l'inflammation, la prolifération et le remodelage (Werner et Grose, 2003 ; Barrientos *et al.*, 2008).

La cicatrisation implique une réponse séquentielle et coordonnée des tissus épidermiques, dermiques et mésenchymateux, des vaisseaux sanguins, des nerfs et des cellules inflammatoires. Elle a pour but de rétablir l'homéostasie tissulaire ainsi que son architecture à la suite d'une rupture de continuité (Murawala *et al.*, 2012).

Figure 43 : Étapes de la cicatrisation (Demori *et al.*, 2019).



Les étapes sont schématisées dans la Figure 43. L'hémostase commence immédiatement après l'apparition de la plaie. Les plaquettes adhèrent aux parois du vaisseau sanguin lésé et déclenchent l'agrégation plaquettaire en activant les facteurs de la coagulation. Le caillot formé est composé de plaquettes, d'hématies et de molécules de la matrice extracellulaire. Dans les heures et jours qui suivent, la phase inflammatoire se met en place, les neutrophiles et les macrophages dégradent le caillot. Les chémokines sécrétées par ces derniers sont responsables de l'angiogenèse, du dépôt de matrice extracellulaire, de la ré-épithélialisation et de la migration de fibroblastes associées à cette phase. La formation du tissu de granulation résulte de la ré-épithélialisation ainsi que de la migration et de la prolifération des fibroblastes comme des cellules endothéliales. La matrice mise en place initialement s'enrichit progressive de collagène grâce aux fibroblastes, qui se transforment ensuite en myofibroblastes. Finalement, la transition de la granulation vers le tissu cicatriciel a lieu (Murawala et al., 2012).

La cicatrisation chez les amphibiens conserve les mêmes mécanismes que celle observée chez les mammifères mais ils possèdent la particularité d'avoir une grande capacité de cicatrisation au point de pouvoir régénérer un membre entier chez les juvéniles (Matsuda *et al.*, 2001 ; Campbell et Crews, 2008 ; Satoh *et al.*, 2008 ; Murawala *et al.*, 2012).

Elle a été largement étudiée afin de clarifier les mécanismes moléculaires permettant au tissu de retrouver son architecture et sa fonction. Cependant, ce processus de réparation tissulaire n'est pas associé à la formation d'une cicatrice telle qu'observée chez les mammifères. Une blessure au niveau de la peau déclenche l'hémostase en quelques secondes. Une journée suffit à la migration des cellules épidermiques et à la fermeture de la plaie. Des cellules mononuclées sont recrutées atteignant un nombre remarquable en quatre jours. Des cellules ne prenant pas la coloration éosinophile et fortement prolifératives, similaires aux cellules mononuclées, apparaissent dans la couche dermique aux alentours de la plaie et semblent constituer la source de cellules mésenchymateuses exprimant les facteurs de transcription permettant l'obtention d'une « cicatrisation sans cicatrice » (Lévesque *et al.*, 2010 ; Yokoyama *et al.*, 2011 ; Seifert *et al.*, 2012).

La vitesse de cicatrisation constitue également une différence significative entre les amphibiens et les mammifères. Il est possible que la vitesse de migration des kératinocytes conditionne la formation finale ou non d'une cicatrice lors de la ré-épithélialisation. Par exemple chez l'axolotl, la migration des kératinocytes débute une à deux heures après la formation d'une plaie et une lésion d'un diamètre de 1,5 mm peut être totalement ré-épithélialisée en 8 h (Lévesque *et al.*, 2010 ; Murawala *et al.*, 2012) contre 48 à 72 h chez un mammifère (Murawala *et al.*, 2012 ; Demori *et al.*, 2019). Les mécanismes entourant la régénération ne sont pas totalement élucidés mais Murawala *et al.*, (2012) pensent que ce délai entre formation de la plaie et recouvrement par l'épiderme pourrait empêcher le transfert d'informations clés entre l'épiderme et le mésenchyme sous-jacent, et ne pas permettre une régénération cutanée chez les mammifères.

Chez les amphibiens, un derme presque normal et un muscle correctement organisé apparaissent dans les dix jours suivant la blessure. En quelques mois, la zone initialement lésée ne peut plus être distinguée de la peau environnante, sans la moindre cicatrice, marquant la fin du processus de cicatrisation.

Chez les anoures, la régénération des appendices n'est possible qu'au début du développement. Ils perdent cette capacité progressivement après la métamorphose, depuis la partie distale jusqu'à la partie proximale (Muneoka *et al.*, 1986 ; Tawk et Vriza, 2003).

Les œufs des amphibiens se développent *ex vivo* et c'est la raison pour laquelle les grenouilles et les salamandres ont été largement utilisés depuis les années 90 pour l'étude du développement embryonnaire. L'observation de la capacité des têtards à régénérer leur queue et celle des salamandres à régénérer leurs membres et leur queue lors de leur vie adulte a été formellement décrite pour la première fois par Spallanzani en 1768, et depuis, des régénérations complètes à l'âge adulte de diverses

structures comme le cœur, le cerveau, la colonne vertébrale, la mâchoire, la rétine et le cristallin, ont également été décrites (Godwin et Rosenthal, 2014).

Le système immunitaire joue un rôle clé dans le résultat du processus de cicatrisation et la capacité de régénération semble inversement corrélée à la maturation du système immunitaire (Godwin et Brockes, 2006 ; Godwin et Rosenthal, 2014).

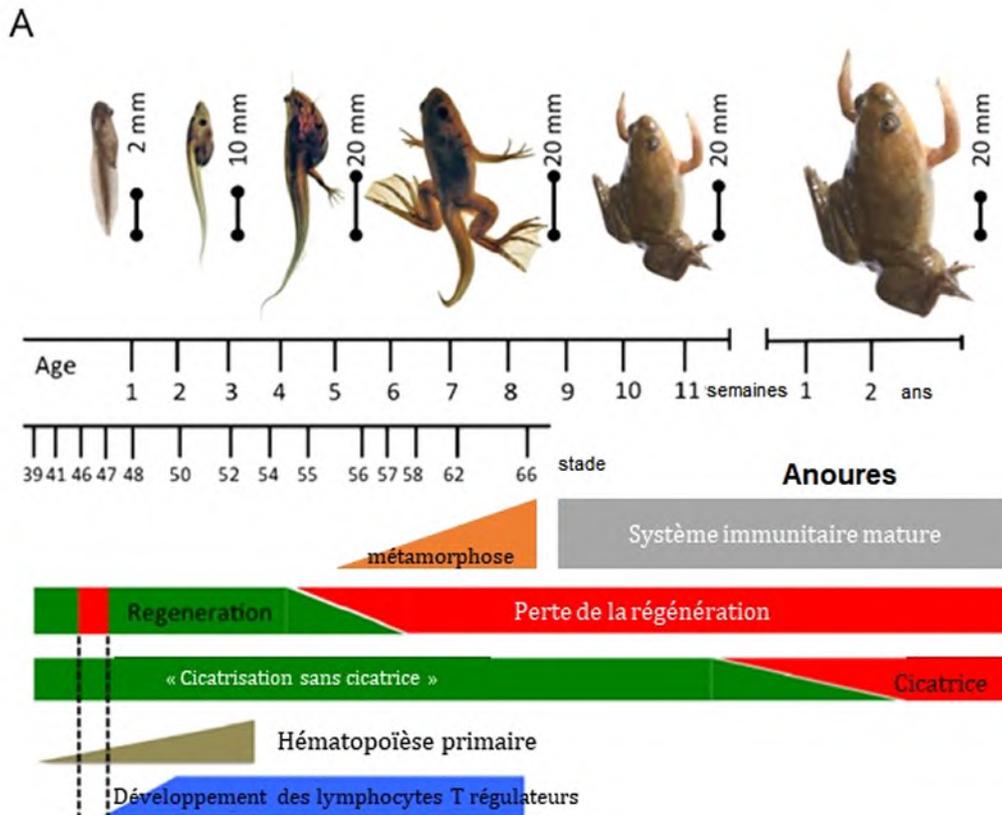
En particulier, des études chez *Xenopus laevis* (Figure 44) montre une réduction de la capacité de régénération avec l'âge et une diminution de l'efficacité à former une queue neuve avec les motifs corrects après une amputation (Godwin et Rosenthal, 2014). Après la métamorphose, la queue du têtard disparaît et laisse place à un adulte anoure, ce qui coïncide avec une restriction remarquable de la capacité de régénération. L'amputation d'un membre en développement dans les stades précoces de la métamorphose résulte en une régénération complète et parfaite du membre tandis qu'une amputation dans les stades plus tardifs montre une régénération imparfaite avec des membres incomplets ou des motifs incorrects. Une amputation après la métamorphose est suivie d'une régénération d'un membre sans motif, constitué d'une pointe cartilagineuse sans musculature associée à une production excessive de collagène et de tissu conjonctif (Mescher et Neff, 2006).

Les individus métamorphosés développent un système immunitaire plus performant et sensiblement différent de celui des têtards, à un tel niveau que les antigènes et allogreffes provenant des têtards sont souvent attaqués ou rejetés par le système immunitaire adulte chez un même individu (Murawala *et al.*, 2012).

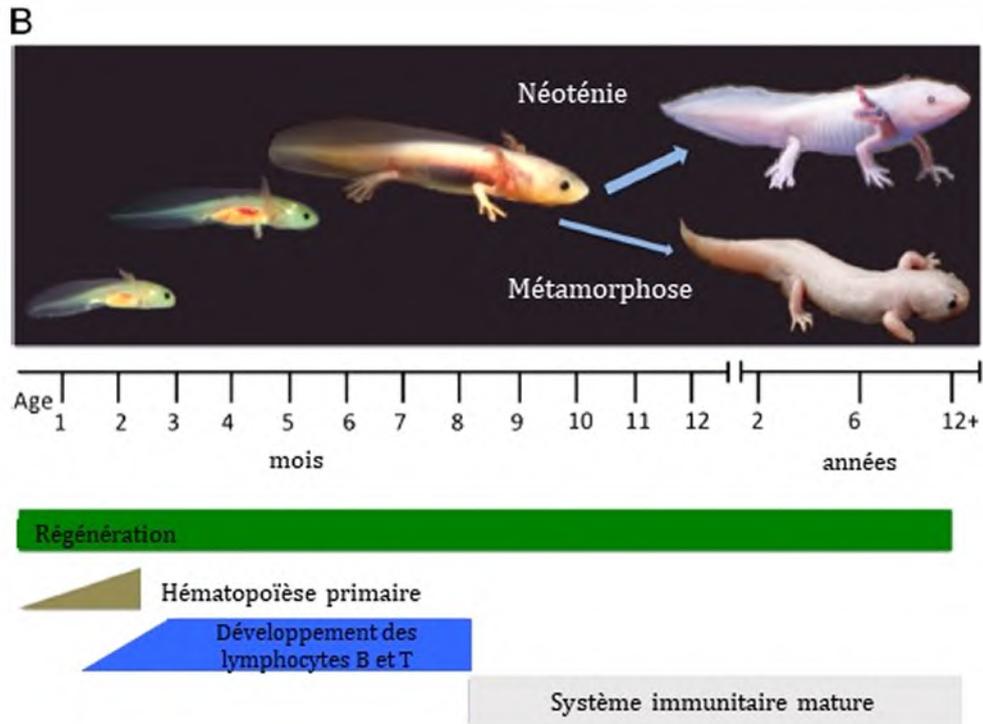
Les cellules inflammatoires permettent d'éliminer les agents pathogènes et cellules mortes présents au site de la plaie d'une part, et relarguent d'autre part des cytokines et autres facteurs de signalisation régulant l'activité cellulaires locale. Par exemple, les macrophages sont les premiers sécrétateurs de TGF β au niveau des plaies, qui est lui-même impliqué dans le processus de différenciation des fibroblastes en myofibroblastes au sein des systèmes de cicatrisation non régénératifs. Il semble alors impliqué dans la formation de la cicatrice, notamment lorsque sa durée d'expression est stimulée et prolongée, comme chez les mammifères. Le fait que les anoures possèdent un potentiel de régénération moindre que celui des urodèles pourrait s'expliquer par leur réponse immunitaire plus forte face à une plaie. En effet, Murawala *et al.* (2012) pensent que l'activation des lymphocytes T, la sécrétion de cytokines, et donc l'inflammation sous-jacente, se retrouvent atténuées au cours de la cicatrisation et de la régénération des plaies chez les urodèles.

Bien que les anoures et les urodèles partagent une biologie similaire, des différences drastiques dans l'immunité cellulaire ont été observées entre ses deux groupes d'amphibiens. Le système immunitaire des salamandres est remarquablement différent de celui des anoures et il est possible que ces différences confèrent aux salamandres les voies de signalisation impliquées dans la régénération des tissus même à l'âge adulte (Godwin et Rosenthal, 2014).

Figure 44 : Schéma chronologique du potentiel de régénération chez les anoures (Godwin et Rosenthal, 2014).



(A) Le développement du système immunitaire adaptatif chez l'adulte débute dans les premiers stades de la métamorphose et est associée à une perte progressive des capacités de régénération. En effet, une amputation d'un membre au stade 53 aboutit à une régénération complète du membre, tandis qu'au stade 60, la régénération conduit à une crête non structurée de tissus. La régénération de la queue est perdue de façon transitoire durant la période réfractaire (stade 45-47) et est corrélée au développement précoce des cellules immunitaire en absence de cellules T régulatrices, qui sont étroitement liées au potentiel de régénération fonctionnelle de la queue. La guérison des plaies sans cicatrice est perdue chez les amphibiens adultes.



(B) Au contraire, la guérison sans cicatrice et la régénération est maintenue tout au long de la vie de l'urodèle. La métamorphose n'entraîne que des modifications mineures au niveau du système immunitaire et le potentiel de régénération est alors maintenu. La plupart des espèces passe par une phase de métamorphose comme les anoues mais certaines espèces, comme les axolotls, peuvent conserver un cycle de vie néoténique (Godwin et Rosenthal, 2014).

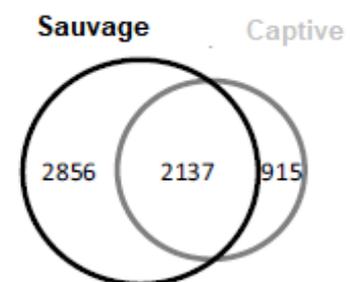
III - Flore cutanée

Pour de nombreuses espèces, la captivité est parfois la seule option pour la survie de l'espèce. Le maintien des espèces en captivité en vue d'une réintroduction représente de nombreux défis dont la préservation de la diversité génétique et le contrôle des risques de maladies. Des études récentes suggèrent que la captivité altère les communautés de microorganismes symbiotiques, dont la présence est indispensable à la santé de l'hôte. La peau des amphibiens abrite une communauté bactérienne résidente, qui joue un rôle de défense mécanique en inhibant la croissance des agents pathogènes, voire en produisant des toxines contre les prédateurs comme c'est le cas chez *Atelopus zeteki*. Une étude menée chez cette espèce a montré une différence significative de la diversité phylogénétique et de la structure de la communauté microbienne cutanée entre les individus de la population sauvage et leurs descendants directs maintenus en captivité. Un des éléments pouvant expliquer un taux de succès faible en termes de réintroduction des espèces en danger pourrait impliquer le microbiome des individus relâchés, qui serait bien trop altéré pour permettre leur survie dans la nature (Becker *et al.*, 2014).

Les individus captifs étaient maintenus dans un milieu approximant leur milieu naturel bien qu'il soit impossible de reproduire leur micro-habitat naturel à l'identique. De plus, le risque de transmission bactérienne est plus élevé en captivité et peut expliquer la diversité et la richesse du microbiote retrouvé chez ces animaux. De tels transferts peuvent se produire lorsque plusieurs individus cohabitent ou *via* l'environnement. De plus, le microbiote est amené à se modifier chez des espèces que l'on maintient en captivité pendant plusieurs générations ou lorsque des mutations génétiques ont lieu modifiant sa structure (par exemple par mutation des gènes impliqués dans le système immunitaire) (Becker *et al.*, 2014).

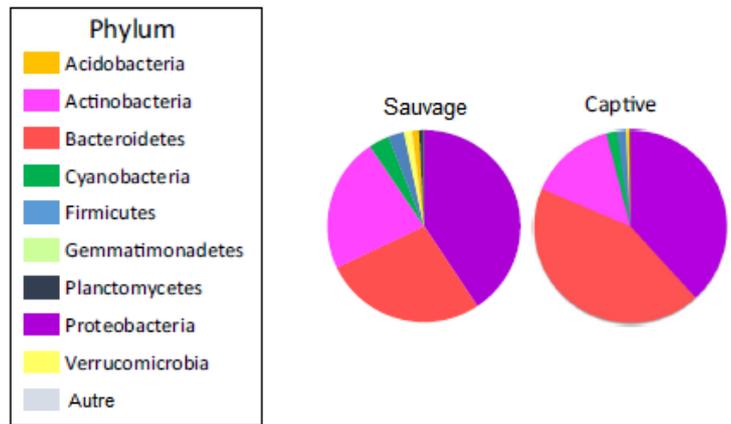
Entre les populations captives et sauvages, la composition de la communauté bactérienne semble bien préservée, mais dans des proportions différentes. En effet, les individus *Atelopus zeteki* sauvages et captifs partageaient les mêmes taxa (ou *Operational taxonomic unit*) (OTUs) à hauteur de 70 % (Figure 45).

Figure 45 : Diagramme représentant la distribution des taxa (OTUs) partagés entre les populations captives et sauvage de *Atelopus zeteki* (Becker *et al.*, 2014).



Toutefois, les OTUs abondants chez les individus sauvages sont rares chez les individus captifs, et vice versa. On remarque également que les populations captives hébergent une communauté microbienne dominée par quelques taxons, alors que la diversité de celle partagée par la population sauvage est plus importante (Figure 46). Les symbiotes primaires semblent également pouvoir se transmettre au cours des générations, par transmission pseudo-verticale selon les auteurs, c'est-à-dire que les bactéries de la flore cutanée seraient transmises des parents aux descendants par une source environnementale intermédiaire.

Figure 46 : Représentation en camembert de l'abondance relative moyennes des principaux embranchements (phyla) retrouvées au sein des populations captive et sauvage de *Atelopus zeteki* (Becker *et al.*, 2014, modifié).



Bacteroidetes est significativement plus représenté chez la population captive en raison de l'augmentation de l'abondance relative de *Pedobacter* sp. (Sphingobacteriaceae).

Cette augmentation d'un OTU unique a conduit à une diminution de l'homogénéité dans l'abondance relative des OTUs, malgré leurs grandes diversité et richesse chez cette population. Cette augmentation peut s'expliquer par une capacité supérieure de *Pedobacter* sp. à se développer en captivité par rapport aux autres espèces au sein du micro-habitat auxquels sont exposés les individus captifs. Au contraire, Les embranchements Planctomycetes et Verrucomicrobia sont davantage représentés chez les individus sauvages, et fréquemment retrouvés dans les habitats de ces animaux. La diminution de l'abondance relative de ces deux embranchements peut alors s'expliquer par un manque de transmission provenant de l'environnement d'origine, désormais inaccessible. La détermination de la proportion de bactéries résidentes provenant de l'environnement est difficile à déterminer mais il semblerait que 16 à 90 % de la flore cutanée est partagée avec l'environnement environnant et dépendrait de l'espèce d'amphibien (Becker *et al.*, 2014).

De nombreuses maladies cutanées peuvent être associées au maintien en captivité de ces animaux. Les blessures cutanées, l'altération de la qualité de l'eau (pH, ammoniac) et l'exposition à des irritants chimiques sont des facteurs de risques pouvant conduire à des lésions cutanées en captivité. De plus, de nombreuses maladies infectieuses comme la maladie des pattes rouges (« Red Leg Syndrome »), la mycobactériose et la saprolégniose sont souvent secondaires à des conditions d'élevage défectueuses et nécessitent une correction idoine des facteurs en cause. D'autres maladies cutanées comme la chytridiomycose et les infections systémiques à iridovirus ne sont pas associées à des cofacteurs environnementaux spécifiques mais sont responsables d'une mortalité significative en captivité et/ou dans la nature (Pessier, 2002). Les lésions les plus courantes sont une hyperhémie cutanée associée à une altération de la couleur, des papules ou nodules dermiques, et des ulcérations (Pessier, 2002).

L'évaluation de la qualité de l'eau, la culture bactérienne et fongique, des raclages cutanés examinés en cytologie entre en lame et lamelle ou après coloration et des biopsies pour des examens histopathologiques peuvent être utilisés pour établir un diagnostic des lésions cutanées. L'examen nécropsique des amphibiens doit inclure des raclages cutanés mais aussi des prélèvements multiples de peau pour examen histopathologique car les lésions ne sont pas toujours visibles à l'examen macroscopique (Pessier, 2002).

Nous aborderons les principaux paramètres environnementaux et agents pathogènes à l'origine de maladies cutanées chez les amphibiens, en nous focalisant autant que possible sur les particularités associées aux anoures et à *Trachycephalus resinifictrix* dans les parties suivantes.

Chapitre III : Paramètres environnementaux pouvant potentialiser ou favoriser le développement d'affections cutanées chez les anoues en captivité

I - Quarantaine

Une quarantaine doit être systématique pour toute admission d'amphibiens afin de minimiser les risques d'introduction de maladies infectieuses. Quelle que soit sa provenance, il est recommandé de placer tout nouvel individu en quarantaine pendant au moins 6 semaines. Pramuk et Gagliardo, (2012) recommandent d'étendre cette durée jusqu'à 90 jours pour tout animal d'origine inconnue ou ayant été transporté dans des conditions particulièrement stressantes. Il ne doit pas présenter d'anomalies à l'examen clinique (coproscopies incluses), présenter un appétit et un comportement normaux, et être maintenu dans ce secteur jusqu'à la fin des traitements vétérinaires prescrits (antiparasitaires, antibiotiques en cas de maladie, traitement anthelminthique prophylactique à base de fenbendazole pour les amphibiens terrestres) (Pasmans et Martel, 2019b). Pramuk et Gagliardo, (2012) recommandent également un prolongement du maintien en quarantaine de 2 semaines après la guérison en cas de maladie déclarée chez un individu, voire de ré-initier une quarantaine complète.

Les terrariums de ce secteur doivent respecter les besoins des amphibiens, en termes de températures, éclairage et humidité relative, en veillant tout particulièrement à l'hygiène et à l'aménagement de l'environnement conçu de manière à minimiser les sources de stress. Les spécificités des installations de quarantaine seront vues plus en détail dans la partie *E. Aménagement du terrarium* (Pasmans et Martel, 2019b).

Tous les animaux qui meurent durant la quarantaine doivent faire l'objet d'une nécropsie. Quand cela est possible, le diagnostic doit inclure des examens macroscopiques et histologiques des tissus. Il est indispensable de rechercher les maladies les plus courantes (ranavirose, infections à *Batrachochytrium dendrobatidis* ou *B. salamandrivorans*). Les écouvillonnages cutanés sont assez fiables pour la recherche de chytridiomycose mais le sont moins pour les *Ranavirus* et un résultat négatif ne permet donc pas d'exclure la présence du virus chez les animaux. Il n'y a pas de méthode fiable pour évaluer la présence des autres agents pathogènes courants chez des amphibiens cliniquement sains, comme ceux de la chlamydie ou de la mycobactériose. L'absence de ces microorganismes pathogènes est un critère important, notamment pour établir le statut sanitaire des populations de laboratoire ou pour celles des programmes de reproduction en vue de leur conservation. Quand cela est nécessaire et possible, une fraction du groupe peut être euthanasiée et examinée dans le détail. Cependant, en fonction de la prévalence des agents pathogènes, même une méthode aussi radicale ne permet pas toujours de garantir que le risque d'introduction est nul. Bien qu'on ignore dans quelle mesure la plupart des agents pathogènes sont en mesure d'être transmis par voie verticale, il est raisonnable de supposer qu'initier l'établissement d'une nouvelle population à partir d'œufs diminue le risque infectieux. Tout le matériel et les substrats y compris l'eau ayant été en contact avec les amphibiens, doivent être désinfectés avant d'être éliminés pour éviter toute contamination. La décontamination peut se faire au moyen de produits chimiques comme l'hypochlorite de sodium ou Virkon S® (Figure 47), ou par traitement thermique. Tout le matériel réutilisable doit être rincé abondamment après la désinfection. Les désinfectants laissant des résidus (comme les phénolés) peuvent être toxiques et doivent être évités dans le cadre de l'élevage d'amphibiens (Pasmans et Martel, 2019b).

Figure 47 : Composition chimique du Virkon S (Germineo, 2021).

bis (Péroxomonosulfate) bis (sulfate) de pentapotassium
Acide benzènesulfonique
Hydrogénosulfate de potassium
Disulfate de potassium

II - Alimentation en captivité

L'alimentation est un point clé de la réussite d'un élevage et une condition *sine qua non* de la bonne santé des animaux, ainsi que de la reproduction.

Il faut toujours garder à l'esprit que l'évaluation des performances d'un régime se fait à la lumière de la connaissance d'autres paramètres comme la qualité de l'eau, la température, le type d'habitat et l'espace disponible, la luminosité, susceptibles également d'affecter la croissance des individus (Wright, 2001b).

A. Composition de la ration

Les amphibiens sont essentiellement carnivores. Leurs proies doivent avoir reçu les nutriments nécessaires afin de couvrir l'ensemble des besoins nutritifs des amphibiens. À titre d'exemple, la composition corporelle des vers de farine (*Tenebrio molitor*) est particulièrement déséquilibrée (mauvais ratio Ca/P) requérant une complémentation avec de la poudre de calcium. Quant aux grillons (Gryllidés), un gavage supplémentaire à la poudre de calcium est également nécessaire. Il est fortement recommandé dans tous les cas de diversifier les aliments apportés (Mouret, 2001).

Selon l'âge, le stade de l'animal ou la température ambiante, les régimes naturels peuvent parfois varier. Les larves d'anoures sont majoritairement herbivores. Selon leur régime alimentaire, les structures buccales de ces dernières sont différentes. Les larves d'anoures peuvent être nourries avec des aliments pour poissons en flocons. Il est aussi possible de leur apporter une complémentation alimentaire avec de la spiruline. L'apport de végétaux aquatiques et d'algues semble être bénéfique pour la croissance larvaire, et peut être complété par une distribution quotidienne de légumes, telle que de la laitue romaine (*Lactuca sativa*), préalablement chauffés afin de faciliter l'ingestion par les têtards. Il est toutefois préférable d'éviter les végétaux riches en oxalates comme les épinards (*Spinacia oleracea*) qui peuvent favoriser la survenue de maladie rénale. L'alimentation des larves se modifie progressivement avec l'approche de la métamorphose (Wright, 2001b).

Des petits élevages centrés sur la mise en place d'une « mare locale » peuvent fournir des proies : un mélange d'eau de pluie et de mare exempt de pollution, avec un peu de vase, où se développeront rapidement de nombreux petits animaux, protozoaires, crustacés, insectes, entre autres, des paramécies (*Paramecium* sp.), daphnies (*Daphnia* sp.), des larves de moustiques (genres *Anopheles*, *Chironomus*, *Chaoborus*) ou encore des annélides (*Tubifex* sp.). Certains têtards d'anoures sont au départ, carnivores et parfois cannibales. Pour éviter qu'ils ne se dévorent mutuellement, il faut les tenir séparés et les nourrir d'insectes, de lombrics (*Lumbricus* spp.) et gastéropodes ou de morceaux de poissons frais, car ces larves prédatrices acceptent volontiers de consommer des cadavres (Mouret, 2001).

Au Zoo de Touroparc, les têtards de *Trachycephalus resinifictrix* sont nourris avec de la nourriture pour poissons ornementaux (TetraMin[®]Baby) 2 à 3 fois par jour, en quantité jugée adaptée par l'auteur. Les têtards ne s'alimentent plus durant la dernière phase de la métamorphose jusqu'à résorption complète de leur queue (Mignet, 2015).

Au Zoo de Jersey, les têtards sont nourris avec de la poudre alimentaire pour têtards (composée d'un mélange de flocons pour poissons tropicaux, de granulés d'herbe, de granulés pour truites, de tubifex (*Tubifex tubifex*), de crevettes d'eau douce (*Palaemonetes*), de spiruline (cyanobactérie *Spirulina*) et d'os de seiche (*Sepia officinalis*) et occasionnellement avec des œufs issus d'une autre ponte (Tapley et Bradfield, 2008).

Les juvéniles nouvellement métamorphosés sont nourris tous les jours jusqu'à 5-6 semaines d'âge avec des grillons de la taille d'une tête d'épingle (*Acheta domesticus*) et occasionnellement, des mouches (*Drosophila hydei*). Après 7-8 semaines, les nourrissages sont progressivement espacés (tous les 2-3 jours). Les insectes sont nourris avec une alimentation complète du type Repashy Superfood[®] Bug Burger et saupoudrés d'un supplément vitaminique et minéral (Nutrobal[®]) (Tapley et Bradfield, 2008 ; Mignet, 2015).

Les amphibiens adultes se nourrissent majoritairement d'invertébrés. Ils ne sont généralement pas difficiles en termes d'alimentation et vont consommer tout ce qu'ils trouvent. Ils possèdent dans l'ensemble un régime très similaire en captivité. La plupart des amphibiens terrestres métamorphosés se nourrissent d'invertébrés. En captivité, il est possible de proposer un régime équivalent aux espèces aquatiques comme terrestres, bien que les extrudés soient plus difficilement acceptés par les espèces terrestres (Wright, 2001b). Le tableau 4 présente les différents pouvant être proposés aux amphibiens en captivité.

Il est recommandé de proposer une grande variété de nourriture qui peut être non seulement intéressante sur le plan nutritionnel mais aussi pour l'enrichissement de leur environnement permettant ainsi aux animaux d'exprimer leur comportement naturel de prédation (Wright, 2001b ; Boyer et Scott, 2019).

Si des vertébrés sont utilisés pour le nourrissage, il faut éviter d'introduire des parasites et des maladies infectieuses. Il faut prendre garde à la quantité distribuée car une accumulation de proies non consommées peut détériorer la qualité de l'eau (Boyer et Scott, 2019).

Il est également important de noter que la température ambiante influence aussi les besoins des batraciens raison de son impact sur leur métabolisme. Au-delà d'un certain seuil, elle peut diminuer voire inhiber la prise de nourriture, en particulier en cas d'estivation (Mouret, 2001).

Tableau 4 : Aliments pouvant être proposés aux amphibiens aquatiques et terrestres en captivité (Wright, 2001b ; Mignet, 2015 ; Boyer et Scott, 2019).

Amphibiens aquatiques	Amphibiens terrestres
Invertébrés :	
- Vers annélides : <i>Lumbriculus variegatus</i> , <i>Lumbricus</i> spp., <i>Tubifex tubifex</i> , <i>Enchytraeus</i> spp. (les vers de <i>Dendrobaena</i> ou <i>Eisenia</i> vendus comme appâts ne sont généralement pas acceptés car ils excrètent une substance dégageant une mauvaise odeur).	
- Arthropodes hexapodes :	
<ul style="list-style-type: none"> • Insectes (Insecta) : larves de <i>Chironomus</i> sp., <i>Tribolium confusum</i>, <i>Tenebrio molitor</i>, <i>Alphitobius laevigatus</i>, larves de <i>Galleria mellonella</i>, larves ou adultes sans ailes de <i>Musca</i> spp. et <i>Drosophila</i> spp., <i>Acheta domesticus</i>, <i>Locusta migratoria</i>, larves de <i>Zophobas morio</i>. • Collembolés (<i>Collembola</i> spp.) 	
- Arthropodes crustacés : <i>Daphnia</i> spp., <i>Artemia salina</i> , <i>Cyclops</i> sp., <i>Palaemonetes</i> spp., Oniscidea.	
Poissons, notamment chez les grandes espèces : <i>Poecilia reticulata</i> , <i>Xiphophorus maculatus</i> , <i>Osmerus eperlanus</i> , Cobitidés. <i>Gambusia affinis</i>	Poissons , rapporté chez la grenouille-taureau (<i>Lithobates catesbeianus</i>) : <i>Gambusia affinis</i> , <i>Molliensia latipinna</i> , <i>Notemigonus crysoleucas</i> , <i>Lepomis</i> spp. (cf. IV. A. 3)
Extrudés pour poissons ou tortues : ils peuvent être acceptés par certains individus. Ils sont toutefois déséquilibrés car formulés pour des régimes plus omnivores que carnivores.	Extrudés pour poissons ou tortues : ils peuvent être proposés mais sont généralement peu acceptés.
Souris nouveau-né (<i>Mus musculus</i>) et rat nouveau-né (<i>Rattus norvegicus</i>) : de façon occasionnelle. Toutefois, les auteurs préconisent une grande prudence vis-à-vis de ce type d'aliment en raison d'un risque d'hypervitaminose A non négligeable.	

B. Distribution de la ration

Il est possible de nourrir les amphibiens avec des proies vivantes ou inertes comme nous l'avons vu précédemment. Les proies vivantes peuvent être lâchées dans le terrarium. Ce mode de distribution est peu contraignant et permet la conservation du comportement de chasse des animaux. Toutefois, il ne permet aucun contrôle sur la prise alimentaire des individus. Il est également possible de proposer les proies, vivantes ou inertes à la pince. Plus contraignant que le premier, ce mode de nourrissage permet de suivre la prise alimentaire de l'animal de manière plus précise, et facilite également l'approvisionnement en proies car ces individus sont plus à même d'accepter des proies inertes, souvent sous forme congelée ou emballée. Les proies vivantes sont disponibles dans de nombreux commerces mais le stock peut varier avec la saison. Il faut aussi se méfier des proies prélevées dans la nature qui peuvent avoir été contaminées par des pesticides ou autres substances chimiques, ainsi qu'être hôtes de parasites pouvant infester les amphibiens, comme cela est observé chez les larves de moustiques et autres invertébrés aquatiques qui peuvent être vecteurs d'agents pathogènes. Les invertébrés, mais aussi les poissons, doivent être traités avant d'être distribués afin d'éviter ce risque. Il est possible d'immerger les proies dans des bains de sel (2,5 g de sel de mer par litre d'eau), durant une période variable selon les espèces, suivi d'un rinçage abondant à l'eau claire ainsi que le respect d'une quarantaine de plusieurs heures avant toute distribution. Cette attention renforcée doit aussi s'appliquer aux poissons surgelés car un cas d'introduction de *Aeromonas salmonicida* au sein d'une colonie de *Xenopus laevis* par l'intermédiaire de poissons contaminés a déjà été décrit (Wright, 2001b).

La fréquence et le moment de distribution sont également importantes. Il est nécessaire de synchroniser le nourrissage avec le rythme d'activité des individus en tenant compte de l'espèce et du stade de développement. Une photopériode régulière, sans changement intempestif, permet le développement d'un rythme d'activité cohérent et approprié (Wright, 2001b).

Les amphibiens diurnes, comme les *Dendrobates*, doivent être nourris le matin ou en début d'après-midi tandis que ceux qui sont plutôt actifs la nuit, tels que les *Trachycephalus*, doivent être alimentés en début de soirée. La luminosité au sein du terrarium est également un facteur important à contrôler

et des comportements déviants sont observés lorsque l'intensité lumineuse ou la photopériode sont inappropriés. Des espèces diurnes, vivant sous couvert forestier, peuvent ne pas s'accoutumer à une intensité lumineuse trop forte et se cacher au lieu de se nourrir, donnant l'impression que l'espèce est crépusculaire ou nocturne. De plus, dans le cas où les proies ne sont pas offertes au bon moment, les suppléments vitaminiques et minéraux peuvent ne pas être ingérés, les compléments saupoudrés sur les proies vont s'éliminer avant d'être consommés, tout comme le contenu intestinal en ce qui concerne les complémentations par voie orale (Wright, 2001b).

Il convient idéalement de distribuer la nourriture tous les jours, en plusieurs petites prises. Il vaut mieux distribuer de nombreuses proies de petites tailles plutôt qu'un faible nombre de proies de grande taille. L'alimentation des animaux doit notamment tenir compte de la période de chasse habituelle de l'espèce et il est intéressant de s'y référer. Un ou deux jours de jeûne par semaine peuvent être cependant envisagés. La quantité de nourriture apportée décroît naturellement avec la photopériode et la température (Mouret, 2001).

La quantité de proies apportée ne doit pas être excessive. Il est courant de voir des grillons (Gryllidés) se nourrir de petits amphibiens ou blesser des individus plus grands (Wright, 2001b).

La quantité et la fréquence des nourrissages dépend également du budget énergétique des espèces. Les larves et les juvéniles doivent bénéficier d'un apport de nourriture presque constant. Les petites espèces avec un métabolisme élevé comme les *Dendrobates*, ou recherchant activement leur nourriture doivent être nourries deux fois par jour pour maintenir un état corporel correct tandis que les prédateurs davantage passifs peuvent prendre trop de poids s'ils sont nourris jusqu'à satiété plus d'une ou deux fois par mois (Wright, 2001b).

Enfin, les conditions environnementales influencent le comportement alimentaire. Une température ou une hygrométrie trop basse par rapport aux *optima*, ou encore une mauvaise qualité de l'eau, peuvent inhiber le comportement alimentaire (Wright, 2001b).

Les proies, notamment pour les adultes – les larves étant moins sélectives– doivent être disponibles toute l'année, et d'éventuelles ruptures temporaires d'approvisionnement doivent être anticipées. Un élevage en parallèle peut être envisagé sous réserve d'être bien conduit ; les amphibiens peuvent supporter une période de diète, relative à l'espèce, que l'on peut soutenir en réduisant de quelques degrés la température de l'enceinte (Mouret, 2001).

Les amphibiens ont des températures seuils au-delà ou en deçà desquelles ils ne se nourrissent plus. On parle d'hivernage ou d'estivation. En terrarium, ces conditions extrêmes ne sont pas censées exister. Il arrive pourtant que des animaux refusent de s'alimenter. Il faut dans ce cas-là trouver la raison au plus vite. Un jeûne de quelques jours après l'introduction d'un nouvel individu est alors normal, le temps qu'il s'acclimate à son nouvel environnement. Dans les autres cas, une maladie, une infection ou un stress peuvent être la cause d'une dysorexie ou d'une anorexie. L'observation attentive et discrète des comportements ainsi que des déplacements des individus est indispensable, et il ne faut pas hésiter à reconsidérer l'environnement en cas d'anomalie. Un examen des individus suspects, sans manipulation excessive, peut être nécessaire. Les changements qui ont pu survenir au sein, ou en périphérie, du terrarium doivent aussi être pris en compte. En cas de refus persistant, le gavage ne doit être envisagé qu'en dernier recours en raison du stress et des risques de traumatismes associés (Mouret, 2001).

C. Complémentations minérales et vitaminiques

Une alimentation à base de proies vivantes peut conduire à des carences nutritionnelles si ces dernières ne sont pas complémentées en calcium et en vitamines, les insectes étant généralement carencés en calcium, en vitamines A et D (Whitaker et Wright, 2019).

1) Complémentation en vitamine A

L'hyperparathyroïdie nutritionnelle secondaire et l'hypovitaminose A sont des carences nutritionnelles fréquentes chez les amphibiens. Les signes d'hyperparathyroïdie nutritionnelle secondaire sont souvent évidents chez les amphibiens terrestres et on observe des déformations du crâne et de la colonne. Il n'est pas établi dans les recommandations d'élevage d'apporter quotidiennement de la vitamine A aux amphibiens mais l'hypovitaminose A, à l'origine du « Short Tongue Syndrom » (syndrome de la langue courte), est fréquente chez les animaux en captivité. Les amphibiens ne semblent pas être en mesure de métaboliser le bêta-carotène en quantité suffisante pour produire de la vitamine A physiologiquement disponible. Ainsi, de la vitamine A préformée doit être apportée dans la ration. Cependant, un excès de supplémentation en vitamine A doit être évité afin de ne pas induire une hypervitaminose A, qui elle-même serait en mesure d'interférer avec l'absorption et l'utilisation de la vitamine D₃ (Whitaker et Wright, 2019 ; Wright, 2001c).

On ignore encore si la vitamine A est le seul caroténoïde essentiel pour les amphibiens ou si des précurseurs comme le carotène, le lycopène, le phytoène ou d'autres isoprénoïdes sont également indispensables dans leur régime. De plus, elle est primordiale pour maintenir l'intégrité épithéliale et pour le métabolisme osseux ; les caroténoïdes sont aussi incorporés dans les xanthophores de la peau des amphibiens. Les signes cliniques de l'hypovitaminose A sont l'apathie et une capacité altérée à attraper les proies avec la langue. Pessier *et al.* (2005) ont décrit le « syndrome de la langue courte » chez *Anaxyrus baxteri*, et d'autres auteurs ont pu observer le même signe chez d'autres amphibiens captifs. À l'histologie, on retrouve principalement une métaplasie squameuse de la langue avec une perte subséquente des cellules muqueuses ainsi qu'une disparition des sécrétions collantes à la surface de l'appendice lingual permettant d'attraper les insectes. Des traitements parentéraux, oraux ou par bains avec de la vitamine A peuvent permettre de résoudre le déficit mais le temps de récupération n'est pas rapporté, et un traitement de support, notamment avec des gavages, est nécessaire pendant la durée du traitement (Densmore et Green, 2007).

Les granulés ont l'avantage d'être supplémentées en minéraux (notamment en calcium) et en vitamines (comme la vitamine A) contrairement à une alimentation à base d'insectes vivants qui en est naturellement carencée. Les restes doivent être retirés dans l'heure qui suit le nourrissage pour éviter la détérioration de la qualité de l'eau. D'autres aliments peuvent être apportés de manière occasionnelle comme de la viande crue. Cependant, il faut éviter d'en apporter trop souvent car elle peut générer des carences alimentaires comme l'hyperparathyroïdie nutritionnelle secondaire. Les amphibiens n'acceptant pas les extrudés doivent être nourris avec des proies vivantes, notamment des insectes. Ces proies doivent être correctement nourries et enrichies au moins en calcium et vitamine A. ici encore, une alimentation variée diminue les risques de carences alimentaires (Whitaker et Wright, 2019).

2) Complémentation en vitamine D₃

La vitamine D₃ provient essentiellement de l'alimentation et de sa synthèse dans la peau sous l'action des UVB. Les UV solaires ont une longueur d'onde de 400 nm à 100 nm. On distingue alors les UVA (400 – 315 nm), les UVB (315 – 280 nm) et les UVC (280 à 100 nm). Seuls les UVA et les UVB peuvent interagir avec les systèmes biologiques, car les longueurs d'ondes inférieures à 290 nm sont absorbées par l'atmosphère terrestre (Browne *et al.*, 2009).

Chez la plupart des vertébrés, la vitamine D₃ est synthétisée suite à une exposition aux rayonnements UVB (290 à 315 nm). Toutefois, la valeur d'UVB nécessaire au métabolisme calcique est peu documentée chez les amphibiens. Une carence en calcium peut être due à un apport insuffisant d'UVB mais aussi à des carences en calcium alimentaire ou en vitamine D₃. Cette dernière a une fonction critique dans la régulation du métabolisme calcique et joue un rôle non négligeable dans le développement des organes, la contraction musculaire et le fonctionnement du système immunitaire et du système nerveux. Les amphibiens récemment métamorphosés, les juvéniles et les adultes d'un

certain nombre de grenouilles nocturnes prennent également des bains de soleil dans la nature et leurs abris diurnes sont également exposés de manière à recevoir des UVB réfléchis. Ainsi, l'exposition aux UVB s'avère utile même chez les espèces nocturnes. Le calcium plasmatique augmente chez les larves d'anoures lors de la métamorphose et est nécessaire pour le développement et la calcification du squelette (Verschooren *et al.*, 2011 ; Tapley *et al.*, 2015).

Une supplémentation en vitamine D₃ avec du cholécalciférol peut s'avérer opportune, notamment pour les animaux peu exposés aux rayons ultraviolets. Elle a donné des effets positifs chez les geckos léopards (*Eublepharis macularius*) mais pas chez les geckos géants de Madagascar (*Phelsuma grandis*). Cette complémentation était cependant inefficace pour améliorer les performances reproductives des caméléons léopards (*Furcifer pardalis*), l'éclairage avec des rayonnements UV s'avérant plus efficace. Ainsi, la complémentation en vitamine D₃ doit également être raisonnée en tenant compte de l'accès de l'animal aux types de sources lumineuses, tant en termes qualitatif que quantitatif (Finke, 2003).

L'apport de vitamine D₃ peut se faire oralement, en supplémentant les proies, par gavage ou en goutte dans la bouche. Elle peut aussi être administrée topiquement par la peau. Une dose de 330 UI/kg/j de vitamine D₃ par voie orale sous forme de gouttes est préconisée bien que difficile à donner chez les individus dont le poids est inférieur à 5 grammes (Browne *et al.*, 2009).

L'apport de poissons dans la ration pourrait être intéressant chez les amphibiens terrestres car ils constituent une source intéressante de calcium, voire de vitamine D₃. Cela a été décrit chez la grenouille-taureau (*Lithobates catesbeianus*) chez qui une meilleure croissance des juvéniles a été rapportée par Modzelewski et Culley, (1974) dans le groupe recevant une ration constituée de gambusie (*Gambusia affinis*) par rapport à celui nourrit avec des grillons (*Acheta domesticus*) et des vers de terres (*Lumbricus spp.*). Ces auteurs ont également réalisé une autre étude comparant un régime à base de gambusies seules, un mélange de gambusies, vers de terre et grillons, et un régime standard à base de grillons et vers de terre. L'apport de gambusies seules par rapport à un mélange de gambusies, vers de terre et grillons ne montre pas de différence significative en termes de croissance des juvéniles mais ces deux groupes ont crû plus rapidement que le groupe n'ayant reçu que des grillons ou des vers de terre. De plus, les individus de ce dernier groupe ont développé une hypovitaminose D contrairement aux deux autres groupes ayant reçu du poisson. Les auteurs pensent que le ratio Ca/P des gambusies (1,3/1) aurait contribué à la croissance plus rapide des juvéniles (un régime à base de grillons seuls possède un ratio Ca/P de 0,5/1, et un à base de vers de terre, 0,7/1). Les individus qui ont développé une hypovitaminose D avec un régime à base de grillons et de vers de terre ont été passés à un régime à base de gambusies qui a permis une résolution de l'hypovitaminose D en quatre semaines en stimulant la calcification des os. Cependant, les déformations osseuses demeurent irréversibles. La teneur en vitamine D₃ des proies n'a pas été étudiée dans cette étude mais est connue chez certaines espèces de poissons destinés à la consommation humaine dont certaines seraient intéressantes dans la prévention de l'hypovitaminose D chez les autres vertébrés. Des poissons de quatre autres espèces ayant permis un élevage réussi de *Lithobates catesbeianus* (*Molliensia latipinna*, *Notemigonus crysoleucas*, *Lepomis cyanellus* et *Lepomis macrochirus*) ont également été cités dans l'étude.

3) Complémentation par modulation de la composition nutritionnelle des proies

Concernant la conservation et le nourrissage des proies, les insectes craignent énormément les attaques microbiennes et fongiques. Une nourriture sèche permet alors d'éviter ces désagréments mais il faut également qu'ils soient en mesure de s'hydrater convenablement. L'hygiène des bacs qui les contient doit être impeccable afin d'éviter les morts et les odeurs. Il faut régulièrement les changer et les désinfecter (à l'eau de javel suivi d'un rinçage abondant à l'eau). Pour nourrir les proies du type grillons, des fleurs, des feuilles de luzerne (*Medicago sativa*), de pissenlit (*Taraxacum spp.*), de trèfles (*Trifolium spp.*), de plantain (*Plantago*), peuvent être utilisées. Des fruits et légumes frais, tels que de la

poivre (*Malus spp.*) ou de l'orange (*Citrus sinensis*) de préférence sans trace de pesticides, peuvent compléter la ration et constituer une source d'hydratation. Ils seront placés dans des coupelles faciles à nettoyer. On peut aussi compléter avec des farines, pains ou gâteaux, graines ou aliments pour poissons, des zestes d'orange (riche en calcium et vitamine C) et même donner quelques extrudés de tortues de temps en temps. Quant aux petites proies aquatiques, elles doivent être élevées dans des bassins avec de la vase de mare, du sable, des plantes et des algues (Mouret, 2001).

La composition nutritionnelle des insectes peut être modulée avec la ration qu'ils reçoivent et il existe deux méthodes de complémentation (Tableau 5) de ces derniers afin d'optimiser leur valeur nutritionnelle.

Tableau 5 : Comparaison des deux modes de complémentation (généralement en calcium) des proies (Finke, 2003 ; Ferrie *et al.*, 2014)

	Saupoudrage du complément alimentaire sur l'insecte	« Gut-loading » (gavage)
Principe	Saupoudrage des insectes avec une fine couche contenant les nutriments recherchés.	Nourrissage des proies avec un aliment spécialisé juste avant de les distribuer afin que ce dernier soit encore présent dans son tube digestif de la proie et disponible pour les animaux.
Avantages	Très efficace.	Adaptée pour la plupart des nutriments si : - la ration est appétente ; - facilement ingérable ; - les nutriments sont disponibles en quantité suffisante. Semble efficace pour la plupart des espèces d'insectes.
Inconvénients	Efficacité variable selon : - la capacité de la poudre à adhérer sur l'insecte : caractéristiques physiques de la poudre et morphologie de l'insecte (exosquelette et surface corporelle) ; - la capacité de l'insecte à se toiletter et à se débarrasser de la poudre : le grillon domestique (<i>Acheta domesticus</i>) se débarrasse de la moitié de la poudre ayant adhéré à sa surface en 90 secondes ; - le délai entre le saupoudrage et la consommation. Influence possible sur la palatabilité de la proie. Inadapté en environnement humide ou aquatique. Disponibilité des nutriments désirés sous forme de poudre.	Résultat variable selon : - l'âge de l'insecte (les grillons se nourrissent peu durant la dernière semaine précédant la mue) ; - la taille de l'aliment proposé et de l'insecte (capacité d'ingestion de l'aliment et de contenance du tube digestif) ; - le stade de développement (les grillons se nourrissent 6 h après la mue) ; - la température (optimisation de la prise alimentaire et de la croissance dans l'intervalle thermique de préférence de l'espèce) ; - le sexe (les femelles se développent plus rapidement que les mâles) ; - la disponibilité en eau (le déficit et l'excès en eau/fruits diminue la consommation de l'aliment de gavage) ; - Appétence.

Les informations concernant les besoins nutritionnels des amphibiens sont lacunaires mais les études disponibles concernant les besoins en calcium chez les autres espèces vertébrées semblent suggérer qu'il demeure raisonnable d'extrapoler ces résultats à ces derniers (Finke, 2003). Pasmans et Martel (2019b) recommandent de viser un ratio Ca/P de 1,5/1 chez les proies distribuées.

Dans l'étude de Finke (2003), une estimation du contenu du tractus intestinal des grillons (*Acheta domesticus*), larves de ténébrions (*Tenebrio molitor*) et vers de soie (*Bombyx mori*) en différents nutriments (calcium, vitamine A) a été réalisée, afin d'établir des recommandations sur la ration à leur apporter dans le but d'obtenir la composition nutritionnelle recherchée pour les animaux nourris. Les

nymphes de grillons possèdent une teneur en calcium et vitamine A supérieure à celles des grillons adultes lorsqu'ils sont nourris avec les mêmes rations. Cela suggère une diminution du contenu du tractus gastrointestinal rapporté au poids vif lorsque la taille de l'insecte augmente et qu'il est donc moins intéressant de garder les proies trop longtemps.

Allen et Oftedal, (1989) ont montré que les grillons nourris durant 48 à 120 h présentaient des taux de calcium supérieurs à ceux nourris seulement 12 à 24 h. Il est donc préférable de nourrir les grillons pendant au moins 48 h pour atteindre un niveau en Ca/P stable. La ration idéale à utiliser dépend du ratio Ca/P désiré et du temps de nourrissage des grillons avec la ration en question. Les grillons doivent être nourris avec une ration contenant au moins 8 % de calcium durant *a minima* 48 h pour atteindre un ratio Ca/P supérieur ou égal à 1/1. Il faut noter que les rations formulées dans cette étude visaient à optimiser la teneur en calcium des insectes, et non pas à apporter un niveau nutritionnel optimal à la croissance ou la reproduction des grillons. Ces régimes sont donc très déséquilibrés et carencés en énergie et nutriments, il n'est alors pas conseillé de les distribuer durant une période prolongée. Les auteurs ont également montré que des geckos léopards (*Eublepharis macularius*) nourris avec des grillons recevant une ration riche en calcium (de l'ordre de 8,9 %) présentaient une meilleure minéralisation osseuse que ceux alimentés avec des grillons recevant une ration pauvre en calcium (de l'ordre de 1,3 %). Le calcium des grillons est également directement disponible pour les geckos, ce qui est très intéressant d'un point de vue nutritionnel car les carences sont fréquentes en captivité. Cela a également été montré par Klasing *et al.* (2000) avec le « gut-loading » durant 1 à 2 jours de *Tenebrio molitor* avec une ration enrichie en 8 % de CaCO₃ destinés à l'alimentation de poussins (*Gallus domesticus*). Toutefois, les excès doivent être évités car le calcium interfère également avec l'absorption de magnésium, zinc, manganèse voire du cuivre.

La présence d'une grande quantité d'acides gras insaturés chez la plupart des insectes suggère la nécessité d'une complémentation en vitamine E d'après Finke (2003), mais la comparaison de la teneur nutritionnelle des invertébrés avec les recommandations nutritionnelles NRC pour les rats en croissance ne montre pas de carence en vitamine E chez la plupart des proies d'intérêt (à l'exception de *Tenebrio molitor* et *Zophobas morio*) (Whitaker et Wright, 2019).

Mouret (2001) préconise de saupoudrer les proies d'un mélange de vitamines, minéraux et acides aminés, du type Reptivite® ou Nektorep® une fois par semaine, en respectant les doses préconisées. Pour le « gut-loading », Boyer et Scott (2019) recommandent le « Hi Calcium Gut Loading Diet » de Mazuri®, de grande qualité, et permettant un apport de calcium de l'ordre de 8 à 9 %.

Enfin, il est aussi possible de modifier la composition nutritionnelle des insectes en modulant les conditions environnementales durant leur croissance (intensité de l'éclairage, température et photopériode). Des ténébrions (*Tenebrio molitor*), grillons (*Acheta domesticus*) et des vers de farine géants (*Zophobas morio*) présentant des concentrations en bêta-carotène, vitamine E et oméga 3 élevées sont disponibles dans le commerce depuis peu (par exemple : Vita-bugs® de Timberline Live Pet Food) (Ferrie *et al.*, 2014).

D. Métabolisme et équilibre hydro-électrolytique

L'équilibre hydrique est un point critique de la nutrition des amphibiens. Leur peau richement vascularisée et glandulaire présente un *stratum corneum* réduit, ce qui le rend perméable à l'eau et à de nombreux composés liposolubles. La peau est donc un site majeur d'échanges hydro-électrolytiques. Le sens des échanges dépend de l'osmolarité de l'eau ou du sol de l'habitat et la salinité de l'eau peut générer un stress physiologique important pour les amphibiens (Ferrie *et al.*, 2014).

Chez de nombreuses espèces, la peau contribue davantage que l'alimentation à l'absorption de sodium mais pas du potassium. Le calcium est transporté activement à travers la peau et le milieu aqueux peut alors en constituer une source importante pour de nombreuses espèces. Les anoues sont capables par ailleurs de stocker de grandes quantités de carbonate de calcium de part et d'autre de leur colonne vertébrale pouvant être mobilisées en cas de besoin (Figure 48). La plupart des espèces ne boivent pas d'eau même lorsqu'elle est immédiatement accessible, l'absorption hydrique ayant souvent lieu par voie transdermique, par le biais de l'alimentation solide et la production d'eau métabolique (Ferrie *et al.*, 2014).

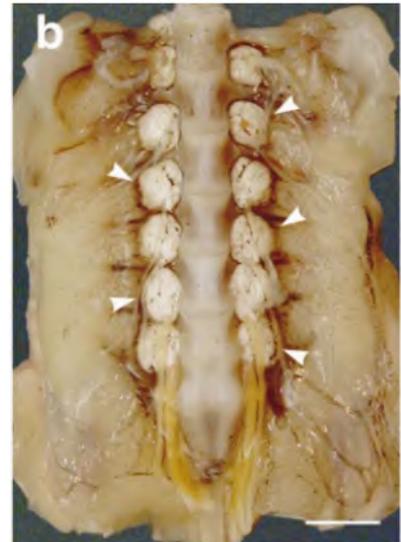


Figure 48 : Coupe longitudinale de *Rana catesbeiana* montrant le prolongement du sac endolymphatique vers la colonne vertébrale et délimitant des sacs endolymphatiques contenant des cristaux de carbonate de calcium (indiqués par les flèches blanches) de part et d'autre de la colonne vertébrale.

E. Un exemple de ration alimentaire

Au Durrell Wildlife Conservation Trust, les *Trachycephalus resinifictrix* sont nourries avec des invertébrés, notamment des grillons (*Gryllus assimilis* et *Grymis bimaculatus*), des blattes (*Blaberus craniifer*) et des criquets (*Locusta migratoria*) de manière occasionnelle, sans que l'auteur n'indique davantage de précision. Les adultes acceptent volontiers la nourriture à la pince, ce qui permet le contrôle de la prise alimentaire de chaque individu tout en les gardant au sein de groupes importants. Les juvéniles sont nourris avec des grillons de la taille d'une tête d'épingle et des *Drosophila hydei*. Tous les aliments sont saupoudrés de Nutrobal® (supplémentation en vitamines et minéraux) avant d'être distribués. Les adultes sont nourris tous les trois à six jours (selon la saison et les conditions), et les juvéniles quotidiennement jusqu'à six semaines d'âge (Tapley et Bradfield, 2008).

III - Particularités de la reproduction et élevage des juvéniles *Trachycephalus resinifictrix* en captivité

Trachycephalus resinifictrix est dans l'ensemble une espèce facile à élever et à reproduire en captivité.

A. Ponte et éclosion

Cette espèce est capable de pondre dans des plats en plastiques remplis d'eau mis à disposition à même le sol ou dans des trous d'arbres artificiels situés à 0,5 m de hauteur (Tapley et Bradfield, 2008).

La taille d'une ponte de *Trachycephalus resinifictrix* varie de 106 à 1540 œufs dans la nature. Au Zoo de Touroparc, situé en Bourgogne (France), la taille des pontes oscille entre 100 et 500 œufs. Ces derniers sont de couleur noire, de petite taille (environ 1,5 mm de diamètre) et sont entourés d'une capsule gélatineuse. En général, l'éclosion intervient après 24-48 h (Mignet, 2015).

B. Saisonnalité

En captivité, *Trachycephalus resinifictrix* peut se reproduire toute l'année. Ce phénomène est observé dans plusieurs structures (dont le Zoo de Jersey et le Zoo du Touroparc pris comme exemples ici). Cependant, les auteurs trouvent qu'il est préférable de laisser une période de repos aux animaux chaque année afin d'obtenir des pontes de meilleure qualité et d'assurer le bien-être des animaux (Tapley et Bradfield, 2008 ; Mignet, 2015).

Aux vues de la répartition géographique de l'espèce, essentiellement en milieu équatorial, on peut supposer que les individus présentent également dans leurs biotopes naturels une reproduction non saisonnée tout au long de l'année.

C. Élevage des larves

Mignet (2015) et Tapley et Bradfield (2008) décrivent chacun un élevage de *Trachycephalus resinifictrix* réussi au Zoo de Touroparc et au Zoo de Jersey (Tableau 6).

Tableau 6 : Comparaison de l'élevage des larves de *Trachycephalus resinifictrix* au sein de deux structures ayant émis des recommandations sur l'élevage de cette espèce (Tapley et Bradfield, 2008 ; Mignet, 2015).

	Zoo de Touroparc	Zoo de Jersey
Récolte des œufs	Laissés au sein du terrarium avec les adultes jusqu'à leur éclosion.	Non précisé.
Aquarium	Aquarium en verre, contenant 15-20 L d'eau osmosée.	Aquarium de 40 x 25 x 25 cm.
Substrat	Feuilles de chênes mortes.	
Filtre	Filtre à air en éponge.	Un filtre à air est utilisé pour la filtration et est nettoyé à chaque changement partiel d'eau.
Eau	Eau osmosée (pH 6,5, GH < 1 et KH < 1). Non chauffée, température fluctuant entre 23 et 25°C.	Eau du robinet. Non chauffée, température fluctuant entre 23 et 26°C.
Changement d'eau	Changement partiel de l'eau (environ 30 %) trois fois par semaine. Périodes entre chaque changement d'eau dépendant de facteurs comme le taux de nourrissage, le type de nourriture et la température de l'eau.	L'eau est changée à hauteur de 20 – 30 % du volume total deux à trois fois par semaine.
Séparation des têtards plus âgés ?	Oui, transférés dans un autre aquarium de 20-25 L, contenant de l'eau osmosée, des feuilles de chênes mortes et un ponton flottant. Un changement partiel d'eau est également réalisé trois fois par semaine	Non.

On remarque que les paramètres environnementaux sont dans l'ensemble assez similaires.

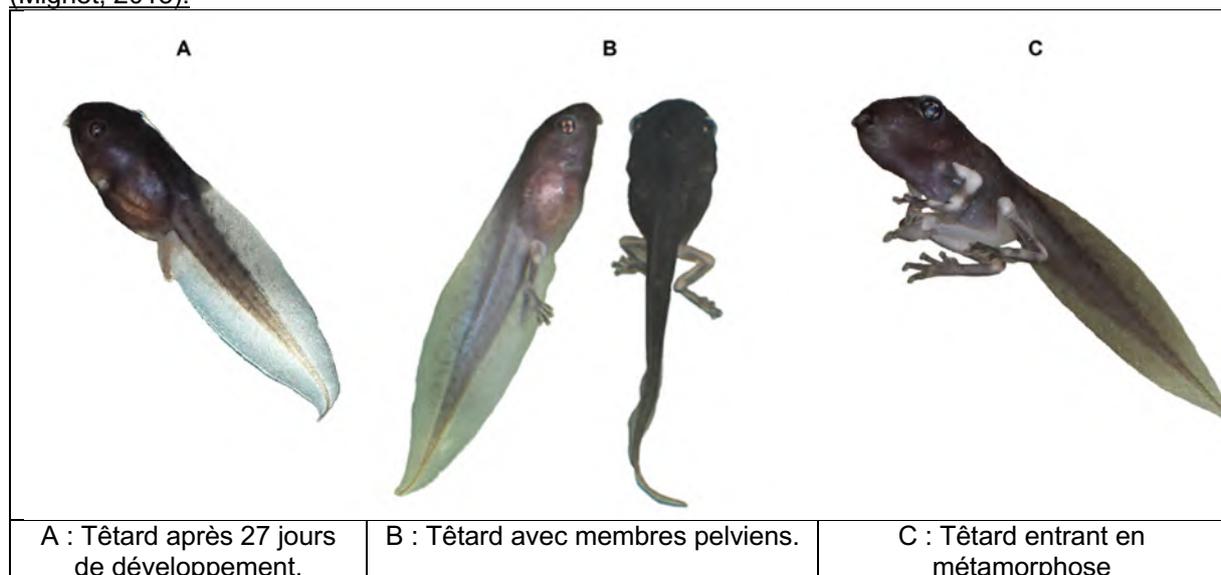
Dans la nature, les trous d'arbre sont tapissés d'une ou deux couches de feuilles mortes et de substances organiques en décomposition. Afin de recréer des conditions similaires et d'adoucir l'eau, des feuilles de chênes (*Quercus* sp.) ont été utilisées pour tapisser le fond de l'aquarium. Il est également possible de recourir à des feuilles de badamier (*Terminalia catappa*) vendues dans des boutiques spécialisées. On retrouve parmi les métabolites secondaires des feuilles de chênes et de badamier, du tannin, des alcaloïdes, des flavonoïdes et des saponines, possédant des propriétés antifongiques et antibactériennes qui protègent les têtards contre les infections.

L'avantage du filtre à air est d'être peu cher et permet un traitement de l'eau efficace sans affecter l'intégrité des têtards.

La densité des têtards doit aussi être prise en compte pour les changements d'eau. Dans la nature, la densité des larves peut être élevée, jusqu'à 16 têtards/litre, ce critère étant largement respecté au Zoo de Touroparc compte tenu du fait que l'aquarium était en mesure d'accepter jusqu'à 240 à 320 têtards. De plus, il est préférable de privilégier les faibles densités pour limiter la compétition.

S'il n'est pas indispensable de séparer les têtards en développement dans deux aquariums distincts, l'auteur recommande leur usage afin de faciliter la surveillance de la croissance et du développement des têtards (Mignet, 2015).

Figure 49 : Modifications morphologiques lors du développement larvaire de *Trachycephalus resinifictrix* (Mignet, 2015).



Les larves nouvellement écloses mesurent environ 5 mm de longueur et possèdent des branchies externes qui régresseront très rapidement. Juste après l'éclosion, les têtards flottent à la surface de l'eau durant plusieurs jours. Certaines larves peuvent atteindre jusqu'à 3,5 cm de longueur (queue comprise) après 4 semaines de développement. Quarante jours après l'éclosion, ils possèdent des membres pelviens. Après 6 semaines de développement, les têtards possèdent des membres thoraciques et la queue commence à régresser (Figure 49). Le moment de la métamorphose n'est pas documenté chez les têtards dans la nature (Mignet, 2015).

Au Zoo de Touroparc, les têtards se métamorphosent après 45-75 jours à une température de 23-25°C (Mignet, 2015). Elle a lieu vers 75 jours à une température de 23-27°C au zoo de Jersey (Tapley et Bradfield, 2008).

L'auteur a observé un taux de mortalité très bas durant le développement larvaire. Cependant, une grande variation dans la durée de développement a pu être observée. La plupart des têtards finissent leur métamorphose 10 semaines après la ponte, alors que certains ne se métamorphosent pas avant 14-16 semaines. Ces variations entre des individus d'une même ponte élevés dans les mêmes conditions peuvent s'expliquer par des différences génétiques, la compétition entre les larves, ou encore par des interactions différentes avec l'environnement. L'étendue de cette variabilité dans les conditions naturelles n'est pas connue (Mignet, 2015).

D. Individus fraîchement métamorphosés

Tableau 7 : Comparaison de l'élevage des juvéniles de *Trachycephalus resinifictrix* au sein de deux structures ayant émis des recommandations sur l'élevage de *Trachycephalus resinifictrix*, (Tapley et Bradfield, 2008 ; Mignet, 2015).

	Zoo de Touroparc	Zoo de Jersey
Taille du groupe	15 à 20 individus.	12 individus.
Terrarium	Terrarium en verre de type Exo-Terra® mesurant 30 x 30 x 45 cm. Comporte un petit bassin d'eau, de l'écorce de liège (<i>Quercus suber</i>) positionnée de manière à créer des cachettes, du bambou (<i>Bambusoideae</i>) et diverses plantes artificielles	Container en plastique de 25 x 14 x 20 cm. Répartition des groupes dans des containers de plus grands formats à mesure qu'ils grandissent. Bassine d'eau facilement accessible ajoutée. Branchages et plantes artificielles afin de permettre aux animaux de se cacher et de grimper
Substrat	Papier absorbant constamment humidifié.	
Température	Température similaire à celle des adultes, soit 24-29°C.	Même température que les adultes, à savoir entre 23 et 27°C.
Maintien de l'hygrométrie	Brumisation avec de l'eau osmosée à température ambiante réalisée deux fois par jour.	Pulvérisation deux fois par jour avec de l'eau du robinet à température ambiante.
Éclairage	Non précisé.	Lampe Reptisun 5.0.

Les juvéniles métamorphosés sont de mauvais nageurs et peuvent se noyer facilement. La profondeur de l'eau des bassins ne doit pas excéder 5 mm environ afin de permettre aux juvéniles de garder la tête émergée et d'éviter la noyade (Mignet, 2015).

Du papier absorbant constamment humidifié a été utilisé dans les deux cas pour des raisons hygiéniques (Mignet, 2015). De la sphaigne humidifiée (*Sphagnum*) peut aussi être employée comme substrat mais elle n'est pas recommandée par Tapley et Bradfield (2008) en raison du risque d'ingestion lors du nourrissage, pouvant causer un prolapsus cloacal (Tableau 7).

Les individus nouvellement métamorphosés mesurent entre 1 et 1,5 cm.

Malgré la croissance rapide survenant immédiatement après la métamorphose, elle s'avère globalement moins rapide qu'aux stades précédents, et ce, malgré un apport de nourriture abondant ; la maturité sexuelle ne semble pas être atteinte avant 2 ans et demi d'âge.

Toutefois, certains auteurs considèrent que les mâles atteignent leur maturité sexuelle entre 10 et 12 mois, et les femelles pondent leurs premiers œufs après 12-15 mois d'âge. En général, les grenouilles de grande taille atteignent leur maturité sexuelle après un an alors que les plus petites espèces l'atteignent plutôt durant leur seconde année. Au Zoo de Touroparc, les individus n'avaient pas encore atteint leur taille adulte moyenne (86 à 90 mm, jusqu'à 100 mm chez les femelles et 65-77 mm chez les mâles) après un an de développement. L'auteur pense qu'il est peu probable que les femelles atteignent leur maturité sexuelle à 1 an d'âge. Toutefois, il reconnaît n'avoir aucun moyen de vérifier cette assertion car aucune étude concernant la taille minimale atteinte lors de la maturité sexuelle n'a été réalisée chez *Trachycephalus resinifictrix* (Mignet, 2015).

Une mortalité inhabituelle a été observée par Mignet (2015) 2 à 3 semaines après la métamorphose. Certains individus présentaient de l'œdème et mouraient dans les 24-48 h suivant les premiers signes cliniques. L'œdème était essentiellement d'origine infectieuse (parasitaire, bactérienne, fongique, virale) ou causé par des toxiques comme les nitrites. De plus, des modifications de l'environnement ou des conditions environnementales inappropriées peuvent être sources de stress et contribuer au développement de maladies. La manipulation des individus, la présence du public sont d'autres sources de stress pouvant contribuer à la mortalité observée.

IV - Le bien-être

A. Stress et bien-être

Le stress peut être défini comme tout événement de nature biologique, physique, chimique, émotionnelle pouvant perturber ou menacer l'homéostasie, et implique la mise en place d'une réponse adaptative visant à restaurer l'homéostasie. Lorsque le stress résulte d'un dommage physique ou mental, le bien-être de l'animal est compromis, c'est pourquoi stress et bien-être sont intimement liés (Hunt, 2019).

Selon le Farm Animal Welfare Council (Conseil pour le bien-être des animaux de la ferme) (1992), le bien-être animal repose sur cinq libertés fondamentales :

- Absence de faim, de soif, de malnutrition ;
- Absence d'inconfort physique ;
- Absence de douleur, maladies et blessures ;
- Expression de comportements normaux ;
- Absence de peur, d'anxiété, détresse.

Un stimulus provoquant une réponse de stress est qualifié de stressogène. Les *stimuli* stressogènes peuvent être divisés en deux catégories (Tableau 8).

Bien-être physique et bien-être psychologique sont intimement liés. Toute agression physique ou dysfonction peut avoir un impact sur le comportement, engendrant un stress psychologique, et impactant souvent négativement la santé physique de l'individu physiquement par action sur le système immunitaire, la reproduction et la croissance. Il est essentiel d'en tenir compte pour assurer un bon élevage (Hunt, 2019).

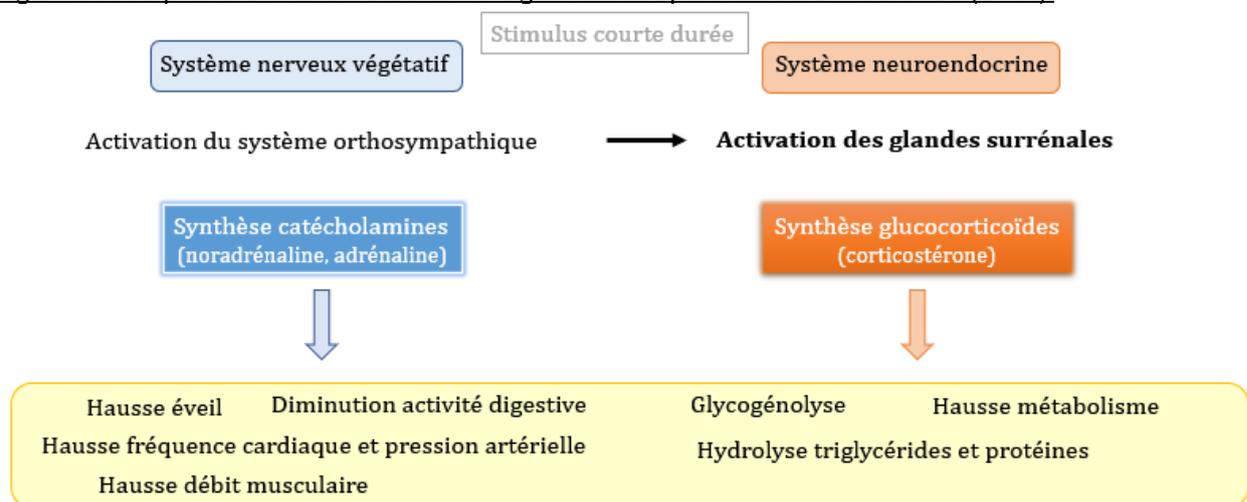
Tableau 8 : Exemples de stimuli stressogènes chez les amphibiens en captivité (Hunt, 2019).

Sources de stress psychologique	Sources de stress physique
Elles n'agissent pas directement sur la physiologie de l'individu mais peuvent être le signe d'un défi physique imminent et ainsi induire une réponse de stress en l'absence d'une agression physique réelle.	Elles affectent la capacité de l'animal à maintenir l'homéostasie et nécessitent la mise en place de modifications physiologiques afin de faire face au stress.
<ul style="list-style-type: none"> • Dominance sociale ; • Densité excessive ; • Confinement ; • Nouvel environnement ; • Interactions avec l'homme ; • Manque d'abris appropriés ; • Différence excessive de taille avec les congénères ; • Hiérarchie sociale mal établie. 	<ul style="list-style-type: none"> • Environnement inadapté : température, hygrométrie, photopériode, inappropriés ; • Privation : de nourriture, d'eau, de dioxygène ; • Régime inadapté : malnutrition ; • Maladies ; • Traumatisme ; • Reproduction : combats entre mâles, production des gamètes.

B. Physiologie du stress et effet sur l'organisme

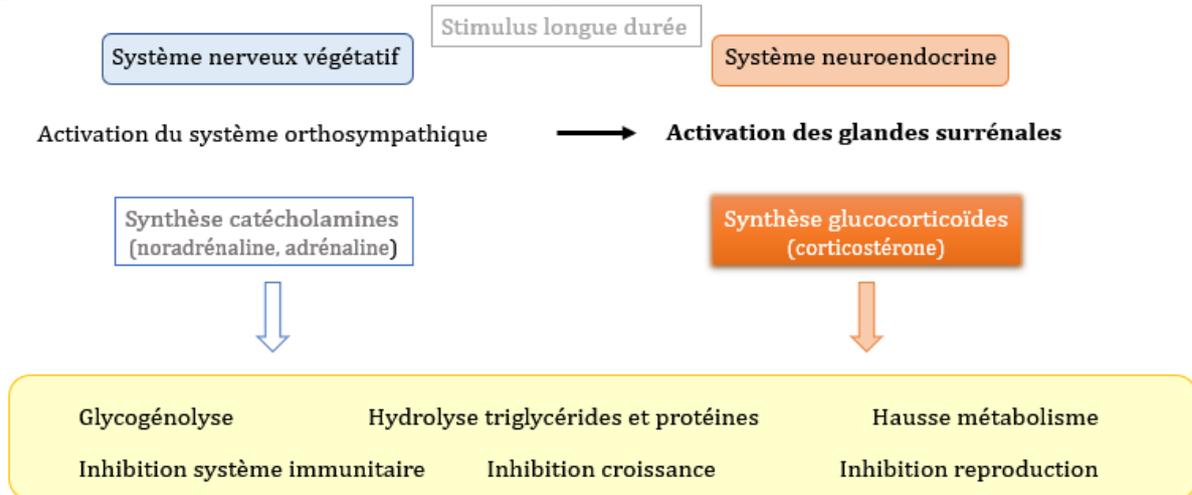
Le stimulus stressogène active l'hypothalamus (Figure 50). Il s'ensuit une réponse du système nerveux végétatif avec activation de l'orthosympathique ainsi qu'une réponse du système neuroendocrine avec une activation des glandes corticosurrénales via l'axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien et une production de glucocorticoïdes, préparant le corps à une situation de combat ou fuite. L'activation de ces deux systèmes rend immédiatement disponible l'énergie, augmente les débits ventilatoire et cardiaque, redistribue la circulation sanguine vers les zones indispensables aux mouvements, inhibe la digestion, la croissance, le système immunitaire et la perception de la douleur. Ce système est efficace pour répondre à des stress aigus (Hunt, 2019).

Figure 50 : Réponse de stress à un stress aigu. Schéma personnel basé sur Hunt (2019).



Dès lors que le stress devient chronique, la réponse va persister, avec une prédominance du système neuroendocrine (Figure 51). Un stress chronique se développe lorsque le stimulus stressogène persiste et que l'animal devient incapable d'y faire face. On rentre alors dans un état pathologique qui compromet les fonctions biologiques de l'individu (Hunt, 2019).

Figure 51: Réponse de stress à un stress chronique. Schéma personnel basé sur Hunt (2019).



Un stimulus stressogène, lorsqu'il est prévisible, contrôlable, de courte durée et d'intensité plutôt modérée, induit une perception du stress amoindrie voire annulée correspondant à une situation de résilience.

Au contraire, un stress ni prévisible ni contrôlable, de longue durée, va évoluer vers un état pré-pathologique qui dégènera en un état pathologique en raison d'une suractivation de la réponse de stress de l'organisme. Il s'ensuit une situation de particulière vulnérabilité pour l'animal chez lequel la mobilisation énergétique excessive et l'inhibition des fonctions biologiques peuvent conduire à la maladie puis la mort.

L'exposition répétée à un stimulus peut mener à des adaptations des fonctions biologiques et de la perception de ce stress, conduisant à une tolérance du stimulus autrefois considéré comme stressogène (Hunt, 2019).

C. Stress lié à la captivité

Les amphibiens captifs dépendent entièrement des soigneurs pour subvenir à leurs besoins, en termes d'accès à des abris, à la nourriture et à l'eau, ainsi qu'aux paramètres environnementaux appropriés. Les signes de stress chez les amphibiens sont initialement subtils, discrets et non spécifiques comme un ralentissement de croissance, une perte de poids, un parasitisme plus important, une augmentation ou une diminution de l'activité et une incapacité à réaliser correctement sa thermorégulation. Il semblerait que l'élevage en captivité sur plusieurs générations sélectionne des individus mieux adaptés à la vie en captivité et donc moins à même de souffrir de stress vis-à-vis de cette condition. En effet, même pour des spécimens placés dans des conditions compatibles avec les besoins physiologiques de son espèce, la captivité peut potentiellement demeurer source de stress. Une façon de gérer cette problématique consiste en l'acclimatation de l'animal à la captivité (Hunt, 2019).

1) Contention et manipulation

Un autre facteur stressogène inévitable en captivité est la manipulation. Dans la nature, la contention est souvent synonyme de capture par un prédateur, ce qui explique aisément la raison du stress associé. La manipulation conduit à une augmentation de la sécrétion de catécholamines et de corticostérone même chez des individus habitués aux humains. Toutefois, l'acclimatation à la manipulation par certains individus est possible (Hunt, 2019).

L'entretien quotidien du terrarium peut également être source de stress en raison de l'élimination des signaux chimiques présents. Il a été montré que les serpents déposaient des phéromones afin de

marquer leur territoire et que le retrait des fèces ainsi que le nettoyage du terrarium perturbaient la reproduction de la salamandre cendrée (*Plethodon cinereus*), il n'est donc pas exclu que cela soit également le cas chez les anoures. Chez les reptiles, les terrariums naturalistes pourraient diminuer le stress en proposant des microclimats variés et en favorisant l'expression des comportements naturels. De plus, s'ils sont bien gérés, ces types de terrariums nécessitent moins d'entretien, ce qui limite la perturbation des animaux ; dans le cas contraire, la pression infectieuse peut être importante et favoriser le développement de maladie. Toutefois, autant chez les amphibiens (dont les anoures) que chez les reptiles, les parois transparentes peuvent présenter un facteur stressogène potentiel même dans les terrariums naturalistes (Hunt, 2019).

Le stress potentiellement important associé à tout examen clinique, complémentaire ou lors d'administration de traitements, doit faire systématiquement considérer au praticien la balance risque/bénéfique tout en gardant à l'esprit que le déclenchement d'une réponse de stress peut avoir des conséquences catastrophiques sur un animal débilisé. Il faut alors réduire au maximum la durée du stress associée à la contention : l'ensemble des instruments, équipements et traitements nécessaires doivent être préparés à l'avance autant que possible. Il est également préférable de réaliser l'examen dans une pièce au calme dédiée, préalablement nettoyée et désinfectée, à l'abri de *stimuli* olfactifs et sonores perturbateurs pouvant provenir d'autres espèces d'animaux précédemment examinés (Hunt, 2019).

En général, plus l'animal est petit, moins il est à même de tolérer les périodes de contact prolongées avec une peau humide chaude et relativement salée. De nombreuses informations cliniques peuvent être obtenues sans manipulation, à savoir la posture générale, l'aspect de la peau, la présence de dysecdysis (mue anormale), le score corporel et l'appétit (Pasmans et Martel, 2019b).

L'usage de gants en vinyle non poudrés, légèrement humidifiés, est fortement recommandé pour la manipulation des animaux, afin d'en protéger la peau. Les gants en latex sont déconseillés en raison des réactions allergiques qu'ils peuvent provoquer chez les amphibiens, notamment après des manipulations répétées. Les auteurs recommandent également de changer de gants entre chaque animal, afin d'éviter la transmission des maladies mais aussi en raison des risques d'intoxications par les sécrétions cutanées pouvant adhérer aux gants. Tous les amphibiens doivent être considérés comme possédant des toxines cutanées pouvant causer des irritations voire des intoxications dans certains rares cas. Les grenouilles de la famille des Dendrobatidés et du genre *Mantella* sont particulièrement réputées pour leur caractère toxique. Certains amphibiens comme les grenouilles du genre *Trachycephalus* peuvent causer des irritations des muqueuses même sans contact direct. En général, les toxines proviennent des proies ingérées, qui, n'étant pas présentes en captivité, font que la toxicité des batraciens est perdue (Helmer et Whiteside, 2005 ; Pasmans et Martel, 2019b).

Les anoures sont contenus en attrapant l'animal juste en avant des membres pelviens (Figure 52). Les amphibiens ayant une peau visqueuse peuvent être maintenus avec une serviette ou du papier humidifiés, voire une épuisette.



Figure 52 : Contention d'un anoure en avant des membres pelviens.
Photo de F. Pasmans (Pasmans et Martel, 2019b).

Une faible minorité d'entre eux sont susceptibles de mordre lorsqu'ils sont attrapés comme les grenouilles cornues (*Ceratophrys* sp., *Lepidobatrachus* sp. et *Pyxicephalus* sp.) et certaines salamandres (Pasmans et Martel, 2019b). Au contraire, certains individus peuvent simuler la mort à l'instar de *Leptopelis macrotis*. Les autres types de réactions observées sont une résignation et une immobilisation, une miction ou des vocalises (Wright, 2001d).

L'examen des petits amphibiens peut également être facilité par l'usage d'un bocal en verre, d'une boîte en plastique avec un couvercle ou encore d'un sac plastique transparents. Une observation de près est

alors possible sans oublier d'observer le ventre de l'animal. Un érythème cutané peut être le signe d'une maladie sous-jacente ou résulter d'une simple agitation du patient ; toutefois, un érythème cutané lié au stress disparaît en quelques minutes contrairement à celui provoqué par une affection. Chez certaines espèces, comme les grenouilles de verre (Centrolenidés), les organes sont visibles à travers la paroi cutanée abdominale qui est transparente, et sont donc visibles à travers une vitre lorsque l'animal se pose dessus. Une transillumination peut être réalisée pour améliorer la visualisation de ces organes (Wright, 2001d).

Enfin, dans certains cas, une contention chimique peut être effectuée lorsque l'évaluation de l'animal vigile s'avère compliquée, en particulier avec de la tricaine méthanesulfonate (MS-222) en immersion, en exploitant la perméabilité cutanée des grenouilles (Figure 53) (Wright, 2001d).



Figure 53 : Contention chimique de *Bufo guttata* dans un bain de tricaine méthanesulfonate. Photo de G. Grall, Aquarium National de Baltimore. (Wright, 2001d).

Des alternatives aux traitements par voie orale et parentérale doivent être privilégiées dès que possible, notamment les administrations percutanées, qui sont disponibles pour certains antiparasitaires (métronidazole, lévamisole par exemple). Dans le cas où un gavage est nécessaire, l'ouverture de la cavité buccale peut être réalisée au moyen d'un objet atraumatique comme une carte de crédit ou une seule de papier pliée (Pasmans et Martel, 2019b).

Les signes cliniques pouvant révéler la présence d'un événement stressogène chez les amphibiens sont présentés par les Figures 54 et 55.

Figure 54 : Signes cliniques pouvant être révélateurs d'un stress chez les amphibiens (Hunt, 2019 ; Pasmans et Martel, 2019b).

❖ **Signes de stress :**

Changement de coloration cutanée (Figure 55) ;
Gueule ouverte ;
Gonflement (corps, gorge) ;
Décubitus latéral ou sternal ;
Tentative d'évasion ;
Retard de croissance ;
Comportement inadéquat : diminution de l'activité non conforme avec le moment du cycle biologique, temps de baignade inhabituellement long ;
Immunodépression ;
Anorexie ;

❖ **Lors d'une manipulation stressante, on peut observer :**

Production cutanée excessive ;
Caudectomie (chez certains urodèles) ;
Vocalises ;
Mictions ;
Immobilisation totale.

Figure 55 : Changement de coloration chez *Trachycephalus resinifictrix* suite à une contention, (photographie personnelle).



La douleur est également une cause de stress et de mal-être chez les amphibiens. Les signes de douleur aiguë sont les contractures, les comportements aversifs vis-à-vis de *stimuli* désagréables et les tentatives de morsure. Une douleur chronique sera associée à des signes non spécifiques, d'abattement et de perte de poids (Hunt, 2019).

2) Stress lié aux congénères

Le stress psychologique peut être causé par un regroupement social inapproprié : certaines espèces sont solitaires ou territoriales, et leur maintien en groupe peut être source de stress. La plupart des amphibiens ne sont pas sociaux, mais peuvent l'être à certains stades de leur vie (notamment les stades larvaires et juvéniles). D'autres peuvent se regrouper durant certains événements (reproduction) et demeurer solitaires le reste de l'année. Cela est davantage rapporté chez les reptiles, où chez certaines espèces (*Iguana Iguana*, *Chamaeleo* spp.), le regroupement social de plusieurs individus entraîne souvent une compétition pour les ressources (nourriture, sites de repos etc.) (Hunt, 2019).

Bien qu'ils soient en mesure de tolérer une densité de population relativement élevées, les mâles de nombreuses espèces comme les *Dendrobates* peuvent alors exprimer des comportements agressifs (Pasmans et Martel, 2019b).

Les mâles *Trachycephalus resinifictrix* étant territoriaux, il n'est donc pas exclu qu'ils expriment également des comportements agressifs vis-à-vis de leurs congénères de même sexe.

Il est préférable dans ce cas de mettre un seul mâle avec une ou plusieurs femelles dans un même terrarium. Autrement, les agressions manifestes ou non peuvent déclencher des signes de stress chez les animaux agressés, se manifestant potentiellement par de l'anorexie, des comportements anormaux et une plus grande susceptibilité au développement d'infections secondaires (Durso et Maerz, 2019).

En général, seuls des amphibiens de même taille peuvent cohabiter, car le cannibalisme est courant. Bien que de nombreuses larves vivent en communauté importante dans la nature, d'autres comme celles de *Dendrobates* sont cannibales et doivent être maintenues en petits groupes composés d'individus de taille similaire, voire isolées (Durso et Maerz, 2019).

3) Stress lié au logement

Les contraintes d'un environnement captif peuvent être à l'origine de tentatives de fuite ou des stéréotypies induisant des automutilations (Hunt, 2019).

Les signes de stress chez les amphibiens sont variés et sont difficiles à reconnaître. Ils masquent généralement leurs signes cliniques et il n'est pas impossible d'observer des animaux « cliniquement sains » mourir brusquement. Ces situations ont surtout lieu lorsque les individus sont conservés dans des environnements où leurs activités et comportements normaux ne peuvent être exprimés (Hunt, 2019).

V - Aménagement du terrarium

A. Généralités

Tout type de matériel peut être utilisé pour aménager un environnement diversifié se rapprochant autant que faire se peut de l'histoire naturelle de l'espèce et de son habitat d'origine.

La majorité des amphibiens terrestres doit être hébergée dans un terrarium proposant un gradient d'humidité et un bac d'eau dont la taille et la profondeur soient adaptées au gabarit. Les dimensions du terrarium doivent également tenir compte de la biologie de l'espèce, par exemple les anoures arboricoles doivent disposer de suffisamment de hauteur pour leur permettre de grimper (Pasmans et Martel, 2019b). Par conséquent, les terrariums des espèces terrestres comme les *Dendrobates*, *Mantella* et *Megophrys*, seront très différents de ceux destinés aux espèces arboricoles comme *Gastrotheca*, *Rhacophorus* ou *Trachycephalus* (Pramuk et Gagliardo, 2012).

Il est possible d'avoir recours à du papier essuie-tout comme substrat (sauf pour les espèces fouisseuses), tout en aménageant des cachettes faciles à inspecter et à nettoyer comme des tubes de PVC, et en installant un bac d'eau de taille adapté à l'espèce. L'usage de papier essuie-tout facilite l'inspection et la récolte de fèces pour l'examen coprologique. La production de selles est un bon indicateur de l'appétit de l'animal et l'inverse suggère une anorexie. Durant la quarantaine, il faut garder les animaux en isolement. Il faut éviter au maximum de les déranger et de les manipuler. Pour les espèces nerveuses, faire en sorte que les surfaces transparentes soient clairement apparentes (en collant du papier coloré sur la vitre par exemple) permet d'éviter le développement d'ulcérations rostrales. La taille du container des anoures doit être au moins de la longueur d'un saut de grenouille pour éviter les traumatismes. Les espèces grimpantes apprécient la diversité de surfaces en hauteur (par exemple des tubes en PVC, des branches ou des plantes artificielles). Il est préférable de ne pas utiliser de plantes vivantes dans le secteur de quarantaine car elles doivent être décontaminées entre chaque animal (Pasmans et Martel, 2019b).

Pour l'aménagement du terrarium, un substrat et des plantes synthétiques ou naturelles peuvent être indifféremment utilisés. Dans le premier cas, le milieu, et notamment la charge infectieuse sont plus facilement contrôlables car plus simples à décontaminer et renouveler. Dans le second cas, les animaux disposent d'un environnement plus proche de leurs biotopes naturels mais l'hygiène doit y être irréprochable (Mouret, 2001).

Les anoures sont généralement des animaux de petit gabarit. Il est indispensable de voir au-delà du macroenvironnement où ils se trouvent car à leur échelle, l'interface avec le sol, la surface d'une feuille, le fond d'un bassin d'eau ou encore à l'abri de pierres et rochers constituent leur microhabitat. Les paramètres de température, l'hygrométrie et d'intensité de l'éclairage appliqués à l'échelle du terrarium peuvent donc ne pas correspondre à ce que les individus ressentiront réellement (Barnett *et al.*, 2001).

B. Type de contenant pouvant être utilisé comme base du terrarium

Tableau 9 : Présentation des différents matériaux utilisés pour le terrarium des anoures (Mouret, 2001 ; Barnett *et al.*, 2001 ; Pramuk et Gagliardo, 2012).

Matériau	Avantages	Inconvénients
Verre	Non poreux, facile à nettoyer. Facile à désinfecter et à assembler. Transparent : intéressant pour la paroi frontale et l'observation des animaux.	Transparent : source de stress et de traumatisme chez de nombreuses espèces. Facilement fêlé et cassé.
Plastique (matériau spécifique pour aquarium ou de qualité alimentaire)	Non poreux, facile à nettoyer. Facile à travailler pour créer des ouvertures de ventilation ou de drainage. Plus léger que le verre et plus résistant aux fêlures et cassures. Généralement bon marché. Disponible en de nombreuses tailles et formes (aquarium type Hagen®, Ferplast®), en général, tous les containers en plastique sont adaptés pour un maintien dans de bonnes conditions de façon temporaire (lors du nettoyage, transport, quarantaine).	Facilement rayé : perturbation de l'éclairage sur le temps, facilite l'échappement des proies qui peuvent s'accrocher à sa surface. Nécessite un polissage régulier pour le garder transparents. Absorption des produits chimiques plus importantes que le verre. Fragilisation et jaunissement après exposition prolongée au UV. Moins esthétique que le terrarium en verre, mais adapté pour les terrariums non exposés au public. Certains terrariums (acrylique ou polycarbonate) peuvent être chers à l'achat, mais présentent un bon investissement selon les auteurs.
Contreplaqué marine, médium, plaques de mélaminé ou de formica pour recouvrir un bois nu.	Moins cassants, non coupants, souvent moins chers, opaques.	Nécessitent l'ajout d'une paroi frontale transparente. Si les matériaux n'ont pas été étudiés pour résister à l'humidité (autres contreplaqués et agglomérés), ils peuvent devenir un milieu de culture pour les champignons et les bactéries.

Les terrariums couramment utilisés sont souvent en verre, en fibre de verre ou autres matériaux de synthèse. L'usage de matériaux non poreux et facilement nettoyables doivent être privilégié (Tableau 9). L'usage du verre est le plus répandu car facile à désinfecter et à assembler. Toutes les installations doivent disposer d'un couvercle hermétique afin de prévenir les évasions, sans entraver la ventilation et l'éclairage. Le placement d'une grille en bas de la vitre frontale et d'une autre en haut de la vitre arrière permet une ventilation statique sans générer de courants d'air ni refroidir l'enceinte. Pour des constructions plus grandes, d'autres aérations sont à prévoir. La porte peut se trouver sur la vitre frontale, à l'arrière ou sur une face latérale, dans la mesure où elle reste facile à atteindre sans déplacer le bac. Il est préférable de privilégier l'ouverture latérale par rapport à une ouverture en couvercle qui peut être source de stress pour les animaux, l'approche de l'humain pouvant miner celle d'un prédateur. Enfin, il faudra prévoir une bonne filtration et un renouvellement d'eau adéquat (Mouret, 2001 ; Pramuk et Gagliardo, 2012).

Les containers en plastique sont notamment privilégiés lorsque qu'un terrarium simple, bon marché, à usage temporaire et nécessitant une hygiène irréprochable est désiré (Figure 56).

Ceux-ci peuvent être construits de manière à ce que les effluents aboutissent dans des seaux en plastiques (en système ouvert) (Pramuk et Gagliardo, 2012).

Figure 56 : Un exemple de terrariums construits avec des bacs en plastique, à système ouvert, utilisés pour les quarantaines. Photo de J. Pramuk (Pramuk et Gagliardo, 2012).

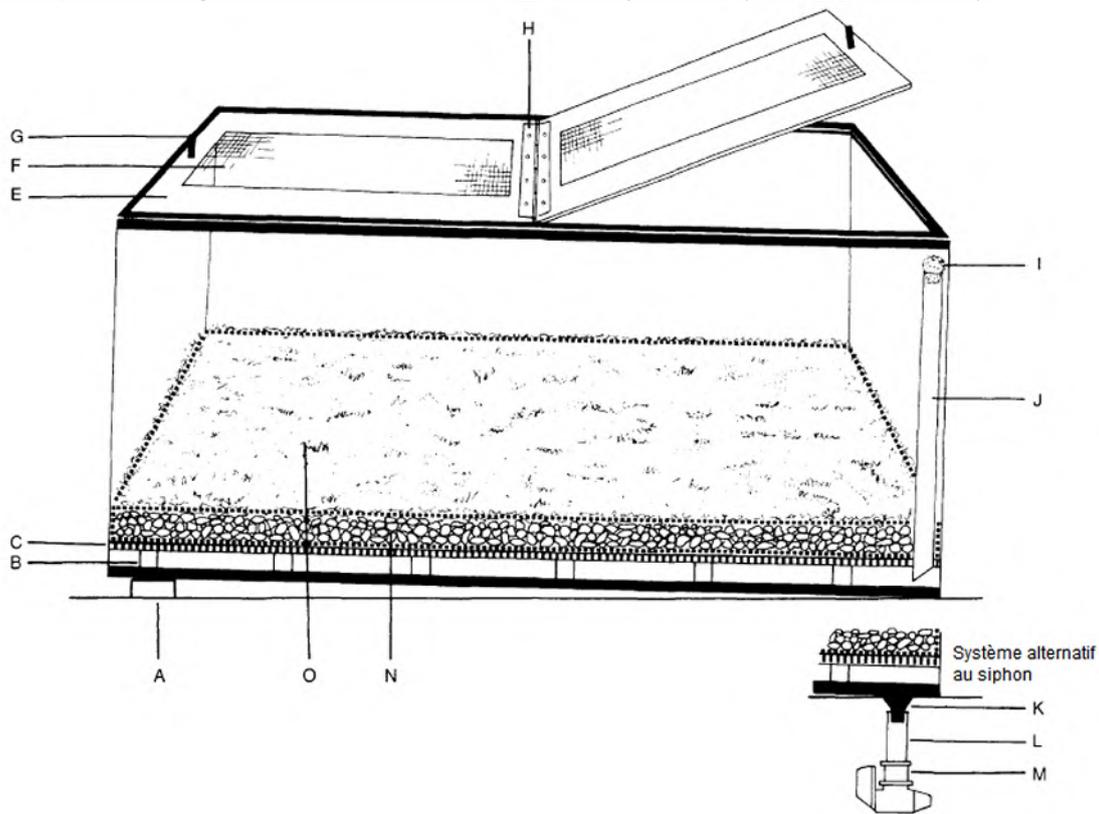


Pour la plupart des petites grenouilles terrestres, des aquariums de 75 L, équipés d'un couvercle et d'une zone de ventilation conviennent. Les espèces arboricoles, nerveuses et/ou facilement stressées, ont davantage tendance à s'évader et à se blesser dans de nombreux types d'installations (Pramuk et Gagliardo, 2012).

Un accès facile au container d'eau est indispensable pour éviter les noyades, notamment chez les juvéniles métamorphosés, mais aussi pour les adultes terrestres qui sont de mauvais nageurs. Pour les parties aquatiques, les mêmes critères relatifs à la qualité de l'eau sont applicables, notamment pour les petits bacs d'eau qui sont susceptibles d'être souillés par les fèces et les restes d'insectes (Pasmans et Martel, 2019b).

Il faut souvent trouver un compromis entre un terrarium très naturaliste, et l'autre extrême, à savoir une boîte simple tapissée de papier essuie-tout. Il peut contenir un système de drainage, avec un double-fond, ainsi que des plantes. Ce type d'installation évite le développement de parasites qui pourrait intervenir dans les systèmes fermés ou les systèmes ouverts contenant des substrats en quantité excessive. Une installation simplifiée facilite le nettoyage et permet un bon suivi des déjections par coproscopie (Pramuk et Gagliardo, 2012). Un exemple d'aménagement d'un terrarium destiné aux anoures est illustré par la Figure 57.

Figure 57 : Vue latérale d'un terrarium classique sans fourniture utilisé à l'Aquarium National de Baltimore pour l'élevage des anoues. Illustration de Sandy Barnett (Barnett *et al.*, 2001).



- A : cale de 2,5 cm x 5 cm pendant de soulever le terrarium et faciliter le drainage.
- B : piliers réalisés par des sections de tubes PVC pour créer un double fond.
- C : double fond réalisé avec une plaque en plastique (type caillebotis ou plaque de PVC perforée).
- E : Couvercle en polychlorure de vinyle constitué de deux ouvertures, avec une poignée de chaque côté (G), et reliés par des charnières (H).
- F : Plaque en fibre de verre démontable.
- J : Siphon en plastique fixé avec de la silicone, se prolongeant sous le double fond pour permettre le siphonnage des eaux usagées et déjections s'étant accumulés sous le double fond. Il est bouché par une mousse filtrante (I) en dehors de son utilisation afin d'éviter que les animaux ou des débris n'y pénètrent.
- K, L, M : un système de drainage cloisonné peut être une alternative au syphon. Pour cela, une ouverture doit être rajoutée au fond du terrarium afin d'y connecter le système.
- N : Couche de gravier fin.
- O : Couche humide constituée de mousse réhydratée (*Sphagnum*).

C. Systèmes ouverts et fermés

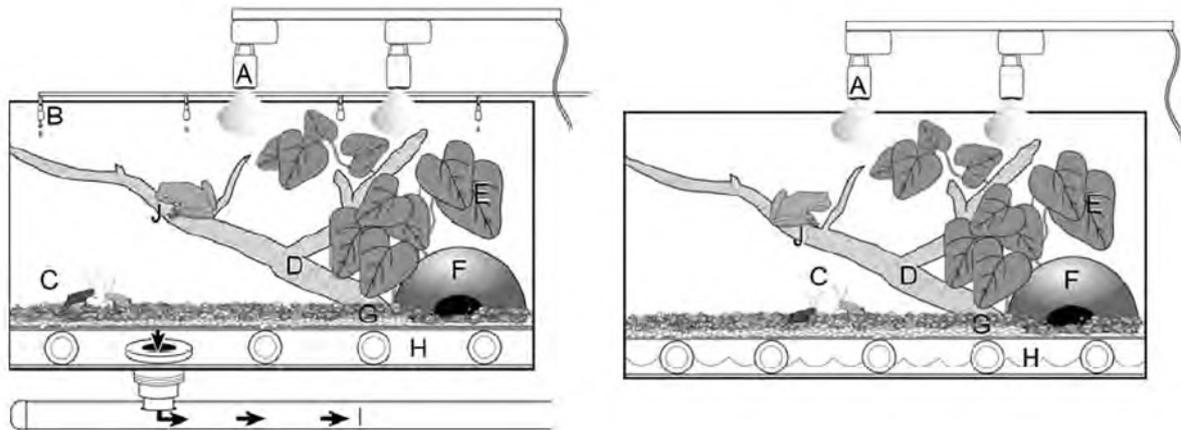
Tous les terrariums, quels que soient leurs tailles, formes et usages, constituent un mini-écosystème vivant, où des ressources biotiques et abiotiques (animales, eau, éclairage, chaleur etc.) ont été réunies et que, des processus biologiques naturels plus ou moins complexes doivent être en mesure de s'y dérouler. Il existe deux types de systèmes fondamentaux en relation avec les installations destinées aux amphibiens : les systèmes fermés et ouverts. Le choix du type de système repose sur les besoins prédéfinis de l'installation. En effet, si les systèmes ou le programme d'élevage requièrent des conditions d'hygiène importantes, les installations avec système ouvert seront privilégiées (Pramuk et Gagliardo, 2012). Le tableau 10 et la figure 58 illustrent les différences entre ces deux systèmes.

Tableau 10 : Particularités associées aux systèmes ouverts et fermés (Pramuk et Gagliardo, 2012).

	Système ouvert	Système fermé
Avantages	<ul style="list-style-type: none"> - Hygiène +++ - Présence d'un système de drainage ou d'écoulement des eaux usées et des déchets. - Système facilitant le rinçage de l'installation de manière régulière, facile et fréquente. - Adapté dans les situations où l'humidité est maintenue en permanence au travers d'une chambre à pluie ou par des cycles de brumisation automatiques. - Intéressantes pour les espèces nécessitant un bassin, notamment les espèces aquatiques. - Système de filtration non nécessaire en raison du renouvellement régulier de l'eau au sein de l'installation. 	<ul style="list-style-type: none"> - Facile et rapide à assembler. - Indépendant d'un système de tuyauterie complexe : facilement déplacé et isolé.
Inconvénients	<ul style="list-style-type: none"> - Montage plus complexe pour permettre l'apport d'eau douce et la sortie des déchets. - Attention particulière à porter aux tubes de drainage : obstruction, fuite ou aspiration accidentelles d'animaux ou de nourriture. 	<ul style="list-style-type: none"> - Ne permet pas l'écoulement de l'eau et des déchets : nécessite une attention particulière pour le drainage et le nettoyage. ⚠ Excès d'eau, pression infectieuse et niveau toxique des déchets.

Dans les installations dépourvues de système de drainage, il faut veiller à bien maintenir un équilibre correct entre les différents microorganismes métabolisant les déchets azotés. L'usage de plantes absorbant les déchets azotés est un excellent moyen de d'entretenir un écosystème de qualité dans ce genre d'installation (Pramuk et Gagliardo, 2012).

Figure 58 : Différences entre un système ouvert (à gauche) et fermé (à droite) dotés d'un couvercle hermétique permettant la ventilation, illustration de J. Pramuk (Pramuk et Gagliardo, 2012).



- A : Source lumineuse.
- B : Tête de brumisation reliée à une pompe permettant une brumisation automatique, dispositif possible seulement en système ouvert.
- C : Proies. Elles contribuent à l'ajout supplémentaire de déchets azotés au terrarium.
- D : Fourniture du terrarium (ici une branche d'arbre).
- E : Plante vivante, consommant les produits azotés retrouvés dans le substrat.
- F : Cache (coque de noix de coco avec une ouverture latérale).
- G : Substrat (gravier fin recouvert de sphagnum humidifié et de feuilles par exemple).
- H : Double fond, recouvert d'une couche de fibre de verre pour séparer le substrat, les proies et les animaux, de la zone de drainage. Dans le système fermé, un réservoir de collecte est présent sous le double fond, à défaut du système de drainage.
- I : Drain relié à un système cloisonné permettant l'évacuation des eaux usagées et des déchets organiques hors du système.
- J : Grenouille.

Un autre type d'installation fonctionnant comme un système ouvert utilise des terrariums du commerce ou peuvent être construits à partir d'une structure en tuyaux de PVC recouverte d'un filet en plastique cousu. Ces installations grillagées sont légères, faciles à assembler, à déplacer et à nettoyer avec un rinçage périodique des filets (Figure 59). Le plus gros des déchets peut être retiré manuellement, puis le reste de l'installation rincée avec de l'eau filtrée ou ayant « vieilli » pour éliminer le chlore. Ce type d'installation est très utile en intérieur pour les *Phyllomedusa* qui aiment à se prélasser, mais également pour les Hylidés de grande taille qui pourraient se blesser en sautant au sein d'un terrarium en verre (Pramuk et Gagliardo, 2012).



Figure 59 : Exemple de terrariums légers et grillagés facilement déplaçables pouvant être utilisés pour les espèces arboricoles. Ils nécessitent d'être placés dans une pièce où les paramètres climatiques sont optimaux pour l'espèce hébergée. Photo de R. Gagliardo (Pramuk et Gagliardo, 2012).

À titre d'exemple, les *Trachycephalus resinifictrix* du Zoo de Jersey vivent dans deux types d'installations comprenant chacune cinq individus. Le bac hors exposition est un contenant de stockage en plastique reconverti mesurant 60 x 80 x 60 cm doté d'un couvercle en treillis mécanique pour assurer la ventilation. Il n'y a pas de substrat dans cette installation. Des branches de 3 cm de diamètre sont utilisées ainsi que des tuyaux PVC de 15 cm de longueur pour 7 cm de diamètre. Les tuyaux en PVC sont coupés en deux dans le sens de la longueur afin de créer des abris au fond du terrarium et des plantes artificielles sont rajoutées sur les côtés afin de proposer davantage de cachettes.

La deuxième installation, en l'exposition, héberge deux espèces (*Trachycephalus resinifictrix* et *Dendrobates azureus*) et mesure 2 x 1 x 1,2 m. Le substrat est constitué de tourbe et de litière végétale. Des branches d'arbres et des plantes naturelles sont fournies et des trous d'arbres artificiels sont fabriqués à l'aide de sections de tuyaux d'évacuation scellés à une extrémité (Tapley et Bradfield, 2008).

D. Recommandations générales sur les matériaux utilisés dans la construction et l'aménagement du terrarium

Les équipements, les refuges et le décor de fond du terrarium sont importants au bien-être des animaux.

1) Colles et enduits de scellement

Seuls les colles et les enduits de scellement à base de silicone ou les colles époxy bi-composants sont utilisables en toute sécurité. Les matériaux récemment collés doivent être séchés puis rincés à l'eau abondamment (Pasmans et Martel, 2019b).

2) Fond du terrarium

Les décors du fond du terrarium peuvent être réalisées à base de béton. Ce dernier est robuste, durable et peut paraître naturel lorsqu'il est teinté d'une couleur mimant celle de la terre ou de la boue. Cependant, il présente de nombreux inconvénients, dont son poids et sa nature poreuse. De plus, les grenouilles actives ont tendance à abraser leur nez contre la surface rugueuse du béton en chassant, ce qui peut conduire à des infections systémiques et à la mort. Ainsi, la surface bétonnée doit être aussi lisse que possible lors de sa pose. Ce matériau laisse lessiver de la chaux pendant très longtemps après avoir été fabriqué, générant un pH très basique potentiellement toxique pour les amphibiens. Les lavages à l'acide sont susceptibles de résoudre le problème, du moment que le béton a bien été mûri. Cependant, le pH doit être testé périodiquement pendant plusieurs mois avant d'y introduire des amphibiens. Sceller le béton permet de réduire sa porosité (Pramuk et Gagliardo, 2012).

La fibre de verre et les décors à base de résine ont l'avantage d'être légers et de pouvoir être façonnés sous forme de rochers, bancs de sables etc. Cependant, leurs composants peuvent relarguer des vapeurs chimiques potentiellement toxiques pour les animaux et les plantes. Par contre, cette phase toxique dure moins longtemps que celle du béton, et ils sont généralement inertes une fois mûris. Ces matériaux sont plus difficiles à travailler que le béton, et nécessitent une formation particulière, une bonne ventilation et des équipements de protection pour le personnel, mais le rendu esthétique est très satisfaisant et durable (Pramuk et Gagliardo, 2012).

Des parois décorées de rochers peuvent également être réalisées en utilisant une couche de mousse à expansion qu'on sculptera sous l'apparence d'un rocher et qu'on enrobera d'une couche de silicone noire pour aquarium, imprégnée de fibres de coco (*Cocos nucifera*) ou de résine époxy imperméable. Les silicones destinés à l'aquariophile sont légèrement plus chers mais sont aussi plus durables. Il ne faut recourir qu'à des silicones à 100 %, sans additifs toxiques (Pramuk et Gagliardo, 2012).

Vernis ou peinture doivent être évités sur les surfaces destinées à être en contact avec les animaux sous peine de risquer de les intoxiquer (Mouret, 2001).

3) Substrat

Lors du choix du substrat, il faut d'abord considérer les besoins de l'animal, et décider ensuite si l'on souhaite privilégier l'esthétisme ou la facilité de nettoyage (Tableau 11). Le substrat sera choisi en fonction de l'habitat de l'espèce choisie.

Dans les conditions particulières d'une quarantaine, l'hygiène doit constituer la priorité dans la réalisation du terrarium. Ce dernier sera souvent composé de matériaux faciles à nettoyer et désinfecter, à usage unique et les fournitures choisies avant tout pour leur côté pratique et utile, davantage qu'esthétique.

Tableau 11 : Substrat à privilégier lorsque des conditions hygiéniques rigoureuses sont indispensables et en zone de quarantaine (Pramuk et Gagliardo, 2012).

Sphagnum de haute qualité	Permet aux animaux de se cacher et de s'enterrer. Possède des propriétés antimicrobiennes qui en fait un bon choix dans le secteur de quarantaine.
Pelouse artificielle en plastique de type AstroTurf®	Inerte et est facile à désinfecter (mais doit être rincée abondamment après). Facile à découper : s'adapte à toutes les tailles et formes de terrariums. Résistante aux moisissures et utilisable dans les terrariums semi-aquatiques. Substrat de choix pour des espèces grandes et robustes comme <i>Rhinella marina</i> déféquant en quantité et fréquence importante.
Papier absorbant	Idéale en quarantaine. Sèche rapidement donc nécessite une surveillance fréquente pour s'assurer qu'il reste suffisamment humide. Changement quotidien pour limiter la croissance bactérienne. ⚠ Privilégier du papier essuie-tout non blanchi par précaution, bien qu'aucun problème de santé ne leur ait été imputé, il est possible que le papier blanchi contienne des traces de substances chimiques comme de la dioxine.
Litière végétale (type litière de cellulose)	Alternative adaptée pour les grenouilles qui s'enterrent. Réhydratation préalable nécessaire en veillant à l'élimination de l'excès d'eau.
Mousse de caoutchouc	Disponible en plusieurs épaisseurs et pouvant être découpée sous diverses tailles et formes. Possibilité de désinfection. Intéressante pour les individus nécessitant une surface moelleuse pour des raisons médicales (comme des fractures ou des abrasions rostrales). ⚠ Relargage potentiel de dioxine par la mousse et susceptible d'abriter des bactéries pathogènes.

Nous allons désormais nous intéresser aux substrats pouvant être utilisés au sein d'un terrarium classique.

Les graviers ou les billes d'argiles expansées sont idéaux en fond d'aquarium. Le substrat d'un terrarium classique peut être réalisé en disposant du terreau de feuilles, mélangé à un peu de tourbe et de sable, puis complètement recouvert par une couche d'au moins 2 cm d'épaisseur de mousse (du genre *Sphagnum* ou *Hypnum*) elle-même surmontée de feuilles mortes. La mousse peut être remplacée par de la fibre de coco (*Cocos nucifera*), recouverte de mousse de Java (*Taxiphyllum barbieri*), par une mousse du genre *Leucobryum* ou de sphaigne (*Sphragnum*). Les abords de la partie aquatique peuvent être constitués de galets pour éviter que les animaux n'y déposent trop de terre et de feuilles (Tableau 12). Le sol est important pour les animaux et essentiel pour les plantes qu'il faudra installer à une profondeur adéquate (Mouret, 2001 ; Pramuk et Gagliardo, 2012).

Le substrat fournit la base d'un écosystème sain en générant une certaine humidité et en abritant les bactéries dégradant les déchets azotés. Idéalement, l'environnement doit être préinstallé au moins deux semaines avant l'introduction des animaux afin que les plantes et les bactéries (filtre biologique par exemple) aient pu s'établir et soient « directement fonctionnelles » (Pramuk et Gagliardo, 2012).

Pramuk et Gagliardo (2012) suggèrent de creuser un carré de 7,5 à 10 cm de côté dans le substrat dans un coin de l'aquarium, ou un nivellement du substrat, afin de réaliser un petit bassin avec un fond peu profond pour les animaux. Le niveau de l'eau dans le gravier doit être maintenu au moins 1,5 cm en dessous de la couche supérieure du substrat (à savoir la couche de mousse). Par action capillaire, l'eau va lentement se frayer un chemin vers le substrat, générant des conditions humides pour les plantes, tout en contribuant à l'humidité ambiante par évaporation.

Tableau 12 : Substrats naturels et organiques pouvant être envisagés dans un terrarium (Pramuk et Gagliardo, 2012 ; Pasmans et Martel, 2019b).

a) Substrats organiques :

<p>Fibre de coco (<i>Cocos nucifera</i>)</p>	<p>Résistant à la détérioration, peut durer jusqu'à un an voire plus. Maintien l'humidité. Alternative respectueuse de l'environnement en comparaison avec l'usage de la mousse de tourbe (<i>Sphagnum</i>). Réhydratation préalable nécessaire avec élimination de l'excès d'eau. Friable : si elle est destinée à être placée au-dessus des graviers, il faut penser à rajouter un séparateur (en fibre de verre par exemple) entre les deux couches pour éviter que la fibre de coco ne se mélange à ces derniers.</p>
<p>Mousse (<i>Sphagnum</i>)</p>	<p>Réhydratation préalable nécessaire durant au moins 24 h avec élimination de l'excès d'eau. Substrat mou et humide, facile à changer. Recyclage possible dans l'horticulture après stérilisation à la chaleur si utilisation de courte durée. Très esthétique mais doit être fréquemment remplacée. La sphaigne du Chili (<i>Sphagnum cristatum</i>) est d'un type supérieur. ⚠ Les mousses de sphaigne (<i>Sphagnum</i>) ont tendance à avoir un pH acide pouvant irriter la peau de certaines espèces. Le ramassage de mousses sauvages n'est pas recommandé en raison des risques de contamination de ces dernières par des spores de <i>Batrachochytrium dendrobatidis</i> (facilement transférées d'une surface humide à une autre).</p>
<p>Substrat pour orchidées développé par Atlanta Botanical Garden (Jardin Botanique d'Atlanta)</p>	<p>Pour les espèces tolérant les sols acides. Permet la culture d'épiphytes tropicales quand des conditions d'humidité, d'acidité et de drainage correctes sont nécessaires (Bromeliaceas, les Araceae et certaines orchidées). <i>Mélange constitué d'une part de tourbe de mousse (Sphagnum), une part de charbon horticole en poudre fine, deux parts d'écorces de pin (Pinus) en poudre, deux parts de sphaigne broyée (Sphagnum) et une part de fibres de fougères arborescentes (Cyatheaales), à hydrater 24 h avant son utilisation.</i></p>
<p>Paillis</p>	<p>Ajout possible s'il ne provient pas d'arbres susceptibles de produire des toxines ou des substances irritantes tels que le pin (<i>Pinus</i>) ou le cèdre (<i>Cedrus</i>).</p>
<p>Feuilles mortes : feuilles de chêne (<i>Quercus</i>) et de hêtre (<i>Fagus</i>)</p>	<p>Leur ajout est intéressant pour diversifier les cachettes disponibles et former des gradients d'humidité supplémentaires. Elles présentent l'avantage d'être moins susceptibles d'être colonisées par les champignons.</p>

b) Substrats naturels

<p>Gravier, galets</p>	<p>Très bon substrat de départ et recommandé en fond de terrarium. Bon marché, largement disponible et sous diverses formes. Facile à nettoyer. Excellent filtre biologique. Peu esthétique si terrarium uniforme. Les graviers lisses sont moins traumatisants pour la peau des anoures, en particulier si l'animal a tendance à creuser.</p> <p>⚠ Attention aux espèces réputées gourmandes (<i>Ceratophrys</i> spp.) qui peuvent ingérer les graviers. Le risque d'impaction digestive n'est pas non plus exclu si le gravier n'est pas assez gros pour rendre son ingestion impossible ou pas assez fin et lisse pour faciliter son passage dans le tube digestif sans créer de lésion majeure en cas d'ingestion. Une couche généreuse de mousse au-dessus des graviers permet de réduire ce risque.</p>
<p>Billes d'argiles expansées</p>	<p>Intéressantes pour le drainage en fond de terrarium. Elles sont plus légères que le gravier et présentent un intérêt lorsque le poids pose problème. Coût supérieur à celui du gravier.</p>
<p>Sable</p>	<p>Relativement peu cher et généralement bien rincé avant son conditionnement. Sélectionner un sable donc le grain n'est pas trop fin.</p> <p>⚠ Risque d'impaction digestive si consommé en grande quantité.</p>
<p>Terreau</p>	<p>Tendance à la compaction et la sursaturation en eau : à changer régulièrement. Favorise le développement d'une flore bactérienne dégradant les déchets azotés.</p> <p>⚠ Abrite et favorise le développement de nématodes et autres parasites : limiter la quantité en cas d'usage pour les anoures fouisseurs qui apprécient les substrats terreux.</p> <p>⚠ Les terreaux du commerce ne sont généralement pas adaptés en termes de composition (riche en engrais et additifs chimiques) : en cas d'utilisation, préférer un mélange de terreau stérilisé à la vapeur, sans vermiculite, perlite ou autres additifs artificiels comme des engrais.</p>

Un substrat constamment humide, sans possibilité d'accès à des endroits plus secs, est mauvais pour la peau de nombreuses espèces terrestres. Si un animal semble éviter le sol du terrarium (notamment les espèces fouisseuses restant en surface) ou présente des signes d'irritation de contact tels que de l'érythème au niveau du ventre ou de la dysorexie, cela peut être le signe d'une qualité ou d'une teneur en eau inappropriées à l'espèce (Pramuk et Gagliardo, 2012).

Une couche de drainage sous le substrat, à base de billes d'argile expansées ou d'un tapis de mousse, doit être présente pour éviter l'accumulation excessive d'humidité et empêcher l'entrée en anaérobiose du substrat (production de H₂S). Le drainage est encore plus efficace lors qu'un drain est utilisé et il est alors intéressant de créer un double fond pour séparer les animaux et le substrat des déchets et des eaux usées (Figure 58) (Pramuk et Gagliardo, 2012 ; Pasmans et Martel, 2019b).

Un nettoyage fréquent (retrait des déjections et résidus de consommation) et un renouvellement régulier, par retrait et renouvellement du substrat sont indispensables pour éviter l'accumulation de déchets métabolites et le développement de parasites (Pramuk et Gagliardo, 2012 ; Pasmans et Martel, 2019b).

Quand les matériaux proviennent de forêts où vivent de nombreux amphibiens, il faut commencer par les décontaminer (en chauffant à 80°C pendant 30 minutes) afin de tuer les agents pathogènes potentiels tels que les *Ranavirus*, *Batrachochytrium* sp., la plupart des bactéries ainsi que les acariens de la famille des Trombiculidés (Pasmans et Martel, 2019b).

Enfin, de la même manière qu'un gradient de chaleur est nécessaire, un gradient d'humidité relative doit être maintenu au sein du terrarium. Pour ce faire, il est possible d'empiler des couches d'écorces sur le substrat ou de maintenir une partie du substrat humide avec des brumisations régulières réalisées manuellement ou à l'aide d'un système automatique. L'hygrométrie doit être élevée et maintenue à au moins 80 %. Seul un nombre limité d'espèces (certaines *Phyllomedusa* sp.) ne tolèrent pas une humidité relative élevée permanente (Pasmans et Martel, 2019b).

4) Plantes

Les plantes artificielles peuvent être utilisées et s'avèrent adaptées aux situations où l'hygiène et la biosécurité priment. De plus, elles réduisent le risque de transmission de *Batrachochytrium dendrobatidis* et autres agents infectieux. Il y aurait une préférence anecdotique des amphibiens pour les plantes vivantes. De plus, ces dernières présentent l'avantage de pouvoir jouer le rôle de filtres biologiques en recyclant les déchets azotés de manière efficace. Lors du choix initial, il faut ainsi considérer leur adaptabilité aux conditions humides et leur potentiel toxique vis-à-vis des animaux, leur compatibilité avec l'histoire naturelle de l'espèce et leur origine (Tableau 13) (Pramuk et Gagliardo, 2012).

Les racines des plantes nécessitent du dioxygène et un excès d'eau peut leur être délétère, il est donc important de permettre le drainage de l'eau afin d'éviter une saturation du substrat et de créer un environnement anaérobie (Pramuk et Gagliardo, 2012).

La majorité des plantes ornementales d'intérieurs proviennent des régions tropicales. Elles poussent sous le couvert des arbres et bénéficient de ce fait d'une bonne luminosité, sans recevoir directement les rayons de soleil. Elles participent au maintien d'une hygrométrie élevée par évapotranspiration. En captivité, dans un sol où les ressources s'épuisent, il ne faut pas omettre de les nourrir. Engrais et éclairages sont alors indispensables. Cependant, il faut éviter l'excès et donc tenir compte des déjections des animaux qui participent à la fertilisation du sol. Un éclairage inadapté, tant en intensité qu'en durée, dérègle les cycles biologiques et devient rapidement néfaste. Il convient de respecter les doses, voire de sous doser pour éviter ce genre de désagrément. Comme pour les animaux, on simulera un hiver doux pour ces plantes importées. Une diminution progressive de la température, de la photopériode et de l'humidité relative permettront d'atteindre cet objectif (Mouret, 2001).

Tableau 13 : Plantes pouvant être utilisées pour agrémenter un terrarium (Mouret, 2001 ; Pramuk et Gagliardo, 2012).

<p>Plantes terrestres tolérant une forte humidité</p>	<p>Pothos (<i>Scindapsus aureum</i>) et autres aracées (<i>Syngonium</i> etc.) ; Lierres (<i>Hedera</i>) ; Fougères (<i>Adiantum</i>, <i>Davallia</i>, <i>Asplenium</i>, <i>Polypodium</i>, <i>Nephrolepis</i>, <i>Chlorophytum</i>, <i>Spatiphyllum</i>, <i>Sansevieria</i>, <i>Chamaedora</i>, <i>Aglonema</i>) ; <i>Selaginella</i> et lycopodes du genre <i>Lycopodium</i> ; Broméliacées du genre <i>Guzmania</i>, <i>Vriesia</i>, <i>Neoregelia</i> et certaines <i>Tillandisia</i> ; Pépéromie (<i>Peperomias</i>) ; <i>Calatheas</i> ; Bégonias (<i>Begonia</i>) ; Fausses vignes (<i>Cissus</i>) ; Plantes rampantes : misères (<i>Tradescantia</i>), <i>Maranta</i>, <i>Hypoestes</i>, <i>Pilea</i>, <i>Pellionia</i> ; Orchidées bijoux (<i>Ludisia discolor</i>) non recommandées pour les débutants car se décomposent rapidement en milieu humide.</p>
<p>Plantes aquatiques pouvant garnir les plans d'eau</p>	<p>Fougère de Java (<i>Microsorium pteropus</i>) ; Mousse de Java (<i>Taxiphyllum barbieri</i>) ; Élodée (<i>Elodea</i>) ; <i>Anubia</i> ; <i>Aponogeton</i> ; <i>Bacopa</i> ; <i>Cabomba</i> ; Fougères (<i>Ceratopteris</i>, <i>Salvania</i> sp.) ; <i>Crinum</i> ; Aracées du genre <i>Cryptocoryne</i> ; <i>Echinodorus</i> <i>Eleocharis</i> ; <i>Hygrophylla</i> ; <i>Lysimachia</i> ; <i>Myriophyllum</i> ; <i>Rotala</i> ; <i>Sagittaria</i> ; <i>Vallisneria</i> ; Lentilles d'eau (<i>Lemna</i> sp.).</p>
<p>Plantes semi-aquatiques supportant les fluctuations de niveaux d'eau</p>	<p><i>Fittonia</i> ; <i>Cryptanthus</i>.</p>

Les épiphytes (comme les Broméliacées) peuvent être dissimulées dans un petit pot, dans le branchage, ou être fixées contre une paroi. D'autres plantes plus imposantes peuvent ensuite être rajoutées lors de la réalisation d'une serre ou d'un vivarium plus spacieux (Mouret, 2001).

Les racines de palétuviers et de mangrove (*Rhizophora mangle*) lavées et rincées peuvent être employées comme guide de lianes, support d'épiphytes, ou au bord des points d'eau pour permettre aux animaux de s'en extraire. Les écorces de chêne liège (*Quercus liber*) achetées en grosses plaques pourront être installées contre une ou deux parois du terrarium. Leurs aspérités serviront de refuge naturel aux animaux et permettront de fixer des plantes ou de les faire grimper. Enfin, il faut aménager des retraites tranquilles et dissimulées, des faces sombres qui permettront aux animaux de se mettre à l'abri et de ne pas être stressés (Mouret, 2001).

Des plantes aquatiques peuvent garnir les plans d'eau mais seront davantage utilisées dans les terrariums destinés aux espèces aquatiques.

En cas d'emploi de plantes à racines, il est recommandé de bien retirer la terre des racines, car elle peut être vectrice de parasites comme les nématodes. Les plantes achetées dans les jardinerie ou les pépinières doivent également passer un temps minimal en quarantaine afin d'éliminer les restes de pesticides ou d'insecticides. Un mois de quarantaine à l'air libre, arrosées avec de l'eau décantée ou de l'eau de pluie (non récupérée en ville) suffit amplement (Mouret, 2001 ; Pramuk et Gagliardo, 2012).

Pour les installations où l'hygiène est priorisée, les plantes en pots sont plus adaptées. Elles sont préparées en utilisant des pots contenant du gravier, de la mousse ou du charbon comme substrat. Elles apportent un abri, un perchoir et des sites de dépôts des œufs, et offrent en plus l'avantage de pouvoir facilement être retirées pour le nettoyage, ce qui est adapté aux installations nécessitant une hygiène irréprochable (Pramuk et Gagliardo, 2012).

Il est préférable d'éviter les plantes produisant des oxalates (comme *Aglaonema roebelinii*, *Dieffenbachia* spp.) qui peuvent provoquer de l'œdème sous-cutané et de l'abattement tels que décrits chez *Phyllomedusa sauvagi* après avoir mangé des grillons ayant eux-mêmes consommées les plantes du terrarium (Whitaker, 2001). Certaines plantes de la famille des Commeliniaceae sont également toxiques (Pramuk et Gagliardo, 2012).

5) Abris

Il est indispensable d'apporter au moins un abri pour chaque amphibien hébergé tout en veillant à en proposer une grande variété en fonction de l'espèce. Par exemple, les grenouilles arboricoles préfèrent se reposer sur ou entre les feuilles et les branches. De nombreuses espèces terrestres recherchent des abris adaptés à leur taille, préférant avoir le dos en contact avec le toit de l'abri pour se sentir en sécurité. Les prédateurs qui guettent leurs proies en restant camouflés (*Ceratophrys* sp.) s'enterrent légèrement dans le substrat pour se fondre dans l'environnement et doivent donc être en mesure de réaliser ce comportement naturel. Si des objets lourds sont utilisés au sein du terrarium (pierres, branches, bols d'eau), ils doivent être sécurisés et attachés afin d'éviter tout traumatisme si les animaux tentent de creuser en dessous. L'ajout de plantes confère des cachettes supplémentaires aux animaux (Pasmans et Martel, 2019b).

Le dispositif peut être très simplifié ou au contraire rendu plus complexe en lien avec l'objectif de se rapprocher plus ou moins du biotope naturel. À l'exception de quelques rares espèces diurnes toxiques, la plupart des amphibiens – dont les *Trachycephalus* - sont nocturnes et constituent des proies dans leurs habitats. Ainsi, il suffit de quelques aménagements pour leur permettre de se sentir en sécurité, de réduire leur stress et de conserver des animaux sains (Figure 60).

Figure 60 : Exemples de cachettes pouvant être mis à disposition des animaux. (Pramuk et Gagliardo, 2012).

- Écorce de liège (*Quercus suber*) ;
- Feuilles séchées ;
- Coques de noix de coco retournées avec une ouverture pour créer des cabanes ;
- Tuyaux de PVC ;
- Boîtes ;
- Tubes en liège (*Quercus suber*) pour les espèces résidant dans les trous d'arbres ;
- Morceaux de pots en argile, tuiles, plats retournés avec une ouverture etc.

Les éléments en bois sont très esthétiques et naturels ; ils fournissent des surfaces d'escalade, des cachettes ou encore des zones pour lézarder. Les plantes épiphytiques peuvent être fixées sur ce type de support, ajoutant un air naturel au décor. De nombreuses essences de bois sont adaptés ; cependant, dans un environnement où règne une humidité importante, le matériau se dégrade rapidement. Le liège (*Quercus suber*), le cyprès (*Cupressus*) et le mopane (*Colophospermum mopane*) doivent être privilégiés dans les terrariums humides. Des terrasses peuvent être réalisées à base de liège (*Quercus suber*) ou d'un autre bois, qui peuvent ensuite être plantées avec diverses plantes. Les terrasses

divisent également l'espace qui peut être contrôlé par les mâles territoriaux de certaines espèces de grenouilles comme les *Mantellas* et les *Dendrobates* (Pramuk et Gagliardo, 2012).

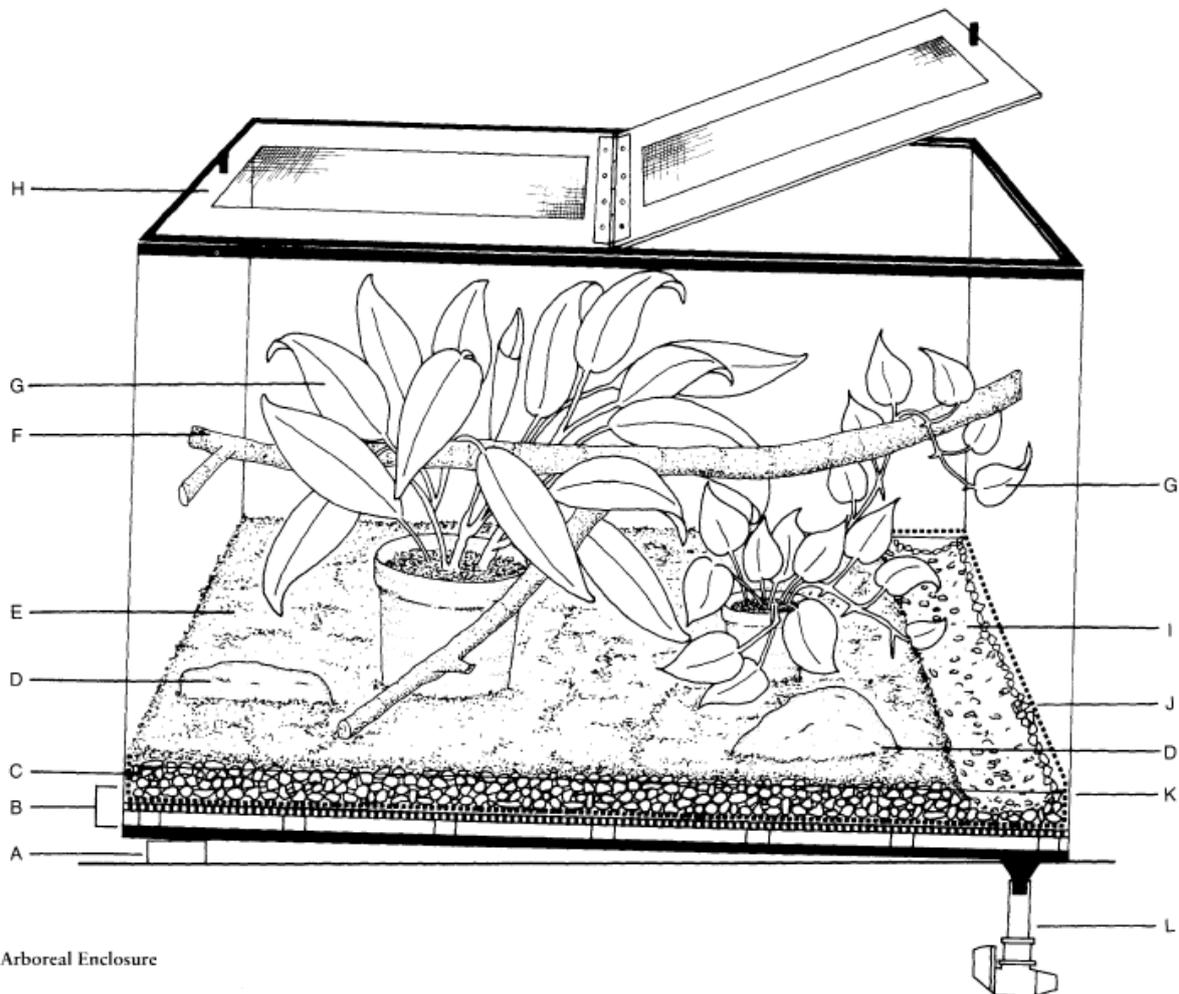
Enfin, l'introduction et l'aménagement des plantes dans le terrarium permettent également d'obscurcir l'intérieur des parois pour que les animaux se sentent plus à l'abri dans leur terrarium (Pramuk et Gagliardo, 2012).

6) Particularités des terrariums arboricoles

Les espèces arboricoles comme *Trachycephalus resinifictrix* qui nécessitent un environnement spacieux avec de nombreux branchages et cachettes (Figure 61).

Pour les terrariums arboricoles, il faut privilégier la hauteur afin de recréer les étages correspondant à un tronc d'arbre, avec par exemple, comme support central et principal, une racine de palétuvier (*Rhizophora mangle*). Elle peut être disposée verticalement, ou horizontalement, selon l'orientation des étages que l'on recherche. Au moins deux côtés sont recouverts de plaques d'écorce de chêne liège (*Quercus suber*) : cela permet à l'animal de réduire son niveau de vigilance car il saura qu'il n'aura rien à craindre, et ces écorces serviront aussi de supports aux plantes épiphytes. On peut aussi y ajouter des petits pots avec des plantes en terre. Ainsi, un terrarium d'une taille de 40 x 80 x 40 cm permet de loger convenablement un groupe de quatre à cinq rainettes du genre *Hyla* (mesurant généralement 5 cm), tout en aménageant un bac agréable à la contemplation de ces batraciens (Mouret, 2001).

Figure 61 : Exemple d'aménagement pour un terrarium arboricole, illustration de S. Barnett (Pramuk et Gagliardo, 2012).



Arboreal Enclosure

- A : cale permettant de surélever le terrarium de manière à favoriser le drainage.
- B : double-fond (cf. Figure 57 B-C).
- C : couche de gravier fin de 2,5-5 cm d'épaisseur.
- D : Perchoir en pierre.
- E : couche de mousse humidifiée.
- F : branchages sans bords coupants.
- G : plantes vivantes en pot.
- H : couvercle avec deux ouvertures (cf. Figure 57 E-H).
- I : bassin superficiel.
- J : rebord en fibre de verre pour permettre une échappatoire aux proies tombées dans l'eau.
- K : niveau de l'eau.
- L : système de drainage (cf. Figure 57 K-M).

E. Brumisation

Pour les collections importantes d'amphibiens où la brumisation manuelle est trop laborieuse, ou lors du maintien d'espèces nécessitant une brumisation fréquente, pour de grandes espèces (et produisant plus de déchets), un système de brumisation automatique ou semi-automatique peut être mis en place, à condition que l'excès d'eau puisse être convenablement drainé au fond de l'installation. Une vidange

fréquente assure une évacuation des déchets et évite leur accumulation. Les brumisateurs automatiques peuvent être réglés sur minuteur, s'activant autant de fois que nécessaire en fonction des besoins de l'espèce. Cependant, ils ne doivent pas remplacer l'observation attentive et quotidienne. Les systèmes ouverts permettent aux soigneurs et éleveurs de maintenir un haut niveau d'hygiène et la vidange régulière réduit la charge parasitaire au sein de l'installation (Pramuk et Gagliardo, 2012).

F. Stratégie d'allotement

Le premier problème inhérent à la cohabitation est le cannibalisme. Il est préférable d'installer plusieurs individus ensemble mais il convient de séparer les jeunes et les œufs, et de nourrir les individus à leur faim. Lorsque la place est limitée, il faut éviter de mettre trop de mâles adultes d'anoures ensemble. Ils peuvent parfois s'affronter violemment, notamment en période de reproduction (Mouret, 2001).

Dans le cas d'installations très vastes, il est parfois possible de rassembler plusieurs espèces provenant des mêmes milieux et vivant originellement ensemble dans la même zone géographique et le même biotope, mais il est toujours préférable de réaliser des terrariums monospécifiques (Mouret, 2001).

G. Qualité de l'eau

1) Paramètres de la qualité de l'eau

Pour les formes aquatiques (larves d'anoures), les exigences en termes de qualité de l'eau sont aussi strictes que pour les poissons. Quant aux formes terrestres ou semi-terrestres juvéniles comme adultes, l'eau demeure un composant primordial de leur environnement. Bien que des données précises n'aient pas été publiées, les auteurs recommandent de se baser sur les critères établis pour les poissons pour les larves et les amphibiens adultes (National Research Council (US) Subcommittee on Amphibian Standards, 1974).

La qualité de l'eau doit être optimale pour éviter les intoxications. L'aménagement d'une partie aquatique est conséquent et nécessite un système de filtration adapté et efficace. Pour les espèces terrestres, elles auront à disposition un bac d'eau, régulièrement changé et nettoyé. Même pour des espèces aquatiques, un niveau d'eau de 15-20 cm suffit souvent (Mouret, 2001 ; Pasmans et Martel, 2019b).

La source de l'eau doit être contrôlée. La pollution est mal tolérée chez ces animaux à la peau fine. L'eau du robinet est certes potable et exempt de germes pathogènes mais peut contenir des traces de produits de désinfection tels que du chlore ou du fluor.

L'eau municipale peut présenter des propriétés changeantes avec le temps. Dans une ville s'alimentant à partir de plusieurs puits ou sources superficielles, il n'est pas rare d'alterner les sources d'approvisionnement selon les saisons ou les journées. Par conséquent, la composition chimique de l'eau doit être contrôlée régulièrement. Des procédures types peuvent être trouvées dans l'American Public Health Association (1965). Un programme d'analyse rigoureux doit être établi et un membre de l'équipe assigné à cette tâche. Les contrôles n'excluent pas la non-détection de changement affectant la qualité de l'eau (contaminants organiques non détectés en routine etc.) Ces modifications soudaines peuvent être délétères pour la reproduction et il est recommandé d'utiliser de l'eau distillée dans ce cas (National Research Council (US) Subcommittee on Amphibian Standards, 1974).

La qualité de l'eau est encore plus importante lorsqu'il s'agit d'œufs ou de larves. On peut mélanger à volume égal de l'eau de pluie (chauffée jusqu'à ébullition), de l'eau d'un bassin naturel (non pollué), avec de l'eau du robinet. On trouve également des produits de conditionnement de l'eau pour aquariums, qui éliminent le chlore et font sédimenter les métaux lourds présents. Un puits ou une source extérieure pourront convenir sous réserve d'avoir collecté des informations adéquates (écologiques, sanitaires etc.) auprès des services locaux, et effectué les tests de base. Pendant ce temps, on peut réaliser les tests

réguliers, tels que les contrôles de la température, du pH ou des concentrations en nitrites (Mouret, 2001).

Tout apport d'eau aux amphibiens doit répondre à un certain nombre de critères afin de ne pas nuire à leur santé et à leur physiologie. L'eau venant d'une source naturelle ou traitée (par l'exemple l'eau de la commune) ne constitue pas une solution pure mais une suspension véhiculant divers composants organiques et inorganiques. Ces substances additionnelles peuvent être bénéfiques à l'organisme, être sans effet, ou s'avérer nocifs. Les amphibiens ont colonisé différents types de niches écologiques et leurs besoins en eau, ainsi que leur tolérance à différentes toxines, diffèrent d'une espèce à l'autre. De plus, les différents stades de la vie n'ont pas les mêmes besoins en eau. L'ensemble des concentrations de toutes les substances pouvant y être dissoutes est réuni sous le terme générique de « qualité de l'eau ». Nous pouvons citer à titre d'exemple le pH, les sels inorganiques, les matières organiques, les déchets du métabolisme, les gaz dissous et les bactéries en suspension. La qualité de l'eau est d'une importance évidente pour les individus passant la majorité (voire la totalité) de leur temps en milieu aquatique (tels que les formes larvaires et les espèces aquatiques) mais elle reste aussi un facteur indispensable à la bonne santé pour les espèces terrestres (Odum et Zippel, 2008).

Des recommandations sur les paramètres de la qualité de l'eau ont été établies par l'Agence de Protection de l'Environnement des États-Unis d'Amérique (U.S. Environmental Protection Agency) en 1976, en se basant sur les publications concernant les amphibiens et les poissons, ainsi que sur l'expérience des auteurs. La tolérance des espèces aux toxines couramment retrouvées, mais aussi leurs besoins, sont encore inconnus pour l'immense majorité des batraciens. Ainsi, les seuils proposés servent essentiellement de guide pour évaluer la performance du système (Odum et Zippel, 2008).

a) Dioxyde de carbone

Le dioxyde de carbone est présent sous forme dissoute dans l'eau et sous forme gazeuse ; seulement 10 % existe sous forme d'acide carbonique H_2CO_3 . Les deux premières formes constituent le CO_2 libre. La forme ionique est constituée de bicarbonates et d'ions carbonates, respectivement HCO_3^- et CO_3^{2-} . Leur présence est indispensable au pouvoir tampon de l'eau. Dans un système bien ventilé et ouvert, il est rare d'atteindre des niveaux toxiques en CO_2 (Svobodova *et al.*, 1993).

Chez les amphibiens, il est recommandé de ne pas dépasser 5 mg/L de dioxyde de carbone dissous. La survie prolongée des poissons, et possiblement des larves d'amphibiens, à une concentration de 12 mg/L est douteuse (National Research Council (US) Subcommittee on Amphibian Standards, 1974).

b) Dioxygène dissous

La concentration en dioxygène dissous dans l'eau doit être suffisamment importante (supérieure ou égale à 5 mg/L ou ppm) pour les amphibiens ou les larves assurant leurs échanges respiratoires mais aussi pour la prolifération des bactéries aérobies qui métabolisent les déchets des amphibiens. Cependant, il ne faut pas sursaturer l'eau en dioxygène sous peine d'engendrer la maladie des bulles (Pasmans et Martel, 2019b).

Les larves absorbent le dioxygène grâce à leurs branchies, leur peau et/ou en avalant de l'air. La quantité dont un amphibien aquatique a besoin dépend du milieu où il vit dans la nature. Par exemple, les espèces vivant dans les eaux stagnantes comme les étangs auront des besoins en moins importants que celles vivant en milieu lotique (eaux courantes). L'emploi d'un filtre et/ou d'une conduite d'air avec une pierre poreuse permet d'augmenter la quantité de dioxygène dissoute au sein de l'installation, nécessaire aux espèces de milieu lotique (Pramuk et Gagliardo, 2012).

L'eau douce est considérée comme étant totalement saturée en dioxygène lorsqu'elle contient la quantité maximale pour une température et une pression atmosphérique données. Plus l'eau est chaude et moins la pression atmosphérique est élevée, moins le dioxygène est en mesure de se dissoudre dans

l'eau. Sa concentration doit être suffisante pour permettre la survie de la communauté aérobie du terrarium, à savoir les amphibiens, leur source de nourriture et les bactéries productrices de nitrogénases. La teneur dépendra du volume d'eau et de sa surface, de la densité de peuplement et de la charge organique, ainsi que de l'efficacité du biofiltre. Des niveaux insuffisants en dioxygène dissous (< 80 %) accélèrent la dégradation de la matière organique, entraînent un relargage de gaz toxiques comme le sulfure d'hydrogène (l'apparition d'une odeur d'œuf pourri est indicatrice d'un niveau de dioxygène dissous bas), le monoxyde de carbone et le méthane. On note toutefois que certains anoures sont capables de tolérer des niveaux en dioxygène très bas (Odum et Zippel, 2008 ; Pramuk et Gagliardo, 2012).

Les besoins en dioxygène étant peu documentés pour les stades aquatiques, l'usage des critères retenus pour les poissons est recommandé. Pour les poissons d'eau chaude, le seuil minimal de dioxygène dissous doit être supérieur à 5 mg/L et plus élevé encore (> 8 mg/L) pour les poissons d'eau froide. Cela suggère un besoin en dioxygène dissous supérieur pour les larves d'amphibiens retrouvées dans le nord, par rapport à celles d'une même espèce vivant dans des régions plus tempérées (National Research Council (US) Subcommittee on Amphibian Standards, 1974).

Les besoins en dioxygène dépendent de nombreux facteurs, dont la température, le pH et le taux de CO₂ dans l'eau mais aussi du métabolisme de l'animal. Ces besoins s'accroissent avec la température (par exemple, une augmentation de la température de l'eau de 10°C à 20°C double les besoins en dioxygène chez les poissons), donc une charge animale accrue par volume d'eau peut conduire à une augmentation de l'activité et donc de la respiration par surdensité. Les dommages provoqués par un taux de dioxygène dissous trop important sont rarement observés (à différencier d'une sursaturation de l'eau en gaz dissous pouvant provoquer la maladie des bulles de gaz) (Svobodova *et al.*, 1993).

Bien que les branchies soient remplacées par des poumons lors de la métamorphose, le dioxygène doit être maintenue aux niveaux recommandés afin d'éviter les autres complications en lien avec la qualité de l'eau. Le dioxygène diffuse dans l'eau notamment lorsqu'elle est turbulente ou grâce à la photosynthèse des plantes aquatiques. Par contre, le dioxygène dissous diminue avec la dégradation aérobie de la matière organique par les bactéries ou suite à la respiration des organismes présents dans l'eau. Si le milieu aquatique devient anaérobie, la population bactérienne va augmenter et les risques de déclaration d'une maladie augmentent. De plus, la teneur en ammoniacque peut aussi évoluer vers des niveaux toxiques (National Research Council (US) Subcommittee on Amphibian Standards, 1974 ; Svobodova *et al.*, 1993).

L'eau de puits, selon sa provenance, peut être déficiente en dioxygène ou en contenir en excès pouvant dégazer lorsque l'eau se réchauffe. Dans tous les cas, l'eau doit être stabilisée par aération avant utilisation (National Research Council (US) Subcommittee on Amphibian Standards, 1974).

Le niveau de dioxygène dissous peut être augmenté en aérant et en faisant circuler l'eau grâce à une pompe à air et une pierre poreuse ; il doit être contrôlé au moyen de kits de tests ou par mesures électroniques. Une méthode à la fois simple et attrayante permettant d'accroître la concentration en dioxygène dissous dans l'eau consiste à créer un jeu d'eau grâce à une pompe à eau, comme une cascade (Pramuk et Gagliardo, 2012).

Le phénomène de sursaturation en gaz dissous s'appelle la « maladie des bulles » pouvant provoquer des érythèmes, des hémorragies, de la désorientation et la mort (Pramuk et Gagliardo, 2012). Des séquelles de la maladie sont la nécrose ou la gangrène des extrémités par embolies gazeuses, la saprolégnose des extrémités et une septicémie (Densmore et Green, 2007).

La sursaturation de l'eau peut être prévenue en plaçant le tuyau permettant de remplir le bassin au-dessus de la surface de l'eau lors du remplissage du réservoir d'eau, en laissant reposer l'eau et en la ramenant à température ambiante avant de l'utiliser. L'usage d'une pierre poreuse et d'une pompe à

aquarium pour faire circuler l'eau un à deux jours avant son usage permet de créer un équilibre et de réduire les risques de sursaturation (Pramuk et Gagliardo, 2012).

c) Dureté de l'eau

La dureté totale de l'eau correspond à la quantité de sels dissous dans l'eau douce et est mesurée par titration chimique en degré français (TH) ou allemand (°dH), ou par conductivité en microsiemens (µS).

La dureté de l'eau, exprimée en degré allemand (°dH) reflète les taux de calcium et de magnésium dissous, et constitue une mesure indirecte de l'alcalinité de l'eau, correspondant aux taux de carbonates et de bicarbonates dissous (Tableau 14). Il s'agit donc d'une mesure de la capacité d'une solution à neutraliser les acides soit de ses capacités « tampons ». Plus la dureté est faible, moindre est cette capacité et plus les fluctuations de pH peuvent être importantes. Les minéraux contribuant à la dureté sont le calcium et le magnésium, mais aussi le cuivre, le zinc, le fer, le bore et le silicone (Pramuk et Gagliardo, 2012 ; Pasmans et Martel, 2019b).

L'eau douce contient jusqu'à 75 mg/L de carbonate de calcium (CaCO₃) alors que l'eau dure en contient 150-300 mg/L. Dans la nature, l'eau de pluie est plutôt douce et les espèces vivant dans des microclimats alimentés par de l'eau de pluie (comme les bassins éphémères et les aisselles de feuilles) préféreront les eaux douces. Pasmans et Martel (2019b) recommandent une dureté de l'eau modérée, entre 8°dH-18°dH ou 2,9-6,5 mEq/L, pour les amphibiens. Odum et Zippel (2008) conseillent une eau contenant moins de 75 mg/L (ppm) de CaCO₃ pour les animaux nécessitant une eau douce. Une concentration de CaCO₃ supérieure à 100 mg/L correspond à une eau « dure ». Les auteurs de *Amphibians* (1974) recommandent une eau entre 150 et 250 mg/L, alors qu'elle ne doit pas excéder 150 mg/L de CaCO₃ (8,5 °dH) d'après Pramuk et Gagliardo (2012). Les fournisseurs d'eau publique préconisent une concentration se situant dans l'intervalle 60-120 mg/L, ce qui permet en général d'utiliser l'eau du réseau municipal pour les amphibiens.

Calcium et sels de magnésiums peuvent être ajoutés pour « durcir » l'eau, et de l'eau déionisée, distillée, déminéralisée ou osmosée peut être ajoutée pour l'adoucir (Svobodova *et al.*, 1993 ; Odum et Zippel, 2008 ; Pramuk et Gagliardo, 2012).

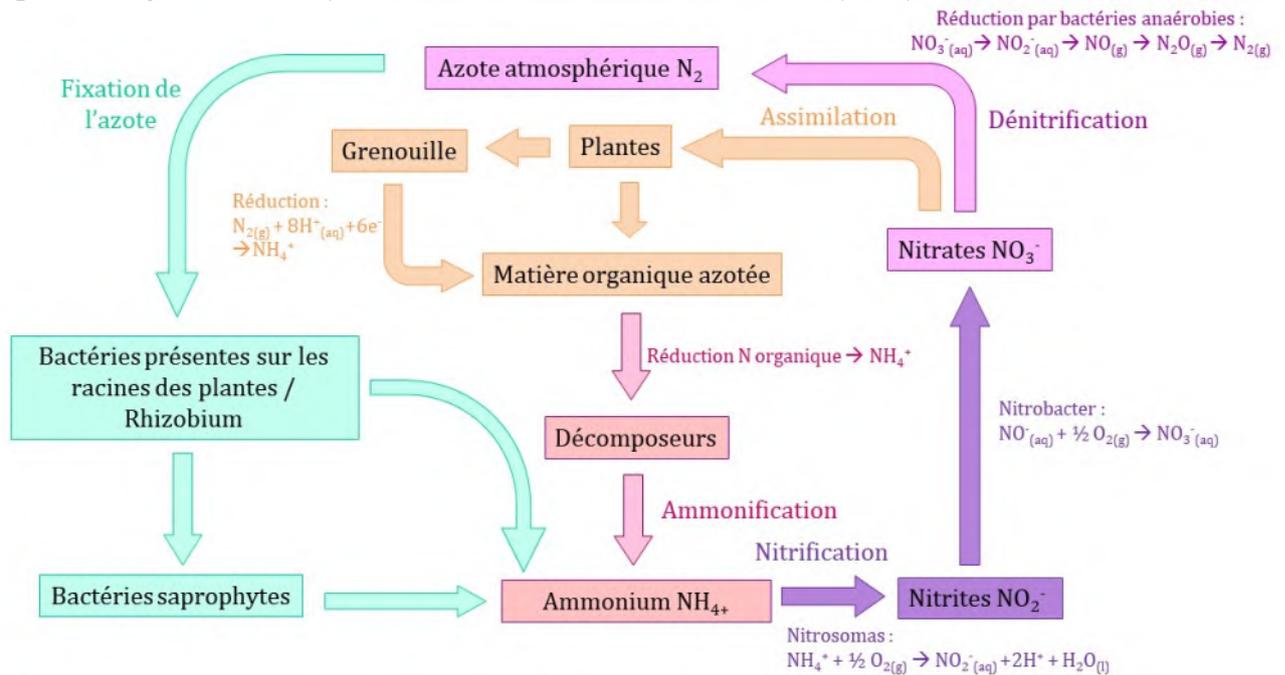
Tableau 14 : Différents degrés de la dureté totale et leurs correspondances en termes de dureté de l'eau (Pramuk et Gagliardo, 2012).

Dureté totale (°dH)	Quantité de sels dissous (mg/L ou ppm)	Dureté de l'eau
0-4	0-70	Très douce
4-8	70-140	Douce
8-12	140-210	Moyennement dure
12-18	210-320	Assez dure
18-30	320-530	Dure
>30		Roche à l'état liquide

Une eau dure peut générer des problèmes cutanés chez certaines espèces en altérant la régulation osmotique de l'individu. Une eau douce est souvent préférable mais tout dépend pour l'essentiel de l'espèce hébergée (Odum et Zippel, 2008).

d) Les déchets azotés

Figure 62 : Cycle de l'azote (schématisation basée sur Salters Institute (2021)).



Le taux de déchets du métabolisme azoté doit être surveillé, notamment les niveaux en ammonium, nitrite et nitrate. L'azote se présente sous forme de NH_3 et NH_4^+ , le second ion étant moins toxique. Le ratio NH_3/NH_4^+ s'accroît avec le pH et la température. Les concentrations en métabolites ne doivent pas dépasser 0,2 mg/L pour l'ammonium (NH_4^+), 0,1 mg/L pour les nitrites (NO_2^-) et 50 mg/L pour les nitrates (NO_3^-). Pour les deux formes (NH_4^+ et NO_2^-) les plus toxiques, la valeur attendue doit normalement être nulle. L'ammoniac est produit en continu par les amphibiens aquatiques mais aussi par les déchets organiques en décomposition, comme les restes alimentaires. Dans un aquarium bien géré, l'ammoniaque est rapidement métabolisée en nitrites puis en nitrates par les bactéries. Si ces dernières ne sont pas présentes (par exemple lorsque le bac est nouveau ou qu'un antibiotique a été utilisé dans l'environnement), l'accumulation de ces métabolites toxiques mèneront au développement d'affections pathologiques et à la mort (Pasmans et Martel, 2019b).

Contrairement à la plupart des animaux terrestres comme les reptiles, qui sécrètent l'ammoniaque sous forme d'acide urique concentré ou sous une autre forme non toxique, presque tous les amphibiens aquatiques (dont les têtards) excrètent l'azote sous forme d'ammoniaque directement. Il s'agit d'un mode d'excrétion très efficace en terme énergétique mais dont les produits s'avèrent très toxiques et qui dépend de conditions environnementales parfaites permettant de s'assurer que le niveau d'ammoniaque dans le milieu est maîtrisé. L'ammoniaque est présente sous deux formes dans l'eau : la molécule d'ammoniaque aqueux NH_3 très toxique et une forme ionisée moins dangereuse qui est l'ammonium NH_4^+ . En fonction de la température et du pH, ammoniaque aqueux et ammonium existent à l'équilibre : $NH_3 + H_2O = NH_4^+ + OH^-$ (Pramuk et Gagliardo, 2012).

La concentration en NH_3 augmente avec la température et le pH, tandis qu'il est converti en NH_4^+ quand la situation s'inverse. La majorité des tests de qualité de l'eau mesurent la quantité totale en azote ammoniacal comme étant la quantité totale d'ammoniaque et d'ammonium. Cependant, le pH et la température doivent également être évalués puisqu'ils influent sur la teneur effective d'ammoniaque dans l'eau (Figure 62).

Dans l'eau et les liquides biologiques, l'ammoniaque est présente sous forme moléculaire non dissociée, NH_3 , et sous forme ionique dissociée, NH_4^+ . Les parois cellulaires sont relativement imperméables à la

forme ionique tandis que la forme moléculaire peut diffuser librement lorsqu'un gradient est présent, ce qui rend cette dernière potentiellement toxique. De plus, il y a un équilibre acido-basique à l'interface entre l'eau et les tissus. Si cet équilibre est altéré, le côté où le pH est plus faible va attirer des molécules d'ammoniaque supplémentaires ce qui explique comment l'ammoniaque est en mesure de transiter de l'eau vers les endothéliums vasculaires mais aussi du sang vers les tissus. L'ammoniaque est particulièrement toxique pour le cerveau, c'est pourquoi on retrouve majoritairement des signes nerveux lors de telles intoxications. Le monitoring de la qualité de l'eau passe par la mesure de la concentration totale en ammoniaque. Afin d'objectiver la toxicité de ces concentrations, il est important de connaître la part d'ammoniaque non dissociée présente (NH_3). Elle est calculée à l'aide de la formule suivante (Figure 63) après détermination de la mesure de l'azote ammoniacale totale ($NH_4^+ + NH_3$), de la température et du pH de l'eau (Annexe 2). Enfin, plus la concentration en dioxygène dissous est faible, plus grande sera la toxicité de l'ammoniaque (Svobodova *et al.*, 1993).

Figure 63 : Formule présentant les paramètres intervenant dans la détermination de la part d'ammoniaque non dissociée présente dans l'eau (Svobodova *et al.*, 1993).

$$NH_3 = \frac{NH_4^+ + NH_3}{10^{(10.07 - 0.33T - pH)} + 1}$$

Le carbonate d'ammonium et l'hydroxyde d'ammonium se forment dans les eaux riches en carbonates. À 4 mg/L, ces composants sont toxiques pour les poissons et peuvent causer des changements de pH stressants (National Research Council (US) Subcommittee on Amphibian Standards, 1974).

Les déjections des animaux et les restes alimentaires produisent des déchets toxiques comme l'ammoniaque et le nitrite. Les signes cliniques d'une intoxication à l'ammoniaque sont un changement de couleur, une augmentation de la production de mucus, un comportement de fuite visant à se soustraire de l'agent irritant, de l'érythème et de l'abatement voire la mort (Whitaker 2001).

Une exposition à long terme à des niveaux élevés peut conduire à une dépression immunitaire et des infections secondaires. La mise en place d'un filtre mécanique ainsi qu'un changement d'eau partiel raisonné sont indispensables pour conserver une bonne qualité de l'eau. La fréquence du changement d'eau dépendra essentiellement de la densité et de la taille des animaux de l'installation, du volume d'eau, de la fréquence de nourrissage, de l'efficacité des filtres, des plantes présentes, de la surveillance de la qualité de l'eau ainsi que de son éventuelle aération et mise en circulation au sein de l'installation (Pramuk et Gagliardo, 2012).

Les nitrites sont retrouvés avec les nitrates et l'ammoniaque dans les eaux de surface, mais les concentrations de ces trois molécules sont généralement basses en raison de leur instabilité. Ils sont rapidement oxydés en nitrates, qui sont le produit final de la décompensation aérobie des composés organiques azotés, ou réduits sous forme d'ammoniaque par les bactéries. Sous des conditions aérobiques normales, l'ammoniaque est oxydée en nitrite puis en nitrate par deux processus bactériens différents (Figure 62). Il faut donc prendre garde aux traitements antibiotiques par balnéation puisque ces réactions sont entièrement dépendantes des bactéries. Chez les poissons, l'action toxique du nitrite n'est pas tout à fait caractérisée mais elle dépend d'un certain nombre de facteurs internes et externes (espèce, âge, qualité générale de l'eau). Les ions nitrites peuvent s'attacher aux ionocytes, des cellules riches en mitochondries situées dans les branchies des poissons qui contribuent à l'homéostasie osmotique, ionique et acido-basique optimale (Svobodova *et al.*, 1993). Des cellules de même type sont retrouvées dans la peau des grenouilles et la régulation ionique qu'elles exercent semblent similaires à celle retrouvée chez les poissons (Dubaisi et Papalopulu, 2011).

Une installation disposant d'une population de bactéries dénitrifiantes bien établie aura un microcosme performant qui maintiendra un bon équilibre des déchets métaboliques. Lors du nettoyage, il ne faut pas utiliser de l'eau chlorée pour nettoyer le filtre, et ne pas frotter trop vigoureusement, afin de préserver les colonies bactériennes (Pramuk et Gagliardo, 2012).

Les dispositifs chimiques comme les filtres à charbons, les éponges à phosphates, les craies ammoniacales, ou les résines peuvent être utilisés pour éliminer des composants ciblés. Avec l'usure, leur efficacité diminue car les débris vont empêcher le flux d'eau traversant. Un nettoyage régulier s'impose donc (Pramuk et Gagliardo, 2012).

Le charbon peut réduire la quantité de toxines ou de produits chimiques. La surface pour les bactéries dénitrifiantes doit être la plus grande possible, en leur proposant des substrats particuliers dans le compartiment de filtration en utilisant par exemple du sable ou du gravier dans l'aquarium. Le sable permet aux racines des plantes de s'ancrer plus facilement mais favorise l'accumulation de déchets. L'ajout de plantes aquatiques crée un environnement riche pour les animaux, produisant du dioxygène le jour et consommant le nitrate libéré dans l'eau. Le processus met six semaines à se mettre en place mais ce délai peut être raccourci en ajoutant un substrat ou du matériel de filtration provenant d'un aquarium mature au nouveau bac (Pasmans et Martel, 2019b).

Le biofiltre doit être considéré comme un organisme vivant à part entière et nécessite deux conditions essentielles afin de rester efficace, à savoir un substrat adéquat et du dioxygène. Le premier peut correspondre à de la céramique ou du gravier d'aquarium apportant une grande surface sur laquelle les bactéries dénitrifiantes peuvent vivre. Les espèces bactériennes recherchées sont aérobies et nécessitent donc un bon apport en dioxygène. L'oxygénation est assurée avec un bon brassage d'eau à travers le filtre. Le flux d'eau doit passer à travers les couches du filtre assez lentement pour que les bactéries fixent les déchets azotés mais assez rapidement pour maintenir un environnement aérobie. La création d'un environnement anaérobie au sein du filtre par une eau stagnante ou circulant trop lentement peut produire de l'ammoniaque et d'autres coproduits toxiques, comme le sulfure d'hydrogène, et engendrer la mort des amphibiens (Pramuk et Gagliardo, 2012).

Nitrites et nitrates ne doivent pas excéder 0,3 mg/L car l'azote, en présence de phosphore et d'un spectre lumineux large, favorise la croissance d'algues pouvant boucher les canalisations (systèmes ouverts ou dans les zones où les eaux municipales sont riches en nitrates). Les nitrates doivent être contrôlés dans l'eau avant chaque utilisation car ils sont délétères pour les larves et les adultes (National Research Council (US) Subcommittee on Amphibian Standards, 1974).

Les lampes à UV stérilisatrices peuvent permettre de réduire le taux de bactéries néfastes présentes dans l'eau. Les ampoules perdent leurs effets avec le temps et doivent être changées tous les six mois (Pramuk et Gagliardo, 2012).

e) pH

Le pH correspond à la proportion d'ions d'hydrogène H^+ et d'ions hydroxyde OH^- dans une solution. La plupart des amphibiens préfèrent un pH légèrement basique. Cependant, les exigences en termes de pH varient selon l'espèce, et un pH de départ neutre (7) est recommandé pour toute espèce dont les besoins sont inconnus. Certains amphibiens comme *Hyla andersonii*, vivant dans les tourbières, affectionnent les eaux légèrement acides. (Pramuk et Gagliardo, 2012)

Le pH peut être maintenu aux alentours de la neutralité par un nettoyage régulier du filtre mécanique, des changements d'eau adéquats, et une bonne aération. Si un pH élevé nécessite une correction immédiate, il est possible d'augmenter l'acidité de manière sécurisée à l'aide d'un traitement spécifique vendu dans le commerce ou en ajoutant des tannins sous forme de mousse de sphaigne (*Sphagnum*), enveloppés dans un tissu et placés dans le bassin. L'ajout d'eau osmosée, déionisée, ou distillée peut aussi permettre de diminuer le pH. Cependant, ces solutions ne contiennent pas de solutés tampon et le pH résultant peut ne pas être stable. Le système peut être rendu basique en ajoutant de petites quantités de bicarbonates de sodium lentement puis attendre 24 h avant de tester à nouveau et de réajuster si nécessaire. Lorsque l'on change le pH, il faut procéder lentement pour ne pas impacter la physiologie des animaux, et il ne faut pas le faire varier au-delà de 0,5 d'unité sur 24 h (Pramuk et Gagliardo, 2012).

Un pH inférieur à 6,5 ou supérieur à 8,5 peut être délétère pour les amphibiens qui demeurent dans l'eau durant de longues périodes. Un pH inférieur à 4 ou supérieur à 11 est létal et doit être absolument évité. Certaines larves de *Rana sp.* se développent mieux à un pH autour de 6,5. Cependant, de nombreux amphibiens évoluent dans leur environnement naturel à des niveaux de pH inférieur ou supérieur, et peuvent avoir d'autres niveaux d'optimum. Pour les animaux prélevés dans le milieu naturel, notamment pour les œufs et les larves, il est préférable de les maintenir dans des conditions de pH similaires à leur environnement de départ (National Research Council (US) Subcommittee on Amphibian Standards, 1974 ; Pasmans et Martel, 2019b).

f) Chlore

Le chlore actif comprend le chlore moléculaire, l'hypochlorite, les chloramines, le dioxyde de chlore. Le chlore est la substance la plus toxique que l'on puisse retrouver dans une source hydrique (Svobodova *et al.*, 1993).

Cette substance est couramment retrouvée car les traitements des eaux municipales sont largement basés sur son emploi. Même des quantités infimes peuvent être délétères aux poissons et aux amphibiens, la sensibilité variant avec l'espèce et le stade de développement. Par exemple, les poissons peuvent subir les effets négatifs du chlore lorsqu'ils sont maintenus dans des bassins alimentés par de l'eau du robinet chlorée qui contient entre 0,05 et 0,3 mg/L de chlore actif ; les têtards sont plus vulnérables au chlore et autres défauts de qualité de l'eau que les adultes étant donné qu'ils respirent par leurs branchies qui y sont très sensibles. Des concentrations supérieures et rapidement létales peuvent être atteintes lorsque les centrales reçoivent de l'eau particulièrement chargée en matières organiques et doivent utiliser de grandes quantités de chlore pour la désinfecter (Svobodova *et al.*, 1993 ; Pramuk et Gagliardo, 2012).

Il est alors recommandé d'éliminer le chlore de l'eau avant toute utilisation à destination des animaux de la collection. Les kits de tests de chlore sont disponibles dans le commerce et la source d'eau doit être testée en routine à différents moments de la journée car la concentration dans l'eau en provenance du réseau municipal fluctue (Pramuk et Gagliardo, 2012).

Sa toxicité dépend largement de la température de l'eau : par exemple, une concentration en chlore de 3,5 mg/L a un effet sub-létal pour une carpe (*Cyprinus carpio*) dans une eau à 3-7°C mais si elle est exposée à la même concentration dans une eau à 15-20°C, elle meurt dans les une à deux heures. En général, une exposition prolongée à des concentrations de 0,04 à 0,2 mg/L est considérée comme toxique pour la majorité des espèces de poissons. Chez ces derniers, les effets systémiques d'une intoxication au chlore incluent une agitation excessive, une tétanie des muscles, une latérisation, des mouvements spastiques de la bouche, des nageoires et de la queue. Ils meurent de suffocation à cause des mouvements buccaux spastiques qui gênent les échanges respiratoires (Svobodova *et al.*, 1993). Ainsi, on peut comprendre que les effets du chlore soient encore plus importants chez les amphibiens se baignant dans une eau comprise entre 20 et 25°C.

Le chlore libre peut être éliminé de l'eau sous forme de gaz en la laissant reposer dans un récipient de qualité alimentaire, à l'air libre, pendant 24h (Pasmans et Martel, 2019b). Le processus de déchloration peut être accéléré par aération (en utilisant de la pierre poreuse) ou en faisant buller l'eau, en chauffant l'eau ou en utilisant un filtre de charbon activé dans la source d'eau. Cependant, cela ne permet pas d'éliminer les chloramines si elles sont utilisées à la place du chlore comme agent antibactérien par le réseau municipal (Pramuk et Gagliardo, 2012).

Pasmans et Martel (2019b) ne recommandent pas de traiter l'eau destinée aux amphibiens à la chloramine. Cette dernière est plus stable et nécessite l'usage de déchlorinateurs pour être éliminée. Pour des utilisations à petites échelles, des petites quantités de thiosulfate de sodium ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) à la dose de 6-8 mg/L peuvent être ajoutées à l'eau. De faibles concentrations en chlore sont naturellement absorbées par la matière organique de l'eau et les sédiments. Il est également possible de réaliser une

purification par osmose inversée ou par un autre système de filtration. En réagissant avec les chloramines, une petite quantité d'ammoniaque toxique est produite et devra aussi être traitée par un système de filtration adapté (National Research Council (US) Subcommittee on Amphibian Standards, 1974 ; Svobodova *et al.*, 1993 ; Pramuk et Gagliardo, 2012).

Seulement un nombre limité d'espèces d'amphibiens exigent une qualité d'eau plus spécifique (Pasmans et Martel, 2019b).

L'eau fournie aux larves et aux adultes respirant par la peau doit être sans chlore. Bien que certaines larves d'amphibiens soient en mesure de tolérer des niveaux de chlore élevés, de l'ordre de 3,8 mg/L sur une longue période, la croissance ainsi que d'autres processus physiologiques peuvent être affectés (National Research Council (US) Subcommittee on Amphibian Standards, 1974).

La présence de chlore dans l'eau fournie aux amphibiens respirant par voie pulmonaire retarde la croissance bactérienne et s'avère donc bénéfique. Les adultes de *Rana pipiens* qui n'hibernent pas peuvent tolérer des niveaux compris entre 4 et 6 mg/L, et jusqu'à 12 mg/L sur des courtes périodes. Certains adultes sont capables de tolérer une eau chlorée (*Ceratophrys ornata*, *Rana catesbeiana*, *Ambystoma texanum*, *Ambystoma tigrinum*, *Litoria caerulea*, *Ichthyophis kohtaoensis*) (National Research Council (US) Subcommittee on Amphibian Standards, 1974).

Le chlorure de cuivre est toxique pour les poissons à la dose de 9 mg/L. Les canalisations contenant du cuivre doivent être évitées. Si cela n'est pas possible, l'eau ayant transitée par leur biais doit être surveillée de près (National Research Council (US) Subcommittee on Amphibian Standards, 1974).

g) Fluor

La concentration en fluor ne doit pas excéder 1,5 mg/L (National Research Council (US) Subcommittee on Amphibian Standards, 1974).

h) Métaux lourds

Zinc, cuivre, mercure, plomb peuvent être introduits par la nourriture ou les systèmes d'eaux à partir de nombreuses sources, et doivent être évalués avant que les amphibiens n'y soient exposés (National Research Council (US) Subcommittee on Amphibian Standards, 1974).

Le zinc peut être lessivé à partir des tuyaux galvanisés, le cuivre des canalisations de cuivre ou de laiton, etc. Le cuivre est toxique pour les organismes à branchies et le zinc est connu pour être nocif et de s'accumuler à des doses létales quand les poissons sont exposés à du $ZnCl_2$. Bien que la toxicité de ces métaux n'ait pas été évaluée chez les amphibiens, les formes aquatiques peuvent être à risque. Les tuyaux du système d'eau devraient être fabriqués à partir d'acier noir ou de polyéthylène haute densité, polypropylène ou nylon. Les eaux des puits peuvent être riches en fer. Après aération, le fer précipite et n'est plus toxique. Cependant, de grandes quantités de fer précipité peuvent obstruer les valves d'eau ou favoriser la croissance de bactéries réductrices de fer qui peuvent, à leur tour, boucher les valves d'eau ou diminuer la concentration de l'eau en dioxygène. Les eaux municipales peuvent être supplémentées en sulfate de cuivre dans le cadre du contrôle de la croissance des algues, notamment en automne et au printemps. Il s'agit d'un inhibiteur de croissance des têtards. Il peut être éliminé en ajoutant de l'EDTA à la dose de 50 mg/L (National Research Council (US) Subcommittee on Amphibian Standards, 1974).

La teneur en cuivre ne doit pas excéder 0,05 mg/L. Au-delà, il est nécessaire de filtrer le cuivre avec du charbon ou de le faire précipiter avec du carbonate, ou encore d'éviter les canalisations en cuivre. Les conduits en cuivre peuvent être rincés avant de recueillir l'eau (Odum et Zippel, 2008).

i) Phosphates

Certaines villes ajoutent des phosphates dans leurs eaux pour chélater le plomb présent dans les vieilles canalisations. Un excès de phosphates est mauvais pour les amphibiens car il chélate le calcium. Un ratio phosphate/calcium trop élevé peut conduire à des problèmes neurologiques et ostéologiques, à la paralysie voire la mort (Pramuk et Gagliardo, 2012).

Les phosphates sont toxiques pour de nombreux animaux en raison de leur interférence avec le métabolisme calcique. La toxicité dépend de l'espèce. Odum et Zippel (2008) recommandent cependant de ne pas dépasser une teneur de 10 mg/L. Les molécules de phosphates sont généralement trop petites pour être retirées par osmose inversée mais des éponges et des filtres à phosphates peuvent être utilisés lorsque leur teneur est excessive. De manière anecdotique, les adultes de *Atelopus spp* semblent être particulièrement sensibles à la toxicité des phosphates.

j) Microorganismes

La densité des coliformes fécaux ne doit pas excéder 2 000 UFC /100 mL et celle des coliformes totaux 20 000 UFC/100mL (National Research Council (US) Subcommittee on Amphibian Standards, 1974).

k) Biphényles polychlorés et autres toxiques provenant du plastique

La facilité d'usage et le faible coût des matériaux en plastique justifient leur emploi courant pour l'entretien des amphibiens captifs. Cependant, ils ne sont pas sans danger, notamment lorsqu'ils rentrent en contact avec l'approvisionnement d'eau. Les plastiques phénolés ou acryliques peuvent contribuer à un niveau significatif de BCP dans l'eau. La toxicité de ces substances a été bien documentée pour les organismes vivants et elles doivent être évitées en conséquence. Le plastique souple peut contenir jusqu'à 40 % de son poids en plastifiants, certains étant volatiles. Les esters de phtalate peuvent se disperser dans l'eau à partir de ces plastifiants. Ces substances sont toxiques. Certains plastiques incorporent également des fongicides. L'absence d'évaluation des effets de ces fongicides sur les amphibiens doit conduire à leur éviction. Ainsi, les auteurs recommandent d'utiliser des tuyaux en polypropylène haute densité, propylène ou nylon lorsque des tuyaux en plastique sont utilisés pour remplacer une tuyauterie en cuivre pouvant être source d'intoxication. Si les containers en plastique sont à destination des embryons ou des larves, il faut préférer des plastiques rigides, contenant moins de plastifiants (National Research Council (US) Subcommittee on Amphibian Standards, 1974).

l) Autres toxiques

De nombreux éléments peuvent être potentiellement toxiques et provenir de sources variables. Les insecticides sont plus fréquemment retrouvés dans les préparations commerciales de nourriture et doivent être quantifiés et retirés si possible. Les amphibiens sont normalement tolérants aux concentrations d'insecticides retrouvés dans le commerce. Cependant, ces biocides peuvent s'accumuler si des mesures de précaution ne sont pas prises et se retrouver à des concentrations délétères pour des colonies reproductrices où le risque d'accumulation de pesticides dans les œufs est élevé. Il n'est pas possible de définir un seuil de toxicité en raison de l'absence d'information sur leurs actions synergiques ou « effet cocktail » (National Research Council (US) Subcommittee on Amphibian Standards, 1974).

Le sel de table est largement utilisé comme traitement pour les poissons malades et les amphibiens. Il faut prendre garde à l'usage de ces traitements au sel, notamment chez les juvéniles et les adultes, dont l'absorption rapide peut s'avérer potentiellement létale. La limite de tolérance est inconnue pour de nombreuses espèces et il est préférable d'éviter l'usage de sels dans une colonie sans vérifier la

tolérance sur quelques individus au préalable (National Research Council (US) Subcommittee on Amphibian Standards, 1974).

Un tableau récapitulatif des principaux paramètres de l'eau à contrôler chez les amphibiens est présent en annexe (Annexe 3).

Des changements réguliers de l'eau sont essentiels afin de se débarrasser des toxines mineures qui ne sont pas éliminées autrement comme les nitrates et les phosphates, ainsi que pour renouveler les ressources hydriques en nutriments qui auraient été absorbés par les plantes et les animaux. Dans le cas d'un bassin, un changement au minimum de 10 à 20 % de l'eau toutes les une à deux semaines suffit généralement (Odum et Zippel, 2008).

2) Traitement des sources d'eau

L'osmose inversée ou les filtres à charbon sont des méthodes de purification de l'eau les plus utilisées par les herpétologistes pour contrôler la qualité de la source d'eau utilisée pour les amphibiens. Les systèmes d'osmose inversée emploient des membranes semi-perméables qui permettent le passage de molécules de manière sélective. La membrane retient les impuretés comme les sels, mais laisse passer de petits composants comme les phosphates. L'eau osmosée ou distillée contient peu de solutés et s'avère plus pure que les ressources hydriques habituellement tolérées par la plupart des amphibiens. Le niveau de pureté implique que pour atteindre l'équilibre osmotique, l'eau va se déplacer vers les tissus des amphibiens contenant une bien plus forte concentration en solutés. Avec le temps, les animaux risquent donc de développer des œdèmes et des affections rénales. Pour contrebalancer cette situation, des sels et des minéraux doivent être rajoutés à l'eau osmosée afin de créer une solution isotonique (à l'équilibre) par rapport aux constantes physiologiques des amphibiens. L'eau osmosée pure est idéale pour les systèmes de brumisation dans les terrariums d'exposition, où le dépôt inesthétique de minéraux n'est pas désiré. Cependant, au sein de l'installation, une eau équilibrée en solutés est indispensable pour prévenir les troubles osmotiques chez les animaux (Pramuk et Gagliardo, 2012).

De nombreuses sources d'eau sont disponibles pour l'élevage et leur qualité varie grandement en fonction de leurs origines. Afin d'évaluer la qualité de la ressource, il convient de réaliser les tests adéquats pour déterminer les substances dissoutes, le pH et la dureté de l'eau. Initialement, il est utile de faire tester la source par un laboratoire spécialisé. Cela permettra d'identifier les éventuels traitements nécessaires à apporter à l'eau avant de pouvoir l'utiliser pour les animaux. L'évaluation de la qualité de la source d'approvisionnement en eau peut être réalisée sur la base des critères standards définissant une eau potable (Odum et Zippel, 2008).

Il vaut mieux commencer avec une eau de haute qualité dont il faudra tester les paramètres de manière régulière. Il convient de garder sa fraîcheur par un renouvellement fréquent, partiel ou complet tout en assurant une bonne circulation et/ou une bonne filtration (Pramuk et Gagliardo, 2012). Une présentation détaillée des alternatives possibles à l'eau du réseau municipal est présentée en annexe (Annexe 4).

Les osmoseurs peuvent parfois laisser passer des nitrates, des phosphates et des silicates pouvant être présents en faibles concentrations dans l'eau du réseau. Non toxiques à ces teneurs, ils peuvent toutefois favoriser la croissance d'algues. Un filtre de déminéralisation contribue alors à éliminer les nitrates et les phosphates en cas de problème. Il utilise des résines chimiques qui doivent être périodiquement régénérés ou remplacées (Odum et Zippel, 2008).

Il est important de considérer la gestion des eaux usées car de nombreuses maladies causant le déclin actuel des amphibiens dans la nature sont d'origine humaine (Odum et Zippel, 2008).

Contrairement aux reptiles, les amphibiens ne pondent pas d'œufs calcifiés. Leurs œufs sont alors dépendants de l'environnement aquatique dans lequel ils baignent et le développement de l'embryon

sera directement affecté si un problème de qualité de l'eau se manifeste. Si leur peau se dessèche, les amphibiens perdent également leur capacité à réaliser des échanges gazeux à travers leur peau et s'asphyxient (Pramuk et Gagliardo, 2012).

3) Tests pour la qualité de l'eau

La température, le pH, l'ammoniaque et les nitrites dans l'eau doivent être initialement testés quotidiennement dans les nouvelles installations pour s'assurer que les conditions sont adaptées pour les amphibiens, l'intervalle entre les tests pourra ensuite être allongé dans un terrarium bien contrôlé. Des kits de tests colorimétriques sont disponibles pour évaluer la qualité chimique de l'eau de manière peu coûteuse. Les réactifs sont alors ajoutés à un échantillon d'eau, la couleur qui en résulte est alors comparée à l'échelle d'étalonnage. Des tests plus chers mais aussi plus précis sont disponibles par spectrophotométrie. Ils ne sont cependant pas forcément plus utiles que les tests colorimétriques généralement suffisants pour vérifier si les paramètres de l'eau se situent dans les valeurs usuelles (Pramuk et Gagliardo, 2012).

Les terrariums nouvellement construits subissent souvent un pic d'ammoniaque plusieurs jours après leur mise en service ; il faut donc s'assurer que l'équilibre s'est établi avant d'y introduire des animaux. Il est donc recommandé de préparer l'installation plusieurs semaines à un mois avant l'introduction effective des animaux. Cela permettra aux bactéries de coloniser le substrat et aux plantes de croître (Pramuk et Gagliardo, 2012).

Au départ, il convient de tester le taux d'ammoniaque/ammonium, de nitrites et nitrates, le pH, la dureté et les phosphates (Odum et Zippel, 2008).

Paramètres de la qualité de l'eau à suivre :

- Température ;
- pH ;
- Ammoniaque (NH₃) ;
- Nitrites (NO₂⁻) ;
- Nitrates (NO₃⁻) ;
- Dureté ;
- Alcalinité.

En pratique, l'usage d'un kit de test chaque semaine pour vérifier la qualité de l'eau est hautement recommandé, et une analyse de l'eau complète doit être réalisée lorsqu'une maladie est suspectée. (Pramuk et Gagliardo, 2012 ; Pasmans et Martel, 2019).

Après l'introduction des animaux, il faut tester l'eau de manière périodique et à chaque fois qu'on observera de la mortalité, afin d'en déterminer la cause. Garder un registre quotidien de la qualité de l'eau permet de générer une base de données et de repérer les problèmes avant qu'ils ne deviennent délétères. Une analyse d'eau doit être périodiquement réalisée et contrôlée par le vétérinaire lors de ses visites (Pramuk et Gagliardo, 2012).

Dans le cas où les œufs et les larves meurent, la qualité de l'eau doit être examinée en priorité. Si la mortalité touche essentiellement les adultes, il faut vérifier la qualité de l'eau à la source. Si un lien entre la mortalité ou les maladies et la qualité de l'eau est mis en évidence, il faut améliorer l'environnement aquatique (Odum et Zippel, 2008).

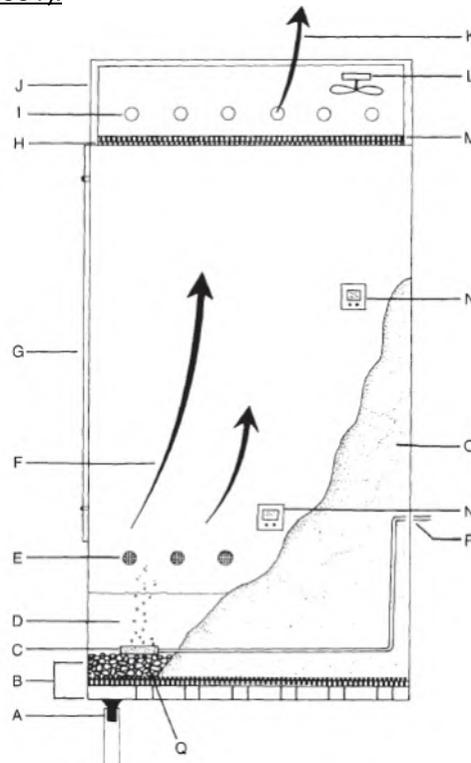
H. Conditions environnementales

La grande diversité des espèces d'amphibiens résulte de la variété des habitats qu'elles ont colonisés et du large éventail de paramètres environnementaux auquel elles se sont adaptées. Le maintien des amphibiens en captivité nécessite de porter une attention particulière concernant la température de l'air et de l'eau, la lumière, et l'humidité, qui peuvent grandement varier entre les biotopes naturels spécialisés et les micro-habitats (Pramuk et Gagliardo, 2012).

1) Ventilation

Les terrariums hauts ont tendance à favoriser une stagnation de l'air près du sol. Les gradients de températures et d'hygrométries sont souvent difficiles à mettre en place ou maintenir en raison d'une mauvaise circulation de l'air. Pour y remédier, il est possible d'ajouter des ventilateurs en hauteur, orientés vers le bas ou vers une paroi du terrarium, pour favoriser les mouvements d'air sans diriger un flux d'air trop important sur les animaux. Un placement judicieux des ouvertures d'aération de manière à permettre la circulation de l'air représente également une solution (Figure 64) (Barnett *et al.*, 2001).

Figure 64 : Vue latérale d'un terrarium arboricole montrant une circulation correcte de l'air, illustration de S. Barnett (Barnett *et al.*, 2001).



- A : drain.
- B : système de drainage (cf. Figure 57 B-D).
- C : pierre poreuse connectée à une pompe externe.
- D : bassin d'eau.
- E : trous d'aération dans la partie basse d'une des parois du terrarium. Une pompe à air peut aussi être placée à ce niveau.
- F : élévation d'un air chargée d'humidité et chauffée par les systèmes de chauffage du terrarium.
- G : porte d'accès au terrarium.
- H : plafond grillagé du terrarium.
- I : trous d'aération au niveau du toit du terrarium afin de permettre l'évacuation de l'air chaud.
- J : toit du terrarium contenant les lampes chauffantes et fluorescentes.
- K : air ventilé.
- L : ventilateur.
- M : grille de filtration réduisant l'éblouissement provenant des lampes.
- N : thermo-hygromètre.
- O : substrat.
- P : point d'entrée et de sortie des câbles électroniques.
- Q : gravier.

2) Température

a) Température de l'air ambiant

Le maintien d'une température appropriée pour les amphibiens est un des points critiques les plus importants à respecter pour leur santé globale. En tant qu'ectothermes, les amphibiens ne peuvent pas produire leur propre chaleur interne et dépendent donc des températures environnementales et d'adaptations comportementales (bain de soleil, hibernation) pour satisfaire leurs besoins thermiques à l'instar des reptiles et des poissons. Les espèces tropicales vivant en zones montagneuses auront des besoins médians en température, inférieurs à celles vivant dans la plaine (Pramuk et Gagliardo, 2012).

Le micro-habitat naturel de l'espèce doit être pris en compte. Certaines d'entre elles vivent dans des biotopes différents de ce à quoi on pourrait s'attendre en ne tenant compte que de la zone géographique dans laquelle elles vivent. Par exemple, des espèces de climat tempéré vivent en général dans des gammes de températures allant de 18 à 24°C. Cependant, des températures plus fraîches ou une période de brume peut leur être nécessaire en automne et en hiver. Les grenouilles des plaines tropicales peuvent être maintenues entre 24 et 30°C tandis que celles vivant en montagnes tropicales vivent bien entre 18 et 24°C. Les œufs et les larves de la plupart des hylidés néotropicaux et des dendrobatidés peuvent être maintenus à 25-27°C (Barnett *et al.*, 2001).

Il est généralement plus simple de chauffer une installation que de la refroidir. Il est donc recommandé de maintenir les amphibiens dans une pièce légèrement plus fraîche que la température moyenne nécessaire aux animaux de la collection. Il est possible de chauffer les terrariums individuels par des lampes chauffantes ou des chauffe-eaux pour créer un gradient de température. Idéalement, il est préférable de faire varier la température de la pièce entière plutôt que d'utiliser des tapis chauffants ou des lampes chauffantes pour réguler la température de chaque terrarium car ces procédés vont dessécher les terrariums très rapidement. De plus, l'usage de tapis chauffants n'est pas recommandé car ils entraînent souvent des accidents par dessiccation rapide du terrarium et des animaux. Cependant, cela peut être difficile à faire pour les collections d'amphibiens composites nécessitant de larges gammes de températures, au sein d'une même pièce (Pramuk et Gagliardo, 2012).

Si les amphibiens sont maintenus dans une petite pièce ou une structure semblable à une serre, un dispositif de chauffage par air conditionné portable peut être installé pour réguler la température ambiante. Ces dispositifs sont relativement chers mais ont été utilisés avec succès dans de telles installations pour maintenir la température au sein du Zoo Henry Doorly d'Omaha (Pramuk et Gagliardo, 2012).

Le climat des zones tropicales, chaudes et humides, où les *Trachycephalus* sont principalement retrouvées, est plus complexe à reproduire. La température et l'humidité relative élevées doivent être maintenues tout en évitant la putréfaction. Il faut donc aérer en continu mais avec parcimonie afin d'éviter d'importantes modifications de ces paramètres. Les plantes sont omniprésentes à tous les étages et recréent des conditions artificielles esthétiques et utiles. Par leur simple présence, la vie anime le bac entier. Le dégagement de dioxygène et le maintien de l'hygrométrie sont les autres avantages conférés par les plantes. Les saisons sont quasi-inexistantes et les paramètres doivent rester constants tout au long de l'année (Mouret, 2001).

Les amphibiens n'ont pas toujours les mêmes besoins en matière de chaleur : par exemple, après le repas ou pendant une incubation interne, quelques degrés supplémentaires peuvent être nécessaires. Il faut établir dans le terrarium un gradient thermique, avec une fourchette plus large que les températures préférentielles. D'une manière générale, on mettra en place une diminution contrôlée de la température de 5-6°C la nuit. Cette baisse est nécessaire pour le fonctionnement physiologique normal des batraciens (de la glande thyroïde notamment) (Mouret, 2001).

Contrairement aux reptiles, la majorité des amphibiens n'ont pas besoin d'un gradient thermique pour la thermorégulation active. Des températures ambiantes oscillant dans les intervalles correspondant

aux préférences thermiques de chaque espèce en prenant en compte les variations nycthémérales suffisent généralement. Cependant, pour les espèces qui expriment des comportements d'exposition au soleil (soit la majorité des anoues diurnes ou les grenouilles arboricoles), il faut leur proposer une zone où elles puissent s'exposer sous une lampe à basse énergie ou un émetteur de chaleur en céramique (émission de chaleur infrarouge sans émission de lumière). Des recommandations générales sur la température ne sont pas possibles et il est recommandé de se référer à la littérature scientifique disponible pour chacune des espèces hébergées. De nombreuses espèces comme les *Dendrobates* préfèrent un régime thermique circadien avec des nuits fraîches (Pasmans et Martel, 2019b).

Différents types de chauffage sont possibles (Mouret, 2001) :

- Les cordons chauffants sont des câbles électriques recouverts d'une gaine de plastique. Leur usage est controversé car elles peuvent occasionner des brûlures chez les individus qui s'enfouissent.
- Le thermoplongeur est une résistance chauffante, dans un tube pyrex et munie d'un rhéostat. Il est utilisé pour chauffer l'eau, ce qui est utile pour les amphibiens et contribue de manière active au maintien d'une hygrométrie élevée.
- Le chauffage d'une pièce entière transformée en vivarium est indispensable quand elle renferme tous les terrariums.
- Le chauffage par rayonnement infrarouge est également possible. Il existe des spots à infrarouges qui sont des lampes à incandescences rouges et infrarouges qui servent à chauffer la nuit sans que la lumière ne dérange les animaux. Elles ont l'inconvénient de dessécher l'atmosphère.

Le contrôle de la température est indispensable et nécessite l'usage de plusieurs thermomètres. Il doit être quotidien, environ dix secondes, pour trois prises de température. L'installation d'un thermostat à variation jour/nuit peut aussi constituer une précaution judicieuse.

Avant d'installer les animaux dans un nouveau terrarium, il faut monitorer les paramètres environnementaux régulièrement (à quelques heures d'intervalle) pendant plusieurs jours. Il est facile de trop chauffer les animaux donc il faut s'assurer que les températures maximales restent dans des valeurs acceptables pour l'espèce. De nombreux outils permettant de faciliter le suivi des paramètres environnementaux. Il est possible d'investir dans un thermomètre à infrarouge pour surveiller le gradient de température régulièrement dans les installations, afin de s'assurer du maintien d'une gamme de températures correcte pour les espèces hébergées (Pramuk et Gagliardo, 2012).

Les thermomètres digitaux et analogues sont essentiels pour la mesure de la température en dehors comme à l'intérieur du terrarium. Un thermomètre avec une mémoire maximum/minimum ou un thermomètre digital sont utiles pour avoir accès à des informations de base sur la fluctuation quotidienne de températures. Les pistolets infrarouges à température sont idéaux pour mesurer la température au sein d'un vivarium ou d'un terrarium sans déranger les animaux. Certains appareils permettent aussi de mesurer d'autres paramètres en plus de la température, comme l'humidité relative, voire même le niveau d'éclairage (Pramuk et Gagliardo, 2012).

b) Température de l'eau

La température de l'eau reflète généralement la température ambiante du terrarium. Il faut s'assurer que l'eau introduite ait atteint la température ambiante avant qu'elle n'entre en contact avec les animaux. Une bonne manière de s'en assurer est de la conserver dans un réservoir avant son utilisation. Selon les conditions, il est possible de chauffer ou de refroidir l'eau dans le réservoir ou au sein du bassin. Il faut utiliser un réservoir ne contenant pas de contaminants potentiels. En général, on utilise un chauffe-eau apportant 1,32-2,64 Watts/L d'eau chauffés. Les chauffe-eaux ne sont pas très chers contrairement aux refroidisseurs d'aquarium (Pramuk et Gagliardo, 2012).

L'organisation de conservation de Durrell détaille ainsi les conditions appliquées dans le terrarium des *Trachycephalus resinifictrix* au sein du Zoo de Jersey dans ses recommandations.

Le terrarium hors exposition est placé dans une pièce chauffée entre 23 (nuit d'été) et 27°C (jour d'été) et entre 20 (nuit d'hiver) et 25°C (jour d'hiver).

Une lampe chauffante (spot) de 80 watts est utilisée pour apporter un point d'exposition, dont la température est comprise entre 24 et 29°C la journée, et 20°C la nuit (Tapley et Bradfield, 2008).

3) Hygrométrie

L'humidité relative est le pourcentage de vapeur d'eau dans un volume d'air donné ou la proportion d'eau dans l'atmosphère par rapport à la quantité d'humidité que l'atmosphère peut contenir à saturation. Il s'agit d'une mesure relative car la valeur absolue change avec la température de l'air. En effet, un air plus chaud contient davantage de vapeur d'eau que de l'air plus froid pour une même valeur d'humidité relative. Elle est donc en corrélation directe avec la température (Pramuk et Gagliardo, 2012). On retrouve, en général, une humidité de 80 à 100 % dans les forêts tropicales (Mouret, 2001).

L'humidité relative est un paramètre extrêmement important à mesurer car il détermine la vitesse à laquelle l'animal va perdre son eau corporelle par évaporation et convection au profit de l'air ambiant. Une humidité basse, comme dans les environnements désertiques, engendrera une déshydratation plus rapide. C'est pourquoi de nombreux amphibiens seront plus actifs la nuit, durant les orages, ou pendant la saison des pluies (Pramuk et Gagliardo, 2012).

Un hygromètre est indispensable pour contrôler ce paramètre et les récipients d'eau doivent être remplis et propres en permanence (Mouret, 2001).

Le niveau d'humidité varie selon la période de l'année. Durant les mois chauds, si des climatiseurs ou des dispositifs de chauffage sont utilisés, l'humidité relative va diminuer et le terrarium comme les animaux se déshydrateront plus rapidement. Des humidificateurs peuvent être mis en place pour augmenter le taux d'humidité au sein d'une pièce. Certains ont été incriminés comme pouvant relarguer des microorganismes et des minéraux en provenance du réservoir dans l'air, ce qui pourrait causer des problèmes de santé. Il faut éviter les vaporisateurs de vapeur avec les amphibiens car ils génèrent une forte chaleur. Les humidificateurs évaporateurs ne sont pas coûteux à l'emploi mais nécessitent d'être nettoyés afin d'éviter les dépôts de calcaire pouvant s'accumuler dans le réservoir d'eau et engendrer des problèmes. Bien que chère, l'eau distillée peut être utilisée pour remplir les réservoirs des humidificateurs évaporateurs afin de réduire le relargage de microorganismes et de minéraux dans l'air. Les humidificateurs ultrasoniques sont coûteux à l'achat mais l'accumulation de bactéries en leur sein est moindre par rapport aux modèles évaporateurs (Pramuk et Gagliardo, 2012).

La régulation de ce paramètre peut aussi se faire au moyen de systèmes de brumisation automatique ou manuellement, ou en modulant la ventilation. Les systèmes de brumisation automatiques sont excellents pour le maintien d'un niveau d'humidité constant au sein d'un grand nombre de terrariums, et sont disponibles en de nombreuses tailles, marques et configurations. Cependant, une brumisation manuelle et fréquente permet de multiplier les observations et donc de mieux surveiller les animaux (Pramuk et Gagliardo, 2012).

Chez certaines espèces, les comportements de reproduction sont stimulés par une augmentation de l'humidité relative, plutôt que par des pluies diluviennes. Il est possible de simuler cette augmentation en utilisant un humidificateur directement relié au terrarium par un tube PVC (Figure 65). Il faut ensuite sceller le réservoir avec un film plastique afin d'y conserver l'humidité, bien que des petites ouvertures dussent être réalisées pour permettre une dissipation et un renouvellement de l'air (Pramuk et Gagliardo, 2012).

Figure 65 : Utilisation d'un humidificateur pour simuler une augmentation rapide de l'humidité relative (Pramuk et Gagliardo, 2012).



Au Zoo de Jersey, l'installation est brumisée avec de l'eau du robinet tous les jours et l'humidité relative varie entre 45 et 90 % (Tapley et Bradfield, 2008).

Dans l'idéal, il faudrait garantir une humidité relative supérieure à 70 % car elle confère un gradient d'humidité permettant aux animaux de choisir le niveau qui leur convient le mieux (Helmer et Whiteside, 2005).

4) Éclairage et UVB

La quantité et la qualité de l'éclairage sont toutes deux importantes pour les amphibiens.

L'éclairage du terrarium doit proposer la même photopériode que celle que connaissent les individus sauvages. La période de lumière doit idéalement être contrôlée par une minuterie afin que l'alternance jour/nuit soit rigoureusement respectée. Cela peut être réalisé au moyen de plusieurs lampes d'intensités différentes s'allumant, puis s'éteignant, de manière différée à l'aide de minuteurs, au fil de la journée afin de reproduire un cycle circadien. Les variations de photopériode sont nécessaires pour reproduire les variations de saisons, mais en zone tropicale, les amphibiens tropicaux bénéficient d'une douzaine d'heures de photopériode tout au long de l'année (Mouret, 2001).

La variation saisonnière de la photopériode (lorsqu'elle est justifiée) peut être importante à reproduire pour stimuler la reproduction chez de nombreuses espèces. Il est possible de simuler une photopériode naturelle en procédant par étape, par exemple en augmentant ou en diminuant la durée d'éclairage d'une heure toutes les deux semaines. Le terrarium ne doit pas être exposé directement sous le soleil. Des enclos externes sont possibles mais ces installations ne seront pas abordées dans le cadre de cette thèse (Pasmans et Martel, 2019b).

L'éclairage ne constitue pas un paramètre aussi critique pour maintenir des amphibiens sains en bonne santé qu'il ne l'est pour les reptiles mais il n'en reste pas moins un facteur important et complexe à adapter. Quels que soient leurs besoins en termes de d'éclairage, les amphibiens doivent pouvoir en bénéficier mais également d'un abri permettant de s'y soustraire, accessible à tout moment. Une luminosité de haute intensité n'est appréciée que par un nombre limité d'amphibiens diurnes qui s'exposent volontairement au soleil (Pasmans et Martel, 2019b).

Certaines espèces requièrent des rayonnements UV pour le métabolisme calcique, leur comportement normal et la reproduction. En captivité, certains anoures peuvent présenter une croissance et un développement squelettique de mauvaise qualité à cause d'un niveau en radiations ultraviolettes inadéquats.

Comme les reptiles, les amphibiens synthétisent la vitamine D₃ suite à leur exposition aux UVB, processus durant lequel la vitamine D₂ est convertie en vitamine D₃. Cette dernière est indispensable pour une bonne absorption du calcium nécessaire à la synthèse et au renforcement osseux et prévenir l'hyperparathyroïdie nutritionnelle secondaire (Pramuk et Gagliardo, 2012).

L'hyperparathyroïdie nutritionnelle secondaire à l'hypocalcémie est à l'origine des signes cliniques observées dans le cadre de cette maladie. Elle résulte d'une décalcification du squelette permettant d'accroître la calcémie. De plus, une hypocalcémie a aussi une répercussion négative sur la croissance et la reproduction (Verschooren *et al.*, 2011).

De nombreuses espèces comme *Atelopus* spp. ou certaines espèces arboricoles comme *Phyllomedusa* spp. s'exposent régulièrement au soleil et semblent ainsi avoir besoin d'une plus forte exposition aux rayonnements UVB par rapport aux autres espèces. Même les individus ne s'exposant pas directement au soleil reçoivent des rayons ultraviolets réfléchis. Ils sont également importants pour leur physiologie et leur développement des espèces photophobes (Pramuk et Gagliardo, 2012). Une complémentation en UVB est toujours intéressante pour un élevage de batraciens et l'on ne doit pas se contenter d'une complémentation alimentaire en vitamine D₃ sur les insectes (Tapley *et al.*, 2015).

La lumière artificielle ne permet pas de remplacer complètement la lumière naturelle.

Le soleil émet deux types de rayonnements ultraviolets pertinents en herpétologie : les UVA et les UVB. Les UVA sont des rayons de longueurs d'onde élevées, de 320 à 400 nm alors que les UVB sont plutôt des rayonnements de longueurs d'onde courtes, de 290 à 320 nm. Ces deux types de rayonnements ultraviolets peuvent induire des mutations ponctuelles dans l'ADN et des doses en excès peuvent donc induire des néoplasies et autres complications. Chez les humains, les UVB sont davantage susceptibles de causer des coups de soleil. Chez les animaux en captivité, la lumière naturelle est de loin la meilleure option mais elle n'est pas toujours disponible. Le verre ne laisse pas passer les ultraviolets de moyennes longueurs d'onde ; il ne doit donc pas être utilisé comme couvercle et il vaut mieux privilégier un treillis métallique. L'acrylique et le fluoro-plastique peuvent transmettre les ultraviolets de courtes longueurs d'onde, mais le treillis métallique reste le matériau de choix (Pramuk et Gagliardo, 2012).

Une alternative en captivité consiste donc en l'utilisation de lampes spécifiques. Ces dernières doivent être placées à une distance suffisante des animaux afin de ne pas causer de brûlures ou autres complications, tout en étant suffisamment proches pour que leurs rayons soient efficaces. La quantité d'UVB délivrée par les ampoules fluorescentes diminue après quelque centaines ou milliers d'heures d'utilisation. Le changement graduel de l'efficacité des lampes n'est pas visible à l'œil nu, et varie selon les marques et même au sein des lots. De plus, la nature des parois et couvercle des installations, ainsi que la distance aux ampoules, vont jouer sur la quantité d'UVB effectivement reçue. Il est donc pertinent de se renseigner sur la durée de vie des ampoules auprès des fabricants et de mesurer périodiquement la quantité d'UVB délivrée avec un UV-mètre afin de surveiller la durée de vie de l'ampoule et de la changer quand il le faut (Pramuk et Gagliardo, 2012). En l'absence de contrôles, il convient de changer les lampes au moins tous les 6 mois. Dans l'idéal, un radiomètre à ultraviolet (type Solarmeter Model 6.2 UVB de Solartech) ou un spectromètre (type Ocean Optics USB-2000) peut être utilisé pour suivre la quantité d'UVB délivrée par la lampe au cours du temps. Le spot doit également être placé à un endroit où l'animal est en mesure d'exposer le plus de surface corporelle possible, à une distance adaptée de la source d'émission, et les zones dangereuses doivent être identifiées et rendues inaccessibles aux animaux (Ferrie *et al.*, 2014).

Tapley *et al.*, (2015) ont montré que l'exposition régulière aux UVB permettait l'obtention d'une croissance et d'un développement squelettique meilleurs. En particulier, Verschooren *et al.* (2011) ont montré que l'apport quotidien d'UVB améliorerait ces deux paramètres chez *Trachycephalus resinifictrix*, notamment au niveau des parties du squelette destinés à la prise alimentaire et la mobilité (crâne, colonne vertébrale et longueur du fémur) qui se développent ainsi davantage. Une meilleure calcification osseuse dans les premières semaines suivant la métamorphose a également été observée mais pas

ensuite, indépendamment du protocole d'apport en UVB choisi. La structure osseuse est vitale pour les amphibiens et tout défaut peut avoir une conséquence directe sur la croissance, la chasse, la locomotion, la reproduction et la survie de l'animal. Les anoures possèdent la capacité de stocker le calcium dans les sacs endolymphatiques de la cavité crânienne et du canal vertébral, qui peut être utilisé pour augmenter les taux circulant de calcium ionisé. Larves et adultes stockent ainsi le carbonate de calcium sous la peau.

Les études suggèrent que les ampoules à halogène modifiées Eiko® M16 utilisées par de nombreuses structures apportent un spectre d'ultraviolets complet et permettent de multiplier la conversion de la vitamine D₃ de 5 à 20 fois chez certains amphibiens, par rapport à d'autres sources. De plus, elles sont durables, peu chères et présentent donc un bon rapport qualité/prix par rapport à d'autres marques existantes (Pramuk et Gagliardo, 2012). Une complémentation de l'éclairage naturel par un éclairage artificiel est probablement un des moyens les plus simples d'apporter une lumière adaptée tant en termes de spectre qu'en intensité, notamment en ce qui concerne les UVB ; cependant, la contrainte des installations en intérieur rend souvent cet accès difficile, et l'éclairage artificiel demeure l'option la plus pratique (Ferrie *et al.*, 2014).

Il est tout à fait possible de maintenir des *Trachycephalus resinifictrix* en captivité sans apport en UVB avec un développement squelettique et des performances de reproduction normales, au moins sur deux générations. Toutefois, les auteurs pensent qu'un apport en UVB peut être bénéfique en raison de d'effets potentiellement bénéfiques sur la santé des amphibiens. L'apport en UVB doit être considéré chez les amphibiens y ayant accès à une source d'UVB dans leur milieu naturel. De plus, ces rayonnements, associés à de la lumière naturelle ou un éclairage artificiel, facilitent la photoactivation nécessaire à la synthèse de calcidiol. De nombreux amphibiens préfèrent des conditions fraîches donc des lampes fluorescentes à UVB basses énergies sont à privilégier par rapport aux lampes UVB hautes températures (Verschooren *et al.*, 2011).

Les rayonnements UVB peuvent être apportés selon deux méthodes : soit une exposition à un niveau modéré (1 à 30 μW UVB/cm²) soit une exposition périodique à une forte concentration d'UV-B (UV/boost).

Certains zoos comme le Zoo britannique de Chester (North of England Zoological Society) et le Zoo de Rotterdam aux Pays-Bas ont utilisé un protocole d'application de cures d'UVB sur les *Dendrobates*. Tous les mois, les animaux étaient exposés à rayonnement de forte intensité (350 – 400 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$) pendant 20 min (Browne *et al.*, 2009).

Il faut éviter les lampes à UVB qui émettent de la chaleur et qui pourraient engendrer un chauffage excessif. Les ampoules fluorescentes, halogénées ou les lampes LEDs sont souvent recommandées (Pasmans et Martel, 2019b).

Les néons à ultraviolets sont des tubes fluorescents dont le spectre de lumière est total et donc proche de celui du soleil. Ils diffusent des infrarouges et des ultraviolets. Ils présentent l'avantage de peu chauffer et s'ils ne sont pas hors de prix, les supports et ballastes coûtent plus chers. Ils existent des tubes à spectre solaire de type Tube Lite, Vita Lite, dont l'index chromatique est de 91 % (Brogard, 1992) et Sun Glo®, mais aussi des tubes spécialisés pour les animaux comme ReptiSun®, Reptiglo® ou Life Glo® (Mouret, 2001).

Les spots à ultraviolets, qui sont des lampes à incandescence de 50 à 200 W (Zoo Med®) conviennent dans un terrarium de plusieurs dizaines de litres mais peuvent chauffer un peu. Elles seront donc utilisées quelques heures, en complément des autres systèmes pour mimer le moment le plus chaud de la journée. Les gros spots du type halogène, de 150 à 1000 W, émettent une lumière intense. Leur spectre est de qualité mais ils conviennent rarement car ils chauffent énormément. Ceci est problématique pour les amphibiens qui souffrent rapidement de dessiccation, voire de cataractes car ils

possèdent des yeux vulnérables à l'excès d'UVB. Elles ne sont donc pas recommandées dans des terrariums de taille standard. Cependant, les lampes à vapeur de mercure sont plus performantes que les lampes fluorescentes (Mouret, 2001 ; Ferrie *et al.*, 2014).

Les *Trachycephalus resinifictrix* sont des rainettes arboricoles. S'exposant sur les feuilles ou les branches durant la journée, elles sont moins soumises aux UVB en dessous de la canopée. Quant aux larves, elles sont probablement encore moins exposées à ce rayonnement en raison de leur croissance en milieu abrité. En conséquence, Browne *et al.* (2009) considèrent *Trachycephalus resinifictrix* comme une espèce ayant un besoin relatif en termes d'UVB.

Cependant, l'exposition des amphibiens aux UVB varie énormément d'une espèce à l'autre. Il est nécessaire de connaître les besoins en vitamine D₃ des espèces, ainsi que les différences d'exposition aux UVB des espèces vivant dans des micro-habitats similaires afin d'éviter les hypervitaminoses par supplémentation à l'aveugle (Browne *et al.*, 2009). L'absorption et la tolérance aux rayonnements UV est dépendante des espèces, et une exposition excessive peut provoquer des lésions rétinienne, une immunosuppression et engendrer des mutations (Tapley *et al.*, 2015).

Il y a peu d'études sur les radiations UV dans la nature et les besoins précis des amphibiens en termes d'UVB ou la fourniture d'un gradient de rayonnement adapté demeurent lacunaires et délicats à mettre en œuvre. Des lampes spéciales peuvent être utilisées pour émettre des UVB à une longueur d'onde appropriée pour permettre la synthèse de vitamine D₃. De nombreux zoos et aquariums proposent un accès libre à un gradient d'UVB à un niveau relativement bas à leurs amphibiens durant la photopériode. Une approximation de la quantité d'UVB à apporter peut-être réalisée en observant le comportement des individus sauvages, leurs bains de soleil notamment et en mesurant leurs index UV. Il est ensuite possible d'extrapoler cela aux individus en captivité en attribuant à leur comportement d'exposition au soleil, la quantité maximale d'UVB qu'ils sont susceptibles de recevoir selon le moment de la journée à laquelle ils s'exposent. Les apports en chaleur ou rayonnement infrarouge, lumière et UVB sont prodigués simultanément sous forme d'un gradient permettant une régulation par les animaux, sans oublier des zones de retraite non exposées aux radiations. Ils doivent aussi être apportés durant une durée appropriée. Il peut également être intéressant de reproduire des particularités rencontrées dans la nature, par exemple, les œufs et les larves de *Trachycephalus resinifictrix* se situent dans des cavités au sein dequelles ils sont moins exposés aux UVB réfléchis ou diffusés (Tapley *et al.*, 2015).

Des espèces de *Dendrobates* pourraient réguler leurs expositions aux UVB en modifiant leur comportement et les grenouilles *Rana temporaria* possèderaient une vision capable de détecter les rayonnements UVB de 280 nm (Browne *et al.*, 2009).

Au Zoo de Jersey, un néon Reptisun® 5.0 est utilisé pour l'éclairage, deux lampes halogénées de 250 W ainsi que deux projecteurs incandescents sont ajoutées au-dessus du terrarium.

Tous les adultes reçoivent tous les mois une cure en UVB : ils sont exposés sous une ampoule OSRAM® Ultra-Vitalux de 300 W pendant 20 minutes, la quantité d'UVB reçue par les animaux étant mesurée par un radiomètre (Solarmeter® 6 .2) placé au même niveau que les grenouilles (Tapley et Bradfield, 2008).

I. Hygiène et désinfection

La désinfection est essentielle afin de maintenir un environnement sain pour les amphibiens en réduisant la charge parasitaire, les infections comme le risque de transmission des maladies. On distingue le nettoyage, la désinfection et la stérilisation. Le nettoyage permet le retrait de toutes les substances organiques et autres déchets, et précède la désinfection et la stérilisation qui permettent respectivement la réduction voire l'élimination de la biomasse des microorganismes pathogènes.

Les méthodes de désinfection vont dépendre des besoins. En effet, les conditions d'hygiène recherchées diffèrent selon qu'il s'agisse d'un terrarium unique et isolé, d'un élevage ou d'une quarantaine. Les désinfectants choisis doivent être relativement sûrs, avoir un risque prédictif connu vis-à-vis des animaux ainsi que ne pas laisser de résidus toxiques. Ils doivent également être faciles à utiliser et actifs contre les agents pathogènes ciblés. Il est parfois nécessaire de combiner plusieurs désinfectants pour éliminer tous les micro-organismes visés. Une bonne hygiène est la clé d'une bonne santé des animaux.

Peu de désinfectants sont efficaces en présence de matière organique ; un nettoyage rigoureux avec un détergent doux suivi d'un rinçage abondant avec de l'eau chaude est nécessaire avant toute désinfection. Les liquides vaisselles sont efficaces car ils sont facilement rincés et généralement utiles pour dégraisser. Le nettoyage du matériel doit être réalisé dans un lieu distinct de celui utilisé pour la préparation de la nourriture et l'usage de gants est recommandé. L'emploi des désinfectants doit se faire en accord avec les consignes du fabricant, un produit trop dilué sera inefficace tandis qu'il peut se révéler toxique s'il est trop concentré, être difficile à rincer et revenir finalement plus cher (Pasmans et Martel, 2019b).

Tableau 15 : Ammoniaque et javel sont deux désinfectants couramment utilisés (Pasmans et Martel, 2019b).

Ammoniaque	Javel
Excellents désinfectants peu chers et facilement accessibles. Permettent d'éliminer la plupart des agents pathogènes habituels	
⚠ Ne pas mélanger ensemble : gaz toxiques !	
Peut être utilisé pur.	Doit être diluée à une concentration de 1 % à 5 %.
Doit être rincé avec de l'eau.	Doit être neutralisée avec l'ajout d'un déchlorinateur dans l'eau de rinçage ou laisser le matériel au soleil pour désactiver le chlore.

Des précautions particulières doivent être prises avec les désinfectants. Certains ne doivent pas être mélangés sous peine d'engendrer des gaz toxiques (Tableau 15). Certains plastiques et caoutchoucs peuvent retenir des résidus chimiques comme les désinfectants s'ils sont mal rincés, puis les relarguer dans l'environnement de l'animal par la suite. La tolérance aux biocides peut varier entre les individus. Par exemple, *Xenopus laevis* peut développer un érythème, des ulcérations cutanées ou mourir suite à l'usage d'une préparation chirurgicale cutanée à base de chlorhexidine solution 0,75 % tandis que l'usage de la povidone-iodé à 0,5 % est associée à des réactions minimales (Pasmans et Martel, 2019b).

Un temps de contact de 5 à 30 minutes minimum est nécessaire selon le produit utilisé et les microorganismes concernés. Certains désinfectants doivent être rincés pour éviter toute toxicité et/ou dommages au niveau des surfaces traitées, lesquelles doivent ensuite être laissées sécher à l'air libre (Pasmans et Martel, 2019b).

Les éléments ne pouvant pas être nettoyés de façon correcte, tel que le substrat, doivent être remplacés lorsqu'ils sont souillés. Les éléments poreux comme le bois ne peuvent être désinfectés et il est préférable de les remplacer (Pasmans et Martel, 2019b).

Il faut également du matériel dédié à chaque terrarium afin d'éviter les contaminations croisées (Kast et Nick, 2012).

Au Zoo de Jersey, les amphibiens sont inspectés visuellement tous les deux jours. Dans les installations hors exposition, l'eau des bassins est changée et les fèces retirés chaque jour. L'installation et toutes les fournitures sont brossées avec une brosse dédiée et de l'eau chaude, sans produits chimiques supplémentaires, deux fois par semaine. Pour les installations en exposition, les trous d'arbres artificiels ainsi que les broméliacées sont recouverts d'eau fraîche chaque semaine. Les fèces sont aussi retirées tous les jours, et les branchages sont renouvelés lorsque cela est nécessaire (Tapley et Bradfield, 2008).

Chapitre IV - Étude bibliographique des agents environnementaux et infectieux pouvant potentialiser ou favoriser l'apparition des lésions cutanées chez les anoues en captivité

La majorité des maladies retrouvées chez les amphibiens sont liées plus ou moins directement aux conditions d'élevage et de maintien en captivité, une attention particulière doit alors être portée à l'environnement des animaux ainsi qu'à son entretien. Les amphibiens se distinguent des autres animaux à la fois par leur physiologie, leur morphologie mais aussi médicalement. Leur histoire naturelle particulière ainsi que les connaissances encore fragmentaires concernant leurs maladies rendent ces dernières difficiles à diagnostiquer et à traiter. Le niveau de connaissances a toutefois bien progressé avec le succès grandissant de l'élevage en captivité des amphibiens dans un cadre pédagogique pour le grand public, en tant que animaux de compagnie et dans le cadre des programmes d'élevage pour les espèces menacées de disparition. Il y a également un intérêt grandissant de la part de la communauté scientifique vis-à-vis des populations sauvages face à des maladies émergentes telles que la chytridiomycose mais aussi du déclin mondial de certaines populations. Les affections retrouvées chez les individus captifs sont pour partie communes à celles rencontrées dans les biotopes naturels. De plus, les maladies des individus sauvages peuvent avoir un impact sur les colonies captives par le biais des prélèvements de terrain incluant œufs, larves ou adultes. Il faut donc être particulièrement attentif aux agents pathogènes et maladies pouvant être transférés dans les deux sens. De nombreuses maladies des amphibiens sont proches de celles identifiées chez les autres vertébrés ectothermes, avec dans certains cas, des transmissions interclasses (de poissons à amphibiens par exemple) reconnues. Cette possibilité constitue donc un élément épidémiologique important à prendre en considération dans la survenue des maladies chez les amphibiens et il est essentiel de ne pas ignorer le rôle potentiel des autres animaux dans la transmission de certaines infections (Densmore et Green, 2007).

I - Étude bibliographique des agents environnementaux pouvant potentialiser ou favoriser l'apparition de lésions cutanées chez les anoues

A. Lésions cutanées traumatiques et environnementales

1) Blessures cutanées

Les abrasions sont les lésions cutanées les plus fréquentes (Reavill, 2001 ; Pessier, 2002). Elles sont plus communément retrouvées au niveau du rostre et des pattes.

Les facteurs prédisposants incluent les manipulations brutales, avec des mains non gantées ou des gants secs, un substrat ou des matériaux rugueux ou des interactions antagonistes entre les individus (Reavill, 2001 ; Pessier, 2002).

Les abrasions rostrales au niveau du nez sont souvent observées après un transport, mais aussi sur des animaux vivant dans des containers transparents (Figure 66). En effet, les individus nerveux peuvent se blesser en se heurtant de manière répétée aux parois. Des blessures profondes ou des lacérations peuvent être associées à des abrasions et des morsures par les proies vivantes (Reavill, 2001 ; Pessier, 2002).

Le traitement des abrasions rostrales doit être entrepris au plus tôt en raison du peu de tissu mou recouvrant l'os dans cette région. La guérison est particulièrement lente et une décoloration permanente est possible (Wright, 2001e).

Le traitement d'une simple abrasion peut se limiter à une simple surveillance de la guérison spontanée mais peut se compliquer par une infection bactérienne ou fongique secondaire. Un suivi de la taille de la lésion avec un vernier est par contre recommandé. Si celle-ci s'accroît dans les 24-48 h, elle peut être débridée en appliquant délicatement un coton tige sec en tournant, mais sans frotter, pour ne pas créer davantage de dommages et empêcher la ré-épithélialisation. Des solutions salines (solution ophtalmique hyperosmotique par exemple) peuvent être appliquées sur la peau une à trois fois par jour, en dehors du terrarium de vie de l'animal pour éviter toute intoxication au sel, et rincée à l'eau claire après 10-15 min. En cas d'irritation suite à ce traitement, il est préférable d'avoir recours à des pommades ou solutions antibiotiques. Des gouttes oculaires à base de gentamicine peuvent être utilisées en commençant par une application d'une à deux gouttes par jour sur la lésion. De la crème à base de sulfadiazine argentique peut aussi être utilisée. La guérison d'une abrasion rostrale intervient en 5 à 14 jours, mais la récupération d'un épithélium normal peut être beaucoup plus longue (Diana *et al.*, 2001).

Les abrasions chroniques nécessitent une prise en charge plus agressive. Une cytologie et une bactériologie de la lésion doivent être réalisés. Un raclage cutané des bords de lésion est également recommandé pour mettre en évidence d'éventuels agents pathogènes dans les tissus sous-cutanés. Un débridement quotidien avec un coton tige est recommandé. Des antibiotiques topiques doivent être appliqués trois à quatre fois par jour, associés si besoin à des antifongiques (miconazole ou kétoconazole) deux à trois fois par jour. La crème de sulfadiazine argentique est particulièrement intéressante en première intention en raison de son spectre large contre les bactéries à Gram négatif et les champignons (Diana *et al.*, 2001).

Les plaies étendues et compliquées seront débridées et abondamment rincées avec des fluides stériles sans ajout d'antiseptiques. Dans le cas d'une lacération, une hémostase par pression doit être réalisée et suffit généralement. Une supplémentation hydrique parentérale s'avère nécessaire en cas d'hémorragie sévère. Les lésions peuvent être refermées avec des fils de sutures ou de la colle à base de cyanoacrylate, et une recherche bactériologique par mise en culture des tissus est recommandée. Une antibiothérapie systémique peut être entreprise pour les blessures étendues ou celles qui ne guérissent pas (Diana *et al.*, 2001 ; Reavill, 2001 ; Pessier, 2002).

Les facteurs contribuant aux blessures cutanées doivent être recherchés et éliminés (Reavill, 2001 ; Pessier, 2002). La prévention des lésions traumatiques, en particulier rostrale, peut être assurée en couvrant les parois transparentes avec un matériel opaque jusqu'à ce que l'animal s'habitue à son terrarium, et en installant le terrarium dans une pièce calme avec peu d'agitation (Hunt, 2019). Du papier bulle peut par exemple être utilisé pour couvrir les zones responsables du traumatisme comme les couvercles grillagés (Wright, 2001e).

Figure 66 : Abrasion rostrale chez *Agalychnis callidryas* (Whitaker et Wright, 2019).



2) Qualité de l'eau et irritants chimiques

Une grande variété de produits chimiques peut causer des lésions primaires ou contribuer au développement d'infections bactériennes ou fongiques secondaires sur la peau si particulière des amphibiens. Les désinfectants, les détergents, l'excès de chlore ou de chloramine, les pH trop acide ou basique, un taux d'ammoniaque élevé, les bacs où s'accumulent en excès des déchets organiques ou sans système de filtration biologique représentent les sources d'irritations les plus courantes (Pessier, 2002).

Les signes cliniques associés à une exposition à des produits chimiques sont non spécifiques et peuvent inclure une hypersécrétion de mucus, un érythème cutané, des pétéchies, des ulcérations et des changements posturaux et comportementaux visant à éviter ou fuir le substrat contaminé (Pessier, 2002).

Les problèmes de qualité de l'eau peuvent être rapidement résolus en réalisant une analyse d'eau sur un échantillon prélevé dans le terrarium de l'animal infecté avec un kit de test rapide disponible pour les aquariums (mesures du pH, chlore/chloramines, ammoniaque, nitrites/nitrates). Le diagnostic d'autres irritants chimiques peut nécessiter une investigation attentive du terrarium, y compris des composants et des matériaux constituant ce dernier (Pessier, 2002).

Le traitement repose sur le transfert des animaux infectés vers un environnement non contaminé et une correction du problème initial. Une sursaturation en gaz ou la maladie des bulles de gaz peuvent induire la formation de bulles gazeuses sous-cutanées, une hyperhémie, une hémorragie et des érosions chez des amphibiens aquatiques comme le xénope. La prise en charge repose sur l'identification des facteurs entraînant l'augmentation des gaz présents dans l'eau au-dessus du niveau de saturation en lien avec le système de distribution (Pessier, 2002).

II - Agents bactériens pouvant potentialiser ou favoriser l'apparition de lésions cutanées chez les anoues

Les infections bactériennes font généralement suite à des traumatismes survenant dans des conditions de captivité insalubres ou peuvent advenir à la faveur de surinfections de lésions cutanées d'origine virales ou mycosiques comme la saprolégniose et la chytridiomycose. Comme chez la plupart des animaux ectothermes, la majorité des bactéries pathogènes affectant les amphibiens sont à Gram négatif, mais des germes à Gram positif peuvent aussi être à l'origine de maladie. Les chercheurs ont isolé de nombreuses espèces bactériennes susceptibles d'être à l'origine de maladies constatées sur des animaux malades ou décédés, cependant, rares sont les étiologies bactériennes étayées par le respect des postulats de Koch. En effet, les surinfections bactériennes sont fréquemment associées à d'autres processus pathologiques, et il est souvent difficile de faire la part des choses entre les bactéries pathogènes causales et la flore bactérienne *post mortem* (Densmore et Green, 2007).

A. « Red Leg Syndrome »

1) Épidémiologie

Les manifestations de sepsis sont souvent regroupées sous l'appellation de « pattes rouges » ou « Red Leg » qui représentent un des signes cliniques les plus communs chez les amphibiens. Il s'agit probablement de la maladie la plus sur-diagnostiquée tant chez les amphibiens sauvages que captifs. Elle était autrefois synonyme d'infection à *Aeromonas hydrophila*, mais ce syndrome inclut désormais des infections par d'autres bactéries dont une grande variété de bactéries à Gram négatif telles que *Aeromonas* spp., *Pseudomonas* spp., *Acinobacter lwoffii*, *Chryseobacterium* spp., des entérobactéries comme *Citrobacter freundii*, *Proteus*, *Salmonella*, mais parfois aussi des bactéries à Gram positif,

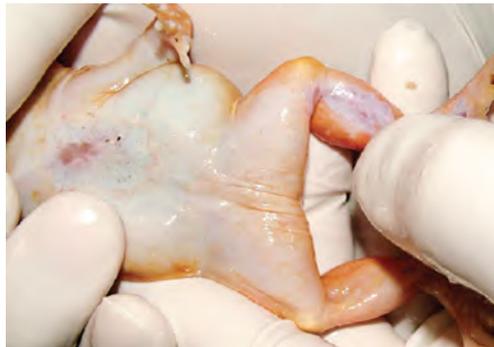
comme *Streptococcus* et *Staphylococcus* quand un isolement a été possible. La maladie des pattes rouges est cosmopolite et affecte de nombreuses espèces d'anoures captifs comme sauvages, depuis plus de cent ans maintenant. Cependant, les rapports datant des années 1990 ou antérieurs doivent être considérées avec précaution car les cultures virales et fongiques étaient rarement entreprises et de nombreux diagnostics d'infections n'étaient pas confirmés par des analyses histopathologiques. D'autres agents pathogènes peuvent provoquer des signes cliniques similaires comme les *Ranavirus* ou *Batrachochytrium dendrobatidis* (Pessier, 2002 ; Densmore et Green, 2007).

2) Signes cliniques et lésions

Les signes cliniques associés au Red Leg Syndrome sont une hyperhémie cutanée, en particulier au niveau de l'abdomen, de la face ventrale des cuisses et des extrémités, causée par une vasodilatation et une congestion des vaisseaux (Figure 67), pouvant évoluer vers des pétéchies ou des ecchymoses quelques heures avant la mort. Whitaker et Wright (2019) évoquent une comparaison avec la coagulopathie intravasculaire disséminée (CIVD) retrouvée chez les mammifères. En effet, les ecchymoses apparaissent juste avant ou pendant les convulsions agoniques.

On peut également observer une anorexie, à la présence d'érosions cutanées et d'ulcérations, des épanchements coelomiques, un œdème généralisé ou localisé aux extrémités ou au niveau des sacs lymphatiques, juste avant l'apparition des convulsions agoniques et la mort. Une mort subite, a- ou paucisymptomatique est également possible (Densmore et Green, 2007 ; Whitaker et Wright, 2019).

Figure 67 : Érythème ventral évocateur d'un « Red Leg Syndrome » chez un anoure (Whitaker et Wright, 2019).



La phase clinique peut être brève avec une mortalité importante. Les maladies bactériennes primaires sont rares chez les amphibiens mais elles peuvent être déclenchées par une immunosuppression, une altération des défenses non spécifiques de l'hôte ou suite à l'exposition à une charge bactérienne excessive. Ce genre de situation est retrouvé suite à des transports, dans des cas de surpopulation, d'une mauvaise qualité de l'eau, dans des environnements très contaminés où s'accumulent des déchets organiques en quantité, ou lors de blessures cutanées. La septicémie peut résulter d'autres maladies infectieuses mettant en jeu la peau comme la saprolégniose, la capillarite cutanée chez les xénopes et la chytridiomycose (Pessier, 2002).

3) Diagnostic

Un diagnostic de septicémie basé sur les signes cutanés uniquement n'est pas spécifique car le diagnostic différentiel de l'hyperhémie cutanée chez les amphibiens est large, et inclut un grand nombre de maladies bactériennes, fongiques et virales comme non infectieuses (Annexe 5). Les lésions cutanées associées à la chlamydophilose, l'infection systémique par *Iridovirus* et la chytridiomycose par exemple sont très similaires à celles décrites dans le cadre du « Red Leg Syndrome ». De plus, une hyperhémie pathologique est parfois associée à un contact avec des substrats chauffés ou à la manipulation.

En général, le diagnostic de certitude n'est possible que sur animal mort, après examen histologique avec mise en évidence d'une septicémie corrélée aux résultats de la culture bactérienne sur les fluides sous-cutanés ou coelomiques, du sang cardiaque ou des organes viscéraux. Chez les animaux vivants il est possible de réaliser une culture des lésions cutanées et des fluides sous-cutanés pour orienter les choix thérapeutiques (Pessier, 2002).

L'infestation bactérienne *post mortem* des organes est fréquente chez les vertébrés aquatiques, dont les amphibiens, et elle intervient bien plus rapidement que chez les vertébrés terrestres endothermes. Le simple isolement d'*Aeromonas* spp. ou d'autres bactéries communément impliquées n'a donc pas de réelle valeur diagnostique car ce sont des micro-organismes fréquemment retrouvés dans les environnements aquatiques. De plus, *Aeromonas hydrophila* et d'autres organismes sont souvent retrouvés à la fois chez des animaux cliniquement sains ou infectés par *Iridovirus*.

Ainsi, le diagnostic du « Red Leg Syndrome » n'est pas fiable lorsqu'il est seulement basé sur la culture de bactéries à partir des tissus de batraciens morts depuis plus de 1 à 3 h avant l'autopsie, d'où un surdiagnostic vraisemblable du « Red Leg Syndrome » parmi les populations d'amphibiens par le passé. La nature ubiquitaire de nombreuses bactéries pathogènes susceptibles d'être associées au « Red Leg Syndrome », ainsi que leur isolement fréquent au sein du tractus digestif apparemment sain chez des amphibiens captifs et sauvages compliquent singulièrement le diagnostic fondé uniquement sur la bactériologie. Il importe donc d'associer des analyses macroscopique et histopathologique des lésions, ainsi qu'une culture microbiologique sur le sang et les organes des animaux décédés afin d'obtenir un diagnostic plus précis (Densmore et Green, 2007). Whitaker et Wright (2019) recommandent également une culture sur les congénères asymptomatiques du terrarium afin de prévenir une éventuelle épizootie.

4) Traitement

Une identification de l'agent étiologique et la réalisation d'un antibiogramme sont préconisées en amont du traitement.

Le traitement des animaux suspects de septicémie doit inclure une thérapie de support par balnéation dans un fluide isotonique comme le Ringer Lactate pour amphibiens (Annexe 6) ou du NaCl 0,6-0,8 %, et pouvant être complété avec une solution hypertonique en cas d'œdème ou d'ascite. Une antibiothérapie ciblant les bactéries à Gram négatif est nécessaire et de nombreux protocoles existent (Tableau 16). En général, une antibiothérapie large spectre convient, et il est recommandé de l'associer à un traitement antifongique afin de traiter une éventuelle infection à *Batrachochytrium dendrobatidis* et d'éviter des surinfections opportunistes. Les causes d'échec dépendent de l'agent causal, de la chronicité de la maladie, et de la présence d'autres agents pathogènes primaires (Pessier, 2002 ; Densmore et Green, 2007 ; Whitaker et Wright, 2019).

Tableau 16 : Traitements recommandés lors de « Red Leg Syndrome » (Pessier, 2002 ; Whitaker et Wright, 2019).

Molécules	Dose et voies d'administration	Fréquence
Amikacine + Itraconazole	5-10 mg/kg par voie intramusculaire ou intracœlomique.	Toutes les 48 h
	Solution 0,01 % par balnéation pendant 10 min.	Toutes les 24 h
Amikacine + Piperacilline	5 mg/kg par voie intramusculaire.	Toutes les 48 h
	100 mg/kg par voie intramusculaire ou sous-cutanée.	Toutes les 24 h
Enrofloxacin	5-10 mg/kg par voie orale, sous-cutanée, intramusculaire ou intracœlomique.	Toutes les 24 h
Ciprofloxacine (traitement collectif)	500-750 mg de ciprofloxacine pour 75 L d'eau en balnéation.	À renouveler toutes les 6-8 h

Dans tous les cas, au sein d'une population en captivité, une révision des conditions d'élevage ou l'élimination des facteurs favorisant le stress, les lésions auto-infligées ainsi qu'une évaluation des conditions d'hygiène et environnementales doivent être réalisées (Pessier, 2002 ; Densmore et Green, 2007).

B. Flavobactériose

1) Épidémiologie

De nombreux rapports d'infections par des bactéries du genre *Flavobacterium* sont retrouvées dans la littérature scientifique chez les amphibiens sauvages comme captifs, dont les anoues. Les flavobactéries sont des bactéries à Gram négatif produisant des pigments jaunes, pathogènes pour les vertébrés inférieurs et largement présentes dans les environnements aquatiques (Densmore et Green, 2007).

2) Signes cliniques et lésions

Les signes cliniques et les lésions macroscopiques sont peu spécifiques. On retrouve un hydrocoelome, des œdèmes linguaux, cornéens ou sous-cutanés, une panophtalmie, des pétéchies, une congestion viscérale, une perte de poids, une ataxie et une détresse respiratoire. Il ne s'agit pas d'une maladie cutanée à proprement parlé mais la présentation clinique de la flavobactériose est proche de celle du « Red Leg Syndrome ». De plus, Hayes *et al.* (2006) avait associé la méningite à flavobactérie avec une immunosuppression en lien avec une exposition aux pesticides. La mortalité causée par la flavobactériose chez les anoues en captivité semble être assez importante. Les espèces pathogènes chez les amphibiens sont *Flavobacterium oderans*, *F. indologenes* et *F. meningosepticum* (Taylor *et al.*, 2001 ; Densmore et Green, 2007).

3) Diagnostic

Le diagnostic est réalisé sur la base de la culture bactérienne et d'analyses moléculaires par PCR (Densmore et Green, 2007).

4) Traitement

Hadfield et Whitaker (2005) ont rapporté obtenir les meilleurs résultats avec une antibiothérapie basée sur un antibiogramme réalisé sur une culture bactérienne *ante-mortem* (Densmore et Green, 2007).

C. Chlamydiose

1) Épidémiologie

Chlamydia sp. est un coque à Gram négatif intracellulaire obligatoire. Les espèces les plus fréquemment identifiées sont *Chlamydia psittaci* et *C. pneumoniae*.

Les infections systémiques à *Chlamydia psittaci* et *Chlamydia pneumoniae* sont connues chez les anoues sauvages et captifs, notamment chez *Xenopus sp.*, *Ceratobatrachus guentheri*, *Mixophyes iteratus* et *Rana temporaria* ; et des infections subcliniques à *Chlamydia suis* et *C. abortus* ont par ailleurs été décrites chez *Rana temporaria* et *Xenopus laevis* (Pessier, 2002 ; Densmore et Green, 2007).

2) Signes cliniques et lésions

Les signes cutanés ne sont pas toujours présents mais lorsqu'ils le sont, se manifestent par des zones de dépigmentation, des pétéchies, des ulcères, un hydrocoelome, un œdème sous-cutané, de l'abatement et une desquamation. Berger *et al.* (1999) décrivent aussi une association avec une pneumonie interstitielle (Pessier, 2002 ; Densmore et Green, 2007).

3) Diagnostic

La distinction clinique entre le Red Leg Syndrome, la ranavirose et la chlamyphilose n'est pas évidente rendant nécessaire le recours à l'autopsie et à l'histopathologie pour révéler la présence d'une inflammation granulomateuse disséminée avec des inclusions basophiles intracytoplasmiques caractéristiques, en particulier dans le foie. Des lésions inflammatoires granulomateuses peuvent aussi être retrouvées dans la rate, l'interstitium pulmonaire, le cœur et les mésonéphrons (Pessier, 2002 ; Densmore et Green, 2007).

Le diagnostic peut être confirmé par une culture ou des techniques immunologiques (immunohistologique, immunofluorescence), de microscopie électronique et moléculaires (PCR). Les anomalies histologiques sont cependant pratiquement absentes chez les individus affectés de manière subclinique (Pessier, 2002 ; Densmore et Green, 2007).

4) Traitement

Le traitement consiste en l'administration de tétracyclines (Tableau 17).

Tableau 17 : Traitement antibiotique recommandé lors d'une infection à *Chlamydia* sp. (Taylor *et al.*, 2001; Whitaker et Wright, 2019).

Doxycycline	5-10 mg/kg par voie orale toutes les 12 à 24 h
	50-100 mg/kg par voie intramusculaire toutes les 48 h
Oxytétracycline	50 mg/kg par voie orale toutes les 24 h
	Ou 100 mg/L en balnéation pendant 1 h toutes les 24 h
Tétracyclines	50 mg/kg par voie orale toutes les 12 h

D. Mycobactériose

1) Épidémiologie et caractéristiques

Les maladies associées à des mycobactéries non tuberculeuses ont été décrites chez de nombreux amphibiens. Elles sont causées par les bactéries du genre *Mycobacterium* petits bacilles à Gram positif acido-résistants. Les mycobactéries sont présentes dans l'environnement et sont considérées comme des agents pathogènes opportunistes. De nombreuses espèces ubiquitaires sont pathogènes et peuvent potentiellement infecter ou être à l'origine de maladies chez toutes les classes de vertébrés. Les mycobactérioses sont relativement fréquentes chez les vertébrés non mammaliens, notamment chez les espèces aquatiques en captivité. Les germes en cause sont fréquemment isolés chez les anoues adultes. On retrouve notamment *Mycobacterium marinum*, *M. fortuitum*, *M. xenopi*, *M. abscessus*, *M. szulgai*, *M. avium* et *M. chelonae*, *M. ranae*, *M. liflandii*, *M. ulcerans*. L'infection résulte d'une inoculation d'un germe environnemental dans une plaie cutanée avec une dissémination viscérale subséquente et une formation de granulomes dans de nombreux cas (Pessier, 2002 ; Densmore et Green, 2007 ; Whitaker et Wright, 2019).

2) Signes cliniques et lésions

La mycobactériose est généralement une maladie chronique d'évolution lente qui peut présenter un large éventail de signes cliniques et de lésions. Les lésions primaires peuvent être subtiles voire

inapparentes, et les signes cliniques ne se manifestent généralement pas avant que la maladie ne devienne systémique. Les lésions cutanées consistent en la présence d'un unique ou de multiples nodules de tailles variables – les granulomes – qui peuvent s'ulcérer. Il est possible de retrouver des abcès ou des cellulites localisés seuls, ou associés aux granulomes. Les lésions sont souvent observées au niveau des zones exposées aux traumatismes comme les membres et la bouche. Elles touchent également le foie, la rate, les intestins et les mésonéphros. Des signes cliniques généraux comme la léthargie, un mauvais état général, un abattement, du jetage nasal mucopurulent et du ptyalisme sont également observés (Pessier, 2002 ; Densmore et Green, 2007).

3) Diagnostic

Une mycobactériose doit être suspectée pour tout nodule (Annexes 7 et 8) pyogranulomateux, granulomateux, histocytaire, lymphocytaire ou caséeux retrouvé sur tout organe, dont la peau, et ulcérations présentes (Densmore et Green, 2007). En absence de signes cutanés, une endoscopie exploratrice permet la mise en évidence des granulomes au niveau des organes (Whitaker et Wright, 2019).

Une ponction ou des calques de l'exsudat ou des nodules, associées à une coloration adaptée aux bactéries acido-résistantes permet d'orienter le diagnostic. Un diagnostic présomptif peut aussi être effectué par histopathologie sur prélèvement chirurgical de lésions ou sur échantillon lésionnel prélevé à l'occasion d'une autopsie.

Le diagnostic de certitude nécessite une culture des mycobactéries qui n'est pas toujours réalisable car elles sont difficiles à cultiver et poussent également très lentement. Les auteurs recommandent des cultures sur milieux Lowenstein-Jenson ou Middlebrook à 23, 30 et 37°C. L'amplification moléculaire par PCR permet de confirmer l'hypothèse et reste probablement la méthode la plus fiable et la plus rapide (Pessier, 2002 ; Densmore et Green, 2007)

4) Traitement

Aucun traitement spécifique n'a été décrit. La gestion d'un épisode de mycobactériose repose sur une dépopulation, une désinfection du terrarium et une identification des facteurs de risque (Pessier, 2002 ; Densmore et Green, 2007). De plus, en raison du potentiel zoonotique de certaines espèces et la forte contagiosité entre les individus, l'euthanasie est recommandée (Whitaker et Wright, 2019).

5) Impact sur l'homme

De nombreuses espèces sont zoonotiques ; des précautions doivent donc être prises lors de la manipulation des individus malades, notamment si le manipulateur est immunodéprimé ou présente des plaies cutanées ouvertes (Densmore et Green, 2007).

E. Infections bactériennes diverses

Les infections bactériennes localisées et les abcès peuvent être observés suite à des traumatismes cutanés ou des procédures médicales comme une implantation de micropuce.

Le traitement repose sur le drainage de l'exsudat, un nettoyage et un rinçage abondant de la cavité, combinés à une antibiothérapie topique et systémique. Une cytologie de l'exsudat, associée à une coloration de Gram et de Ziehl-Neelsen, ainsi qu'une culture bactérienne sont recommandées (Pessier, 2002).

Une autre entité pathologie dénommée le syndrome de décoloration épidermique peut aussi avoir une composante bactérienne, et se caractérise par la présence de plaques de pigmentation grises, marrons

ou noires apparaissant progressivement et pouvant régresser suite à une antibiothérapie (Pessier, 2002).

III - Champignons et organismes apparentés pouvant potentialiser ou favoriser l'apparition de lésions cutanées chez les anoues

Les champignons et apparentés sont des agents pathogènes relativement communs des vertébrés non mammaliens, notamment dans les environnements aquatiques. Ils sont ubiquitaires dans la nature et touchent les individus stressés, blessés et immunodéprimés. Certains champignons sont retrouvés à l'occasion d'infections secondaires ou en tant qu'agents opportunistes, mais d'autres sont à l'origine de graves infections primaires.

En général, à l'exception de la chytridiomycose, les infections fongiques sont rarement rencontrées en captivité si les conditions d'élevage sont bien maîtrisées (Whitaker et Wright, 2019).

A. Saprolognie

1) Épidémiologie

La saprolognie est un terme général qui regroupe les infections dues aux oomycètes aquatiques comme *Saprolegnia*, *Aphanomyces* et *Achlya*. Les oomycètes sont partout présents dans l'environnement aquatique et sont des microorganismes opportunistes associés aux plaies cutanées. Certains facteurs peuvent favoriser le développement des lésions comme une température environnementale faible, une charge infectieuse élevée et une qualité de l'eau dégradée (Pessier, 2002).

2) Signes cliniques et lésions

La saprolognie est courante chez les amphibiens aquatiques et se caractérise par la présence de placards blanchâtres cotonneux sur des érosions cutanées ou des ulcères. Ces lésions sont plus faciles à mettre en évidence lorsque l'animal est immergé. En dehors de l'eau, elles sont caractérisées par des plaques plus ou moins blanchâtres présentant une surface granuleuse. La couche de mycélium est facilement détachable, dévoilant une peau érythémateuse ou encore des érosions ou ulcères sous-jacents. Les plaies peuvent être présentes partout sur la peau, mais elles sont le plus souvent retrouvées au niveau de la queue, des membres pelviens, des branchies et de la cavité orale sans atteinte systémique des têtards ou des larves. Une mortalité chronique limitée mais persistante est la présentation la plus commune de la maladie généralement associée à une cause sous-jacente comme un traumatisme ou un agent infectieux. Une extension des hyphes de la peau vers la cavité coelomique est possible. Elle peut également être responsable d'une forte mortalité au niveau des œufs des amphibiens. Cependant, les œufs étant souvent envahis *post mortem* par les moisissures, il demeure difficile de savoir si ces organismes ont été réellement responsables de la mortalité constatée (Pessier, 2002 ; Densmore et Green, 2007).

3) Diagnostic

Le diagnostic se fait par la reconnaissance macroscopique des lésions, combinée avec un examen cytologique. Les champignons arborent une teinte blanche à grise mais peuvent prendre une coloration variable selon l'hôte, la durée de l'infection, l'espèce de moisissure ainsi que la qualité de l'eau (notamment le type de particules en suspension dans l'eau). Les hyphes, non septées, des oomycètes sont de largeur importante et variable. La culture mycologique est possible mais rarement réalisée chez les amphibiens et n'est pas nécessaire en routine. À l'histologie, les hyphes et les zoospores sont visibles dans les lésions mais se colorent mal avec les colorations classiques (acide périodique Schiff, hématoxyline-éosine). La saprolognie est rarement associée à une réponse inflammatoire, ce qui

peut compliquer le diagnostic nécropsique car les oomycètes colonisent rapidement les amphibiens morts. On peut observer des lésions caractéristiques d'érosion, d'ulcération, de nécrose et d'œdème selon la sévérité de l'affection. La différenciation des lésions *post versus ante mortem* dépend de l'historique des lésions cutanées ou de la présence d'un autre marqueur histologique d'une invasion tissulaire du vivant de l'hôte tel que la nécrose (Pessier, 2002 ; Densmore et Green, 2007).

4) Traitement

Plusieurs traitements ont été décrits à base de bains d'eau de mer, de chlorure de benzalkonium ou encore de bleu de méthylène, de permanganate de potassium ou de vert de malachite (Annexe 9) ; ils permettent généralement la résolution de la saprolégniose même en l'absence d'identification de l'agent étiologique (Taylor, 2001).

Les oomycètes ne sont pas des champignons vrais donc des traitements antifongiques spécifiques à base d'itraconazole ou de fluconazole peuvent se révéler inutiles. Pour les animaux sévèrement atteints, une thérapie de soutien avec des fluides isotoniques et une antibiothérapie systémique pour lutter contre les infections bactériennes secondaires sont indiquées. Une augmentation de la température ambiante au-dessus de 20°C constitue une mesure adjuvante intéressante. Une analyse de la conduite d'élevage, des paramètres de la qualité de l'eau (notamment du pH et de l'ammoniaque), des sources de plaies cutanées et une correction des facteurs pouvant accroître la susceptibilité des animaux aux infections est indispensable (Pessier, 2002).

B. Chytridiomycose

1) Épidémiologie

Batrachochytrium dendrobatidis est l'agent pathogène le plus important et le mieux décrit chez les amphibiens.

La chytridiomycose est impliquée dans le déclin de certaines populations d'amphibiens captifs et sauvages dans le monde entier. Les chytridiomycètes sont des champignons ubiquitaires, kératinophiles ou chitinophiles, retrouvés dans les environnements humides et aqueux sous forme de zoospores. De nombreux genres et espèces de chytridiomycètes sont des agents pathogènes de plantes, protistes et d'invertébrés mais *Batrachochytrium dendrobatidis* est le premier chytridiomycète décrit comme apte à infecter les vertébrés. La première description de la chytridiomycose a été réalisée chez des populations sauvages d'amphibiens en Australie et en Amérique centrale dans les années 1990. Des études rétrospectives ont identifié ce chytridiomycète chez des amphibiens d'autres continents dès les années 1930 (Densmore et Green, 2007). Plus récemment, une seconde espèce, *Batrachochytrium salamandrivorans*, a été mise en évidence et a causé des ravages dans les populations de *Salamandra salamandra* aux Pays-Bas (Martel et al., 2013; Whitaker et Wright, 2019).

De nombreuses espèces d'amphibiens sont sensibles à la chytridiomycose, dont certaines grenouilles et les crapauds. Cependant, l'impact de la maladie semble plus important chez les anoures métamorphosés que chez les larves. Chez les anoures, les têtards sont souvent infectés de manière subclinique. Les facteurs spécifiques prédisposant à l'infection n'ont pas encore été identifiés (Pessier, 2002 ; Densmore et Green, 2007).

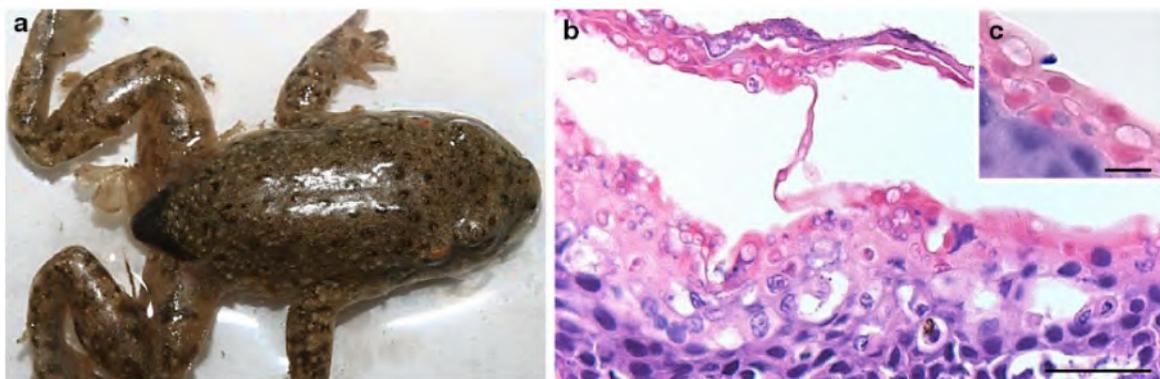
2) Signes cliniques et lésions

L'infection par *Batrachochytrium dendrobatidis* est limitée à la peau et se traduit par des degrés variables d'hyperplasie du derme et une hyperkératose fréquente. Les infections bactériennes et fongiques secondaires sont extrêmement communes lors de chytridiomycose car les organismes environnementaux se retrouvent piégés parmi les couches superficielles de kératine produites en excès.

La mort des animaux infectés est causée par la perturbation homéostatique cutanée qui s'ensuit ou par la production de mycotoxines. La transmission est assurée par les zoospores flagellés qui nécessitent un environnement aquatique ou humide pour se déplacer ou par contact direct avec des animaux infectés (Pessier, 2002 ; Densmore et Green, 2007).

Le tableau clinique est très large allant de la mort subite sans signes cliniques préalables à des manifestations dermatologiques. Des infections subcliniques sont possibles chez certaines espèces et dans certaines circonstances. Quand ils sont présents, les signes cliniques de la chytridiomycose incluent une desquamation excessive, une hyperhémie cutanée, ou une décoloration de la peau, en particulier au niveau ventral, sur les pattes et les doigts. La décoloration est généralement marronâtre, mais peut aussi être rougeâtre, notamment lors d'infections secondaires et mimer ainsi un « Red Leg Syndrome ». La desquamation présente lors de chytridiomycose ne doit pas être confondue avec la mue d'une peau normale, qui implique des pans cutanés assez larges, souvent translucides ou blancs (Figure 68). Les signes cliniques non cutanés comprennent des changements posturaux avec des animaux qui semblent éviter le substrat, qui évitent ou privilégient les points d'eau, une anorexie, un abattement, une déshydratation, une dysectasie et rarement, des signes neurologiques avec une posture anormale, une perte d'équilibre et des comportements anormaux (Pessier, 2002 ; Densmore et Green, 2007).

Figure 68 : Signes cliniques et histopathologiques associées à une infection par *Batrachochytrium dendrobatidis* chez *Alytes obstetricans* (Van Rooij *et al.*, 2015).
Échelle = 10 µm.



a) Un alyte accoucheur (*Alytes obstetricans*) infecté par *Batrachochytrium dendrobatidis* et présentant une posture anormale avec les membres pelviens en abduction, ainsi qu'une dysectasie.

b) Coupe histologique transversale de la peau au niveau du patch pelvien du même individu montrant une hyperkératose diffuse associée à une hyperplasie des cellules épithéliales. On observe de multiples zoospores à des stades de maturation divers.

c) Vue rapprochée sur des zoospores intracellulaires septées.

Au niveau des lésions, on peut retrouver une hyperkératose associée à une dysectasie (Figure 68) ; les infections secondaires bactériennes ou fongiques provoquent également des ulcères, des pétéchies, des ecchymoses sur la peau et une congestion des viscères. La mortalité peut être importante, les signes cliniques précédant le décès sont présents de manière variable et des infections cutanées secondaires peuvent compliquer le diagnostic (Pessier, 2002 ; Densmore et Green, 2007).

Au niveau histologique, les infections à *Batrachochytrium dendrobatidis* sont limitées aux cellules kératinisées de la peau et du disque oral, et les zoospores peuvent parfois être retrouvées dans les lambeaux de mues ingérés présents dans la lumière de l'estomac des individus métamorphosés. Les infections aiguës à *Batrachochytrium dendrobatidis* se traduisent par la formation de sporocystes uniques

éparpillés ou des petits foyers de sporocystes au sein du cytoplasme des cellules hôtes du *stratum corneum*. Au départ, il n'y a pas de réaction inflammatoire de l'hôte. Dans les infections subaiguës ou avancées, on retrouve un nombre massif de sporocystes sphériques à ovoïdes dans les multiples couches d'épiderme en desquamation (Figure 68). Une acanthose peut aussi être observée, le nombre de couches cellulaires dans l'épiderme passe alors de trois à cinq couches puis à plus de huit voire quinze couches cellulaires (en prenant en compte les couches de cellules desquamées non éliminées du *stratum corneum*). La plupart des sporocystes apparaissent optiquement vides mais certains contiennent du matériel basophile dans leurs noyaux et d'autres de multiples zoospores relativement sphériques basophiles. *Batrachochytrium dendrobatidis* ne forme pas d'hyphes mais des infections secondaires de l'épiderme par des oomycètes ou autres champignons supérieurs peuvent survenir et certains sporocystes ayant relargué des zoospores peuvent alors être secondairement colonisés par les bactéries. Les sporocystes de chytridiomycètes possèdent une paroi acido-résistante mais fixent bien la coloration argentique (Pessier, 2002 ; Densmore et Green, 2007).

3) Diagnostic

Le diagnostic de la chytridiomycose repose sur une mise en évidence de sporocystes sphériques de 7 à 15 µm en position intracytoplasmique dans des kératinocytes par cytologie ou histologie. Les prélèvements pour la cytologie peuvent être réalisés en récupérant des squames cutanées ou en réalisant un raclage puis en séchant les fragments obtenus sur une lame qui sera colorée avec une coloration de routine de type Diff-Quik pour établir un diagnostic de présomption. Les lésions sont généralement ventrales et sur les membres en partie distale ; les prélèvements devront donc privilégier ces zones pour l'histopathologie.

La culture de *Batrachochytrium* nécessite des techniques spéciales et ne peut être réalisée avec des méthodes mycologiques de routine. La PCR est largement disponible aujourd'hui, rapide et spécifique mais l'interprétation d'un résultat positif obtenu sur un raclage cutané provenant d'individus sauvages ou vivant en groupes doit se faire avec précaution : la présence de l'agent pathogène peut être confirmée sans qu'il soit responsable d'une infection (Pessier, 2002 ; Densmore et Green, 2007).

4) Traitement

Un traitement reposant sur des bains quotidiens de 5 min dans une solution d'itraconazole à 0,01 % pendant 11 jours a permis de guérir des *Dendrobates* ayant été infectées expérimentalement. Cette solution a été obtenue en diluant une solution commerciale à 10 mg/ml dans une solution saline à 0,6 %. Densmore et Green (2007) a également signalé une bonne réponse à ce même protocole chez *Bufo boreas* et *Bufo baxteri*. Le traitement topique à l'itraconazole décrit est recommandé et préféré par rapport à une administration *per os* en raison de la localisation superficielle de l'infection.

La transmission étant assurée par le déplacement des zoospores dans l'eau, la chytridiomycose affecte facilement un grand nombre d'espèces et d'individus. Il est alors primordial d'isoler les animaux infectés et de désinfecter les équipements associés ainsi que l'environnement. Le contrôle de la maladie dans les populations d'amphibiens repose aussi sur la décontamination des terrariums et des bonnes pratiques d'élevage permettant de prévenir les contaminations croisées par l'eau ou le substrat. Il est aussi essentiel de respecter une quarantaine pour les individus nouvellement introduits et de recourir à des antifongiques pour prévenir la dissémination potentielle de l'agent pathogène, ainsi que de considérer un traitement de groupe avec de l'itraconazole en cas de récurrence de la maladie (Pessier, 2002 ; Densmore et Green, 2007).

C. Chromomycose

1) Épidémiologie

Les infections par des champignons pigmentés de la famille des *Dematiaceae* ont été largement décrites chez les amphibiens. Plus fréquents dans les environnements tropicaux et subtropicaux, ces champignons sont néanmoins des saprophytes de la terre et des végétaux cosmopolites. Les agents isolés lors d'infections font partie des genres *Cladosporium* spp., *Phialophora* spp., *Rhinocladiella* spp. et *Fonsecaea* spp. Les infections ont lieu à l'occasion d'une inoculation traumatique d'organismes fongiques, et une dissémination aux organes internes est fréquente. La maladie peut s'exprimer sous une forme cutanée ou systémique disséminée chez les anoures, tant en captivité que dans la nature. Selon la présentation, les signes cliniques retrouvés sont une anorexie, une perte de poids, des ulcérations cutanées ou des nodules, un lymphoedème ainsi que des lésions au niveau d'organes tels que sur la rate, le foie et les reins (Pessier, 2002 ; Densmore et Green, 2007).

2) Signes cliniques et lésions

Les lésions cutanées comprennent des papules et des nodules (granulomes) avec un degré variable d'ulcération. Dans certains cas, les nodules ou les ulcères peuvent être pigmentés prenant une couleur grise à noire. La coloration peut alors s'apprécier macroscopiquement ou par histologie. Les localisations cutanées fréquemment rapportées sont le ventre, les membres et les leurs extrémités. Une incidence élevée de lésions péribuccales a été notée chez *Ceratophrys ornata* et s'explique par des morsures infligées par les congénères à l'occasion des repas. Les lésions cutanées peuvent subsister de manière chronique (parfois plus d'une année) sans pour autant être accompagnées d'autres signes de la maladie (Pessier, 2002 ; Densmore et Green, 2007).

Le diagnostic différentiel inclut les autres affections comportant des lésions nodulaires ou ulcérées, en particulier la mycobactériose et une néoplasie (Pessier, 2002).

3) Diagnostic

Le diagnostic est basé sur la mise en évidence de corps sclérotiques fongiques pigmentés dans les liquides de cytoponction ou dans les calques des nodules, ou sur la base d'un examen histopathologique de biopsies cutanées *ante* ou *post mortem*. La probabilité de retrouver des éléments fongiques au sein d'un granulome peut être faible, ce qui nécessite la réalisation de prélèvements multiples, quelle que soit la méthode d'analyse. À l'histologie, les champignons pigmentés peuvent être retrouvés dans les granulomes cellulaires ou caséux, avec des corps sclérotiques seuls (chromoblastomycose) ou accompagnés d'hyphes pigmentés (chromomycose). La forme comprenant une phase de dissémination systémique présente généralement des hyphes pigmentés qui envahissent de multiples organes et tissus associés à une nécrose cellulaire modérée et une réaction inflammatoire cellulaire minimale. Il n'est pas possible de différencier les différents genres de *Dematiaceae* sur la base des seules coupes histologiques, c'est pourquoi il est recommandé de réaliser des cultures suivies d'une identification (Pessier, 2002 ; Densmore et Green, 2007).

4) Traitement

Aucun traitement efficace n'a encore été décrit. Une amputation, une excision ou une cryochirurgie des lésions localisées et précoces ont été suggérés et quelques tentatives de traitement à base d'antifongiques comme le kétoconazole ou l'itraconazole n'ont guère eu de succès. Le contrôle de l'infection repose sur le remplacement du substrat contaminé, une désinfection de l'environnement et une correction des facteurs prédisposants tels que les traumatismes infligés par les congénères ou par un substrat grossier. La chromomycose est une zoonose donc des précautions doivent être prises lors de la manipulation des animaux infectés (Pessier, 2002).

D. Autres infections fongiques

1) Basidiobolomycose

De rares infections causées par *Basidiobolus ranarum* ont été récemment décrites chez *Hymenochirus curtipes*, *Bufo hemiophrys* et *Bufo bacteri*. La maladie se manifeste par des mortalités massives chez les individus post-métamorphosés élevés de manière intensive (espèces aquatiques).

Les crapauds infectés présentent une peau dorsale foncée, une hyperhémie ventrale et une desquamation de l'épiderme ventral. La mort s'ensuit dans les 5-7 jours suivant l'apparition des signes cliniques. À l'histologie, les lésions sont caractérisées par la présence d'un grand nombre de sphérules, d'une hyperkératose, d'une acantholyse et de signes d'inflammations minimales à nuls.

Une étude a montré que l'infection par *Basidiobolus ranarum* chez *Bufo bacteri* était en fait une chytridiomycose. L'isolement de *B. ranarum* à la place du chytridiomycète pouvait s'expliquer par le fait que la chytridiomycose favorise les infections secondaires fongiques, que *B. ranarum* est un hôte commensal de la flore intestinale des amphibiens et que les méthodes de cultures mycologiques standards ne permettaient pas l'isolement des chytridiomycètes (Pessier, 2002).

2) Zygomycètes

Des infections par des champignons de la sous-classe des zygomycètes comme *Mucor* spp et *Rhizopus* spp. ont quelques fois été décrites et sont caractérisées par un abattement, des ulcères cutanés ou des nodules cutanés multifocaux hyperhémiques comprenant une capsule pelucheuse sur le tégument ventral. Avec le développement des signes cutanés, la zygomycose progresse et mène au décès de l'animal en l'espace d'une à deux semaines. Dans certains cas, la zygomycose peut être à l'origine d'une maladie systémique se manifestant par la présence de nodules et d'une inflammation granulomateuse multi-organique (Taylor, 2001 ; Pessier, 2002 ; Densmore et Green, 2007).

Le diagnostic repose sur un examen histologique et une culture fongique. À l'histologie, Speare *et al* (1997) ont caractérisé une forme australienne de mucormycose associée à des sphérules fongiques et une inflammation granulomateuse. Taylor *et al.* (1999) ont également décrit des nodules dans le tégument apparaissant en histologie comme des hyphes sans signe significatif d'inflammation. Les zygomycètes sont relativement ubiquitaires dans les environnements humides en contact avec de la terre ou du matériel en décomposition ; les infections peuvent alors avoir lieu à la faveur d'une baisse de l'immunité, par le biais d'un traumatisme pénétrant, par ingestion ou inhalation de spores (Pessier, 2002 ; Densmore et Green, 2007).

Par exemple, des infections par *Mucor amphibiorum* ont été décrites chez des grenouilles et des crapauds d'Europe et d'Australie. En général, la consommation de terre contaminée engendre une infection systémique mais des cas de petites papules cutanées avec une ulcération centrale ont été décrits. À l'histologie, les lésions sont caractérisées par la présence de granulomes contenant des sphérules devant être différenciées de *Coccidioides immitis* et *Prototheca* spp. (Pessier, 2002).

Il n'existe pas de traitement efficace décrit (Densmore et Green, 2007).

3) Eucaryotes unicellaires

Les mésomycétozoaires, ou ichtyosporés, constituent un clade de protistes eucaryotes se situant à proximité de la divergence animal-champignon dans la phylogénie. De multiples genres de Mésomycétozoaires comme *Amphibiothecum*, *Amphibiocystidium* et *Ichthyophonus* sont des agents pathogènes des amphibiens. De nombreuses espèces d'*Amphibiocystidium* et *Amphibiothecum* affectent nombre d'anoures comme les bufonidés, les ranidés et les hylidés (Densmore et Green, 2007).

Ce sont des agents pathogènes sporulés, formant des kystes en particulier au niveau du derme en face ventrale. L'infection est auto-limitante, non létale et guérit dans les 4 à 8 semaines suivant l'apparition des signes cliniques. Elle se manifeste par des nodules ou pustules de taille supérieures ou égales à 1 cm, multifocales, et sont parfois associées à un exsudat (Densmore et Green, 2007). Les infections par *Ichthyophonus* spp en particulier, engendrent chez un certain nombre de grenouilles des myosites granulomateuses associées à des gonflements cutanés proéminents pouvant s'ulcérer. Les infections par *Dermocystidium* spp génèrent des nodules et des kystes chez les anoures (Pessier, 2002).

Le diagnostic est réalisé par observation des lésions entre lame et lamelle ou par histologie. L'examen microscopique des nodules cutanés révèle la présence de spores enkystées contenant une grande quantité de vacuoles cytoplasmiques (Densmore et Green, 2007).

Il n'y a pas de traitement établi hormis un traitement classique de soutien (Densmore et Green, 2007).

IV - Agents viraux pouvant potentialiser ou favoriser l'apparition de lésions cutanées chez les anoures

Comparés aux autres vertébrés non mammaliens, il y a très peu de virus pathogènes décrits affectant les amphibiens. Cependant, avec l'intérêt grandissant portée à ce taxon, tant par la communauté scientifique, le grand public et les amateurs de batraciens, ainsi qu'avec le développement des méthodes de diagnostic moléculaire, la connaissance des virus affectant les amphibiens ainsi que leur identification chez les vertébrés non mammaliens ont été considérablement améliorées. Autrefois, les maladies virales étaient particulièrement sous-diagnostiquées en raison des fréquentes surinfections bactériennes et d'une mauvaise interprétation des isollements d'agents pathogènes *post mortem*, mais aujourd'hui, les virus sont fréquemment isolés tant chez les amphibiens en captivité que sauvages (Densmore et Green, 2007).

A. Infections par Iridovirus

1) Épidémiologie

Les infections par les *Iridovirus*, de la famille des Iridoviridés et du genre *Ranavirus* ont été décrites pour la première fois dans les années 1960 chez les grenouilles et sont de plus en plus rapportées comme une cause d'épizootie chez les grenouilles et salamandres sauvages. Il s'agit du virus le mieux connu chez les amphibiens.

Les *Ranavirus* sont des virus à ADN double brin dont les virions mesurent 120 à 200 nm de diamètre et possèdent parfois une enveloppe dérivée de la membrane cytoplasmique de l'hôte. De nombreux *Ranavirus* ont été décrits et sont connus pour infecter les poissons, les amphibiens et les reptiles. Les chercheurs ont mis en évidence des transmissions possibles entre les différentes classes de vertébrés ainsi que le développement de maladies en association avec certains *Ranavirus*. La virulence dépend de l'hôte ; des espèces et souches de *Ranavirus* hautement virulentes peuvent affecter les anoures. Ces infections touchent le plus souvent les têtards et les individus récemment métamorphosés, mais également les adultes. Ces virus sont fréquemment associés à des morts subites et des déclin de populations soudains chez les populations sauvages. Ils ne sont que rarement isolés chez les individus cliniquement sains (Pessier, 2002 ; Densmore et Green, 2007).

2) Signes cliniques et lésions

Bien que les relations taxonomiques entre les *Ranavirus* décrits chez les amphibiens ne soient pas bien définies, ils sont assez proches antigéniquement et la présentation clinique, les lésions macroscopiques et histologiques qu'ils induisent sont similaires. La présentation clinique est variable. On observe tant

des morts subites avec pas ou peu de signes cliniques que des individus sévèrement atteints. Les infections sont souvent systémiques et les signes cliniques apparaissent après quelques jours à deux semaines d'incubation. Elles sont à l'origine d'une léthargie, d'une anorexie, d'une posture anormale, d'un comportement de nage défectueux ou d'un déficit de flottaison, d'érythèmes cutanés avec des pétéchies ou des hémorragies en coup de pinceau, notamment autour de la bouche ou de la base des cuisses, des lésions cutanées surélevées, vésiculaires ou érosives, ainsi qu'un œdème généralisé à cause d'épanchements dans les sacs lymphatiques (sous-cutanés) et dans le coelome. Des ulcères cutanés ont été notés chez *Rana temporaria* au Royaume-Uni. Chez les salamandres (*Ambystoma tigrinum*), on peut enregistrer une mort subite, un abattement, une anorexie, une diarrhée ou une hématochézie ; les lésions cutanées incluent des « polypes » pâles, des zones érosives, des ulcérations et des hémorragies. Les lésions cutanées chez les grenouilles et les salamandres sont proches de celles retrouvées en cas de Red Leg Syndrome et dans les autres causes possibles d'hyperhémie cutanée et d'ulcération (Pessier, 2002 ; Densmore et Green, 2007).

Un œdème, une organomégalie, des hémorragies ou des décolorations peuvent être retrouvés sur de nombreux organes dont le foie, la rate, les reins et le tube digestif. Au niveau histologique, on relève une nécrose de multiples tissus, dont les tissus hématopoïétiques, le foie, le tube digestif et la peau. Des inclusions intracytoplasmiques basophiles formées par le virus sont parfois visibles dans les cellules, notamment les hépatocytes. Des signes cliniques supplémentaires et des lésions histologiques liées à des surinfections bactériennes sont fréquents. Les auteurs suspectent la présence de porteurs sains parmi les adultes (Pessier, 2002 ; Densmore et Green, 2007).

La transmission peut se faire par des aliments infectés, les déjections, de l'eau dans laquelle ont baigné des animaux infectés, par cannibalisme entre larves ou encore au travers de manipulation dans le cadre de procédures expérimentales (Pessier, 2002 ; Densmore et Green, 2007).

3) Diagnostic

Le diagnostic présomptif peut être réalisé à l'examen histopathologique des lésions cutanées ou des organes touchés, qui en plus de la dégénérescence et de la nécrose tissulaires, vont également présenter des corps d'inclusion basophiles intracytoplasmiques. La confirmation du diagnostic nécessite le recours à la microscopie électronique, l'isolement du virus par culture de tissus frais ou congelés dans des lignés cellulaires de poissons, ou par des méthodes d'immunohistochimie ou PCR (Pessier, 2002 ; Densmore et Green, 2007).

4) Traitement

Le traitement et les mesures préventives n'ont pas encore été décrits. Johnson et Wellehan (2005) ont postulé que l'acyclovir (Zovirax®) pouvait avoir un potentiel thérapeutique dans le contrôle de la maladie et que les sécrétions cutanées produites de manière endogène auraient une action protectrice contre les *Ranavirus*. Aucune vaccination n'est disponible chez les amphibiens. L'isolement des individus infectés, une désinfection des terrariums et une systématisation de la quarantaine dans les pratiques d'élevage sont toutefois recommandés (Pessier, 2002 ; Densmore et Green, 2007).

B. Autres infections virales

Des particules virales semblables aux *Herpesvirus* ont été observées par microscopie électronique chez les *Rana dalmatina* en Italie avec de nombreuses vésicules cutanées blanchâtres à sombres. À l'histologie, les lésions étaient caractérisées par une hyperplasie épidermique et des inclusions intranucléaires (Pessier, 2002).

V - Agents parasites pouvant potentialiser ou favoriser l'apparition de lésions cutanées chez les anoures

A. Arthropodes

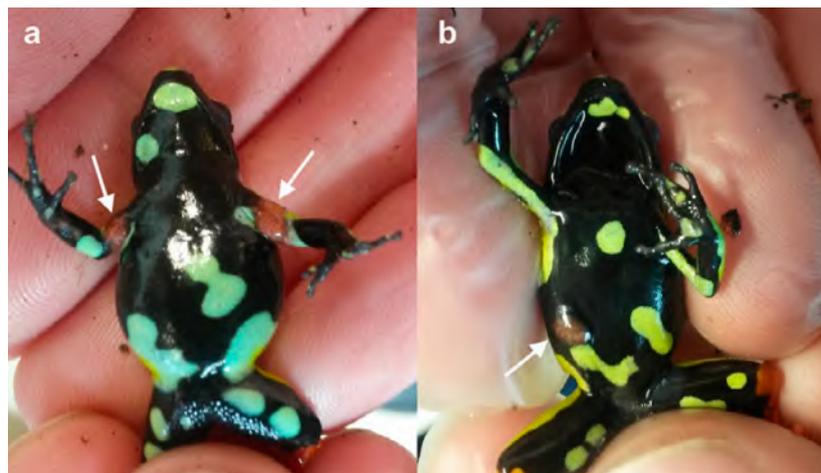
1) Épidémiologie

Les infestations par des Trombiculés du genre *Hannemania* (surtout en Amérique du Nord), *Anouracarus*, *Vercannenia*, *Endotrombicula* et *Schongastia* sont les plus fréquentes et sont généralement observées chez les animaux capturés en milieu naturel.

2) Signes cliniques et lésions

On constate la présence de nodules ou vésicules cutanées, rouges à orangées, multifocaux, de petites tailles (jusqu'à 1 mm de diamètre), souvent localisés sur la face ventrale ou les membres (Figure 69). Les infestations sont souvent auto-limitantes, mais certaines, plus sévères, peuvent se compliquer par une infection bactérienne secondaire.

Figure 69 : Lésions cutanées chez *Mantella baroni* (flèches blanches) au niveau des membres thoraciques (a) et sur la face ventrale (b) (Briand *et al.*, 2019).

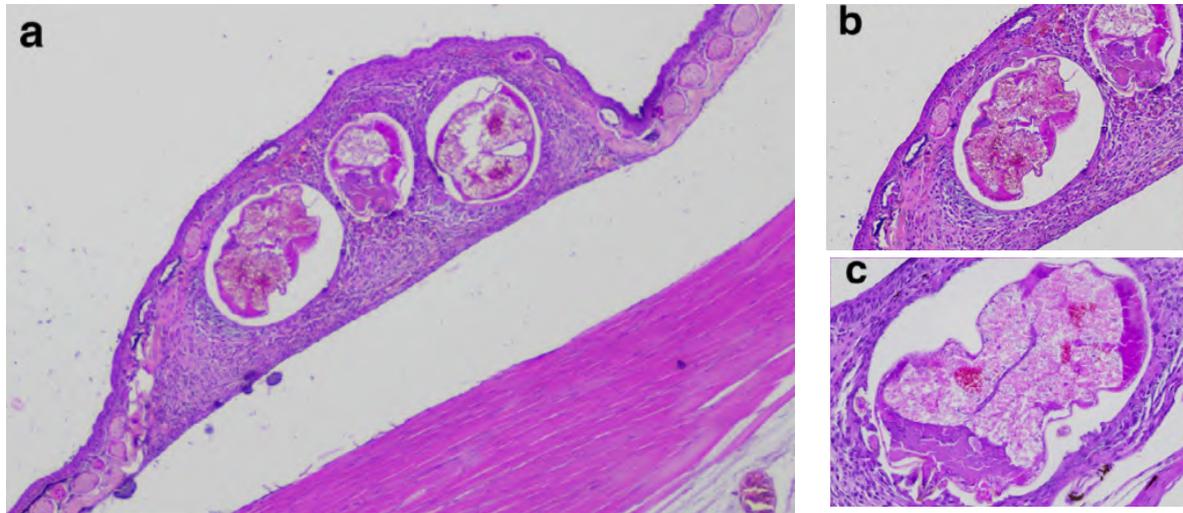


3) Diagnostic

Le diagnostic repose sur un raclage cutané ; il est aussi possible de libérer des larves directement en ponctionnant dans un kyste (Figure 70). De plus, cette méthode constitue également une aide au traitement (Briand *et al.*, 2019).

Un traitement à base d'ivermectine topique transcutané à la dose de 400 µg/kg, répété à deux semaines d'intervalles peut s'avérer utile. L'isolement des animaux non infestés et un nettoyage de l'environnement est nécessaire entre les traitements pour éliminer la possibilité d'une transmission ou d'une réinfestation par des formes libres (Pessier, 2002 ; Densmore et Green, 2007).

Figure 70 : Examen histologique d'une biopsie cutanée de *Mantella baroni* (Briand *et al.*, 2019). Les arthropodes sont visibles au sein de cavités situées dans l'épiderme et provoquent une infiltration inflammatoire granulomateuse et hétérophilique, ainsi qu'une hyperplasie épidermique marquée (coloration hématoxyline éosine) (a, 50x), (b, 100x), (c, 400x).



B. Nématodes

1) *Pseudocapillaroides xenopi*

a) Épidémiologie

Les infestations intra-épidermiques par *Pseudocapillaroides xenopi* sont bien décrites chez le xénope.

b) Signes cliniques

Les signes cliniques cutanés comprennent une augmentation de la desquamation cutanée, une surface épidermique plus rugueuse et piquée, une décoloration épidermique grisâtre à marronâtre, notamment en partie dorsale de la peau des adultes. Un affaiblissement, une infection bactérienne secondaire et la mort s'ensuivent souvent. Des infestations plus modérées peuvent, par contre, passer inaperçues. Les parasites adultes sont présents dans l'épiderme et ce sont les galeries qu'ils creusent qui sont responsables des infections bactériennes ou fongiques secondaires et de la mort.

c) Diagnostic

Le diagnostic repose sur l'identification dans des raclages cutanés ou sur des biopsies cutanées, d'œufs avec des bouchons muqueux, de tunnelisations intra-épidermiques, ou des vers adultes. La réponse inflammatoire cellulaire est inconstante mais est souvent associée aux infections secondaires. Il est également possible de diagnostiquer la rhabdiose et la strongyloïdose par coproscopie ou méthode de flottaison. La détection d'un œuf de *Pseudocapillaroides xenopi* est suffisante pour établir le diagnostic et initier des traitements anthelminthiques.

d) Traitement

Le traitement à base de lévamisole à la dose de 12 mg/L pendant 4 jours, répétés à J10 ou J14 ou à base d'ivermectine à la dose de 0,2 mg/kg par voie orale ou injecté dans le sac lymphatique dorsal ont été décrits comme efficaces. Des mesures d'hygiène sont nécessaires pour réduire la source infestante en nettoyant ou en changeant les aquariums et les filtres afin de retirer les œufs et d'éviter une ré-infestation (Pessier, 2002 ; Densmore et Green, 2007).

2) Autres nématodes

Les formes rhabdiformes libres des genres *Rhabdias* ou *Strongyloides* peuvent pénétrer dans leurs hôtes par voie percutanée, engendrant une dermatite. Lorsqu'ils sont présents, on peut observer des signes cutanés comme des érythèmes modérés ou une décoloration cutanée. Un nombre trop important de larves présentes dans la peau ou les organes internes entraîne la mort chez les anoues. Les manifestations cliniques de ces infestations peuvent aussi impliquer les tractus respiratoires et digestifs. Il est donc recommandé de mettre en quarantaine tout amphibiens dont on n'est pas certain de l'historique sanitaire, de les tester pour la présence de ce parasite afin de pouvoir les traiter en conséquence. Les gonflements cutanés ou les nodules sont souvent associés à des filaires enkystées comme *Foleyella* spp. ou les nématodes Spiruridés du genre *Dracunculus* (Pessier, 2002 ; Densmore et Green, 2007).

C. Autres parasites métazoaires

1) *Gyrodactylus* spp.

a) Épidémiologie

Les trématodes monogénétiques comme *Gyrodactylus* spp affectent la peau et les branchies des amphibiens aquatiques.

b) Signes cliniques et lésions

Les signes cliniques associés à une infestation sévère sont une augmentation de la production de mucus, des hémorragies multifocales cutanées et des ulcères.

c) Diagnostic

Le diagnostic repose sur un examen direct sous microscope.

d) Traitement

Un traitement à base de bains de praziquantel à la dose de 10 mg/L pendant 3 h a été décrit. Des trématodes digènes enkystés peuvent être présents sous la forme de nodules ou foyers pigmentés noirs dans le tissu sous-cutané et la peau. Le traitement n'est généralement pas nécessaire. Enfin, des sangsues peuvent être présentes à la surface ou dans les sacs lymphatiques dorsaux et apparaître sous la forme de nodules cutanés. Le traitement repose sur un retrait manuel (Pessier, 2002).

2) *Clinostomum* spp.

a) Épidémiologie

Des infestations à *Clinostomum* spp. peuvent affecter les ranidés.

b) Signes cliniques et lésions

Elles provoquent des renflements jaunâtres sous la peau.

c) Diagnostic

Le diagnostic se fait par identification des parasites enkystés.

d) Traitement

Le traitement est difficile mais peut être dirigé contre le stade adulte par administration de praziquantel. Poynton et Whitaker (2001) recommandent également un pré-traitement avec des corticoïdes. Le moyen le plus efficace pour prévenir une infestation par des métacercaires est de retirer tous les gastéropodes aquatiques (hôtes intermédiaires primaires, les amphibiens étant des hôtes intermédiaires secondaires ou définitif des trématodes) des aquariums ou des systèmes aquatiques clos (Densmore et Green, 2007).

VI - Maladies cutanées néoplasiques

Bien qu'assez rares, une grande variété de tumeurs cutanées a été décrites chez les amphibiens. On retrouve parmi elles les carcinomes cellulaires squameux, les adénomes, les adénocarcinomes des glandes du derme, les mastocytomes, les sarcomes des tissus mous et les mélanomes. Le diagnostic différentiel comprend les lésions cutanées nodulaires, en particulier les maladies granulomateuses comme les mycobactérioses et les chromomycoses. Le diagnostic repose sur des aspirations à l'aiguille fine et l'examen cytologique ou des biopsies pour examen histologique. Le traitement est chirurgical et repose sur une exérèse ou une résection aussi grande que possible de la tumeur en cas d'impossibilité de réaliser une résection complète (debulking) (Pessier, 2002).

Le papillome des cellules squameuses est, avec le carcinome rénal de Lucke, une des tumeurs les plus décrites chez les amphibiens. Il s'agit d'une tumeur bénigne du tégument, qui régresse souvent spontanément. Elle touche principalement les tritons, notamment *Cynops pyrrhogaster* chez qui il a été décrit, et dans une moindre mesure les anoues. Cette tumeur provoque des lésions verruqueuses bien délimitées que l'on peut retrouver partout sur la peau. Le diagnostic est essentiellement histologique car il existe de nombreuses causes de masses cutanées chez les amphibiens : des réponses inflammatoires granulomateuses, des parasites enkystés ou des infections par des mésomycètes sont des causes fréquentes de tuméfactions non néoplasiques (Densmore et Green, 2007).

DEUXIEME PARTIE : PRESENTATION DU VIVARIUM DE LA MENAGERIE DU JARDIN DES PLANTES ET ETUDE EXPERIMENTALE DES CONDITIONS DE CAPTIVITE DES RAINETTES KUNAWALU

INTRODUCTION

L'apparition brutale de lésions rostrales cutanées chez la totalité des rainettes Kunawalu en 2016 associée à une non-résolution sous traitement a motivé la mise en place d'un travail de thèse afin d'explorer les causes possibles de cette présentation. En raison de leur nature ectotherme et de leur peau particulièrement perméable, nous avons émis l'hypothèse que les paramètres environnementaux, en particulier les paramètres d'ambiance et de qualité de l'eau, pouvaient être à l'origine de lésions cutanées ou encore, influencer leur évolution.

Nous aborderons dans cette seconde partie les particularités de l'élevage des rainettes Kunawalu au sein du Vivarium de la Ménagerie du Jardin des Plantes après une brève présentation de la structure.

L'étude expérimentale a pour premier objectif l'étude ainsi que le suivi des paramètres d'ambiance majeurs (température et hygrométrie) et de la qualité de l'eau, afin d'établir un état des lieux des conditions d'élevage. Dans un second temps, nous caractériserons les lésions cutanées observées chez les individus ainsi que leur prise en charge, afin de discuter d'un éventuel lien entre cette pathologie et les paramètres zootechniques.

Nous présenterons dans le premier chapitre, les éléments relatifs à la gestion des paramètres zootechniques au sein du Vivarium de la Ménagerie du Jardin des Plantes, que nous agrémenterons d'une étude expérimentale centrée sur l'analyse de certains paramètres. Les résultats ainsi que les discussions seront réalisés dans les sous-parties correspondantes. Dans le second chapitre, nous présenterons l'historique des lésions cutanées ayant motivé l'initiation de cette thèse ainsi que la caractérisation des lésions observées à présent.

Chapitre I – Paramètres zootechniques

I - Le Vivarium de la Ménagerie du Jardin des Plantes

A. Historique et objectifs de la Ménagerie

Située au cœur du Jardin des Plantes, la Ménagerie est un des plus anciens zoos du monde. Ouverte en 1794, elle a accueilli de espèces variées comme Zarafa la girafe (*Giraffa camelopardalis*) au XIX^e siècle, ou encore Nénette, la femelle orang-outan (*Pongo pygmaeus*) de nos jours. La Ménagerie présente une longue histoire, inscrite dans ses bâtiments, qui constituent un patrimoine architectural unique et classés depuis 1993.

En 1802, les animaux étaient logés dans de petites cabanes en rondins, torchis et toits de chaume, les « fabriques », inspirées de la ferme de Marie-Antoinette à Versailles. Au début du XIX^e siècle, de nombreuses constructions se sont rajoutées dont : les Fosses aux ours (Ursidés) en 1805, la Rotonde, dont la forme évoque la croix de la Légion d'honneur en 1812, la Galerie des reptiles en 1870 ou encore la Grande Volière 1888. Le Vivarium, la Singerie et la Fauverie ont vu le jour dans l'entre-deux-guerres, respectivement en 1926, 1936 et 1937. En 2013, la volière des déserts est venue enrichir ce patrimoine exceptionnel.

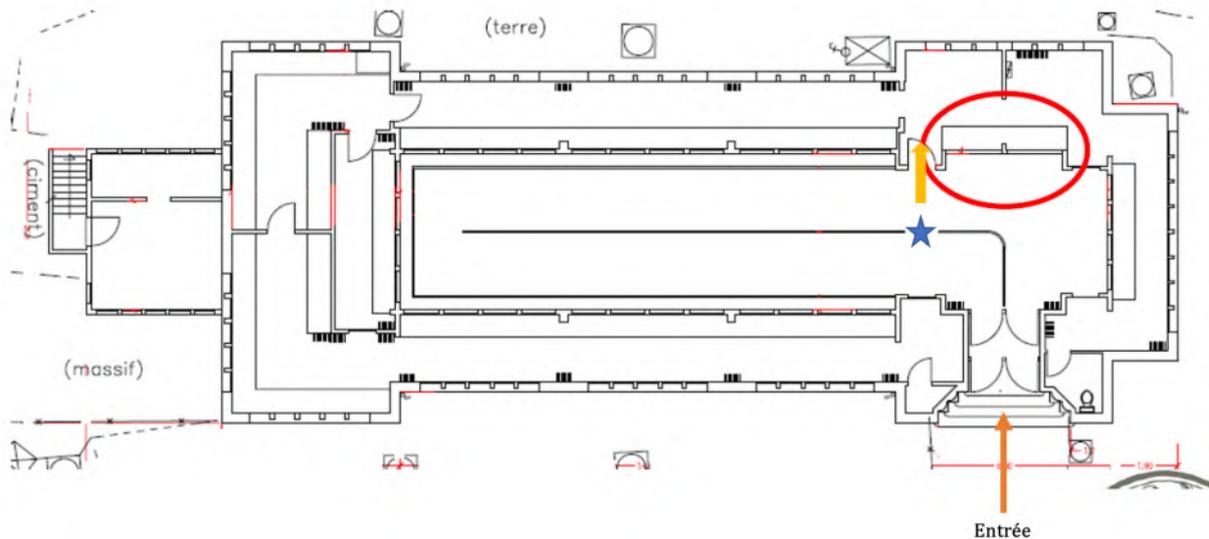
Aujourd'hui, la Ménagerie accueille plus de 150 espèces, regroupant félins, reptiles, amphibiens, rapaces, ruminants ... Elle privilégie à présent l'hébergement d'espèces de petites et moyennes tailles menacées d'extinction. La majorité est née en captivité et provient d'échanges et de prêts entre zoos. La Ménagerie participe également à de nombreux programmes d'élevages d'espèces menacées, contribuant ainsi au maintien de la biodiversité *ex situ* et luttant dans l'espoir de réintroduire des populations viables d'animaux sauvages dans la nature, si leurs biotopes sont stabilisés ou restaurés (Muséum National d'Histoire Naturelle, 2021a).

B. Le Vivarium

1) Présentation des lieux

Figure 71 : Plan du Vivarium de la Ménagerie du Jardin des Plantes, plan provenant du Museum National d'Histoire Naturelle (modifié).

Le cercle rouge montre l'emplacement du terrarium de *Trachycephalus resinifictrix*, notre espèce d'intérêt. La flèche orange représente l'entrée du Vivarium et la flèche jaune celle des locaux privés (Figure 73). L'étoile bleue représente le lieu d'où la photo de la Figure 72 a été prise.

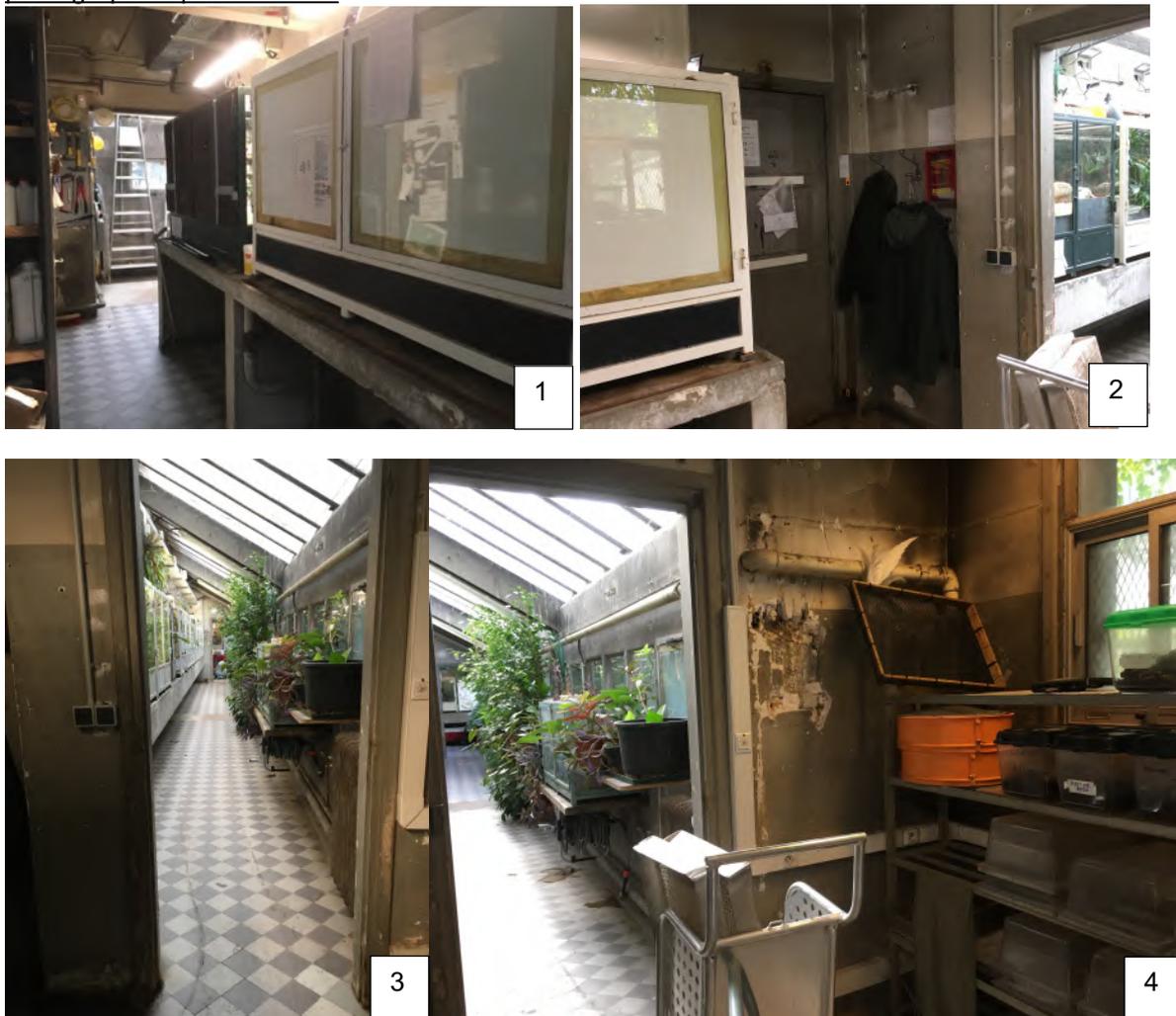


L'entrée du Vivarium se trouve en bas à droite (Figure 69). Les différents terrariums apparaissent sous la forme de petits rectangles, disposés de part et d'autre de l'allée (Figure 70). Les locaux privés se trouvent juste en arrière des terrariums en exposition (Figure 71).

Figure 72 : Galerie intérieure du Vivarium, photographie de la Ménagerie du Jardin des Plantes.



Figure 73 : Locaux du Vivarium et environnement immédiat du terrarium des *Trachycephalus resinifictrix*, photographies personnelles.



Ces photos illustrent l'environnement immédiat du terrarium des rainettes Kunawalu.

- (1) Terrarium des rainettes Kunawalu vu de dos. Il est situé près du sas d'entrée et le couloir se poursuit sur la gauche.
- (2) Le terrarium des rainettes Kunawalu est situé juste à côté de la porte de service et un couloir se poursuit sur la droite.
- (3) Vue sur le couloir de droite où sont accessibles de nombreux terrariums d'exposition.
- (4) Le carrefour au sein duquel le terrarium des rainettes Kunawalu sert également de lieu de stockage.

2) Personnel

L'équipe du Vivarium est composée de cinq personnes. Ils sont généralement deux à trois chaque jour pour gérer le service. Leur secteur de travail inclut le Vivarium, mais aussi d'une partie de celui de la Rotonde hébergeant les tortues géantes des Seychelles (*Aldabrachelys gigantea*), des binturongs (*Arctictis binturong*) et des pandas roux (*Ailurus fulgens*). Au sein du Vivarium, les soigneurs s'occupent de l'élevage des amphibiens, des reptiles et arthropodes (incluant les proies destinées aux animaux).

3) Animaux exposés

Le Vivarium accueille plus d'une vingtaine d'espèces d'amphibiens, reptiles et arthropodes, confondues dans une galerie d'environ 150 m². On y retrouve par exemple des couleuvres de l'amour (*Elaphe*

schrencki), une vipère du Gabon (*Bitis gabonica rhinoceros*), des monstres de Gila (*Heloderma suspectum*), des escargots géants africains (*Achatina fulicula*), des phasmes géants dilatés (*Heteropteryx dilatata*), des dendrobates jaunes et noires (*Dendrobates leucomelas*), des rainettes Kunawalu (*Trachycephalus resinifictrix*), des axolotls (*Ambystoma mexicanum*) etc.

En ce qui concerne les rainettes Kunawalu, il y avait initialement 9 individus au début de l'étude. Une rainette de Kunawala mâle est morte le 25 février 2021. La cause de la mort n'a pas été clairement identifiée mais l'autopsie a révélé un état de maigreur et d'amyotrophie marqués pouvant être liés à des conditions zootechniques ou d'alimentation non adaptées, ou encore à une suspicion de parasitisme intestinal chronique. Il y a trois femelles et six mâles au total, dont un mâle isolé dans un terrarium à part (en réserve), initialement dans le cadre du traitement de sa lésion rostrale.

II - Paramètres environnementaux de captivité auxquels sont soumises les rainettes du Vivarium de la Ménagerie du Jardin des Plantes

A. Introduction

La reproduction des rainettes Kunawalu n'est pas un objectif en soi pour la ménagerie. Leurs œufs se développent sans anomalie majeure rapportée. De nombreux individus ont été donnés aux autres parcs animaliers et quelques-uns sont conservés lorsqu'un renouvellement de la collection s'avère nécessaire, afin de conserver un effectif stable.

La dernière ponte conservée date de 2019. Depuis, les œufs ne sont plus recueillis et disparaissent avec le nettoyage, et ceux retrouvés sont retirés par les soigneurs. Ces derniers rapportent des pontes survenant de façon aléatoire au cours de l'année, sans que cela ne survienne de façon cyclique chaque année.

Les individus présents appartiennent à des générations différentes et cohabitent depuis déjà plusieurs années, mêlant mâles et femelles. L'âge précis des individus et le ratio mâle/femelle n'est pas connu car les animaux ne sont pas identifiés individuellement. C'est le groupe dans son ensemble qui est enregistré sous un unique matricule. Il n'y a eu aucun renouvellement entre 2005 et 2019, les individus nés en captivité depuis ont été transférés dans d'autres structures, et les archives ne permettent pas de savoir combien d'animaux de chaque ponte ont été introduits à la collection de la Ménagerie. Les rainettes Kunawalu de France proviendraient pratiquement tous de l'élevage de la Ménagerie, ce qui implique que les individus des parcs zoologiques sont probablement tous consanguins à un degré plus ou moins marqué.

Il n'y a actuellement pas de véritable quarantaine destinée aux amphibiens mais une partie de l'infirmerie des reptiles pourrait être aménagée et dédiée à cet usage dans le futur. En ce qui concerne les rainettes Kunawalu, les flux sont essentiellement sortants, de la Ménagerie vers d'autres structures ; il n'y a donc pas d'introduction d'individus. Aucun transit de rainettes Kunawalu n'est intervenu depuis 2019.

B. Alimentation

1) Composition et distribution de la ration

À la Ménagerie, les rainettes Kunawalu bénéficient d'une distribution bihebdomadaire à jours fixes (généralement mardi et vendredi) et heure régulière (généralement en fin de matinée, début d'après-midi) à hauteur de 2,5 criquets au stade préimaginal (*Locusta migratoria*) par animal environ (Figure 74). Les criquets sont saupoudrés de Sofcanis® (Tableau 18) juste avant la distribution et lâchés vivants dans le terrarium. La consommation individuelle n'est pas connue et l'ensemble des proies est

généralement totalement consommé. Les criquets sont nourris avec des pousses de blé, du brocoli, de la carotte, et de la biscotte.

Ces orthoptères constituent leur régime de base et sont distribués avant la mue imaginale afin qu'ils ne soient pas trop riches en chitine. Les grenouilles reçoivent également des grillons (*Acheta domesticus*) de temps en temps, à une fréquence non définie. C'est le cas notamment lors de pénurie de criquets inattendue ou lorsque leur élevage produit trop de grillons.

Les proies non consommées ne sont pas retirées entre chaque nourrissage. Elles ne le sont que si elles dépassent le stade imaginal.

Figure 74 : Criquets (à gauche) et grillons (à droite) distribués en tant que proie vivante et évoluant au sein du terrarium, photographies personnelles.



Tableau 18 : Composition du Softcanis® (Vetostore, 2021).

Vitamines A, D₃, E, K₃, C, B₁, B₂, B₆, B₁₂, PP, panthothénate de calcium, biotine.

Acides aminés : méthionine, chlorure de choline, lysine.

Oligo-éléments : manganèse, fer, zinc, iode, cuivre, cobalt.

Minéraux et électrolytes : calcium (16 %), phosphore (8 %), magnésium (0,35).

2) Conservation et préparation des aliments

La Ménagerie dispose d'un élevage de proies (en majorité des criquets et grillons), permettant au Vivarium d'être auto-suffisant en termes de proies vivantes pour l'alimentation de leurs amphibiens et reptiles insectivores.

3) Bilan

Par rapport aux recommandations ayant pu être évoquées plus haut, nous pouvons retenir plusieurs points synthétisés dans le tableau 19.

Tableau 19 : Points positifs et négatifs relatifs à l'alimentation des rainettes Kunawalu.

Points positifs	Points négatifs
Élevage interne des proies :	Distribution en journée ;
Meilleure maîtrise de l'alimentation des proies et des conditions sanitaires ;	Délai entre le moment de la complémentation en calcium de la proie et sa consommation par la grenouille ;
Auto-suffisance au niveau de l'approvisionnement ;	Alimentation peu variée ;
Complémentation en minéraux et vitamines ;	Consommation individuelle non connue ;
Distribution de proies vivantes ;	Fréquence de nourrissage faible ;

Il n'est pas rare de retrouver le lendemain des proies distribuées la veille (environ la moitié), car elles ne sont pas consommées en totalité le jour même. Bien que la fréquence de nourrissage soit moins importante que celle recommandée dans la littérature scientifique, le niveau d'apport (*ad libitum* de fait)

semble suffisant pour les animaux. Aucune anorexie ni blessure attribuable aux proies vivantes n'ont été observées chez les grenouilles.

Il pourrait être intéressant d'essayer d'augmenter la fréquence de nourrissage à 2-3 fois par semaine afin de voir si la quantité de proies est suffisante pour tous les animaux. L'idéal serait une distribution individualisée à la pince des proies car au vu de la variabilité des notes d'état corporel chez les individus du même terrarium, il est possible qu'une compétition alimentaire soit présente (Figure 78).

Afin de respecter la biologie des grenouilles, il est préférable de distribuer la nourriture le soir, ce qui favorise une consommation plus rapide de la proie et donc une meilleure complémentation en minéraux et vitamines des amphibiens. La technique consistant à gaver les proies avant leur distribution pourrait être intéressante sur le point nutritionnel, notamment afin de les compléter en éléments ciblés. Par exemple, un apport additionnel en vitamine A est indispensable chez les amphibiens captifs car ils sont incapables de synthétiser les caroténoïdes, essentiels à la bonne santé de la peau. Cette vitamine est incorporée au sein des chromatophores sous forme de caroténoïdes et est également essentielle au métabolisme calcique (McWilliams, 2008).

Enfin, une plus grande diversité des proies distribuées constituerait un atout sur le plan nutritionnel mais aussi sur le plan comportemental en tant que facteur d'enrichissement (Wright, 2001b ; Pasmans et Martel, 2019b).

C. Aménagement du terrarium et bien-être

À la Ménagerie, les rainettes Kunawalu sont maintenues dans un terrarium en verre synthétique en PVC mesurant 170 x 60 x 90 cm (L x l x H). Le couvercle est en treillis métallique. Le terrarium s'ouvre par deux battants de portes situés à l'arrière (Figure 75).

Un des individus a été isolé dans un terrarium en verre de 43 x 44 x 59 cm pour la prise en charge d'une lésion rostrale ne guérissant pas. Sauf indication contraire, toutes les informations présentées concerneront le terrarium principal d'exposition.

Figure 75 : Vue d'ensemble du terrarium des rainettes Kunawalu en exposition et en réserve. (remerciements au Dr D. Duby pour les photographies (a, b, c) des terrariums. Les autres photographies sont personnelles).



Terrarium d'exposition principal, vue depuis l'entrée du Vivarium (a) et depuis les locaux (b).

Figure 76 : Vue d'ensemble du terrarium des rainettes Kunawalu en exposition et en réserve.
(remerciements au Dr D. Duby pour les photographies (a, b, c) des terrariums. Les autres photographies
sont personnelles).



(c) Terrarium d'exposition vu depuis les coulisses du Vivarium. Le terrarium peut être ouvert par les deux portes battantes situées à l'arrière. Mise à part la vitrine d'exposition, toutes les autres faces du terrarium ont été obscurcies.



(d) Terrarium en réserve, située au sein des locaux privés du Vivarium, permettant d'isoler certains individus à l'instar d'une infirmerie.

4) Agressivité et comportement territorial

D'après les soigneurs, la cohabitation entre les individus se passe sans encombre, tout du moins durant la journée. Les animaux se regroupent au niveau des mêmes branches dans le terrarium, sans qu'aucun ne semble exclu du groupe. Il ne paraît pas non plus y avoir davantage de lésion « active » chez les mâles par rapport aux femelles.

L'identification individuelle est assez délicate et il n'est pas aisé de déterminer si ce sont toujours les mêmes individus qui occupent les « meilleures » places au sein du terrarium (branchage, point thermique et hygrométrique idéal, site d'exposition) ou consomment plus de proies que les autres.

Une observation plus attentive, avec l'aide d'un enregistrement vidéo, pourrait être envisagée si des signes d'agressivité ou des traumatismes étaient constatés (Figure 77).

Une tentative d'analyse des comportements et de l'occupation de l'espace des rainettes Kunawalu, notamment la nuit, avec la mise en place d'une caméra-piège, a été réalisée. Le but était de mettre en évidence des comportements agonistiques, d'excitation ou de fuite, pouvant expliquer les lésions rostrales observées, mais aussi avoir une idée de la répartition préférentielle des individus.

Un test sur 96 h a été réalisé, avec comme paramétrage une prise de photo par défaut toutes les heures ou déclenchée par la détection d'un mouvement. La caméra fut placée dans le terrarium, à mi-hauteur sur une branche située sur le côté droit (vu depuis local soigneur) du terrarium afin d'obtenir la vue la plus globale possible.

Un souci technique de réglage n'a pas permis le déclenchement de la caméra par la détection des mouvements mais les photographies automatiques à intervalles d'une heure ont pu être obtenues. Elles concernent essentiellement la moitié supérieure du terrarium, là où se trouvent la majorité des branchages et des feuillages. Il est difficile de localiser les huit animaux au sein du terrarium d'exposition sur ces photographies (Figure 76) mais ces dernières renforcent l'hypothèse de la présence de sites préférentiels d'occupation au sein du terrarium, déjà constatés lors des observations quotidiennes. Il reste cependant difficile de savoir si ces sites sont majoritairement occupés par les mêmes individus ou de façon générale.

Les animaux semblent bien plus actifs la nuit : on les voit se percher sur différentes branches et adopter des postures différentes de celles observées de jour, qui sont probablement destinées à limiter la perte hydrique durant leur phase d'inactivité en journée. Les déplacements survenant au cours de la photopériode, sont moins nombreux, concernent de plus faibles distances et se déroulent plutôt en début de matinée. Les grenouilles ont tendance à se regrouper au niveau des branchages, à mi-hauteur et en hauteur (Figure 76), ou encore en hauteur au niveau des parois du terrarium.

Figure 77 : Photographies automatiques des rainettes Kunawalu illustrant les déplacements et la répartition des animaux au sein du terrarium (photographies de la Ménagerie). Les cercles rouges localisent les individus perchés au sommet des branches.

	
<p><i>Trachycephalus resinifictrix</i> perchée au sommet d'une branche à 13h54.</p>	<p>On retrouve le même individu, 7h plus tard, au même endroit et dans une position presque identique.</p>

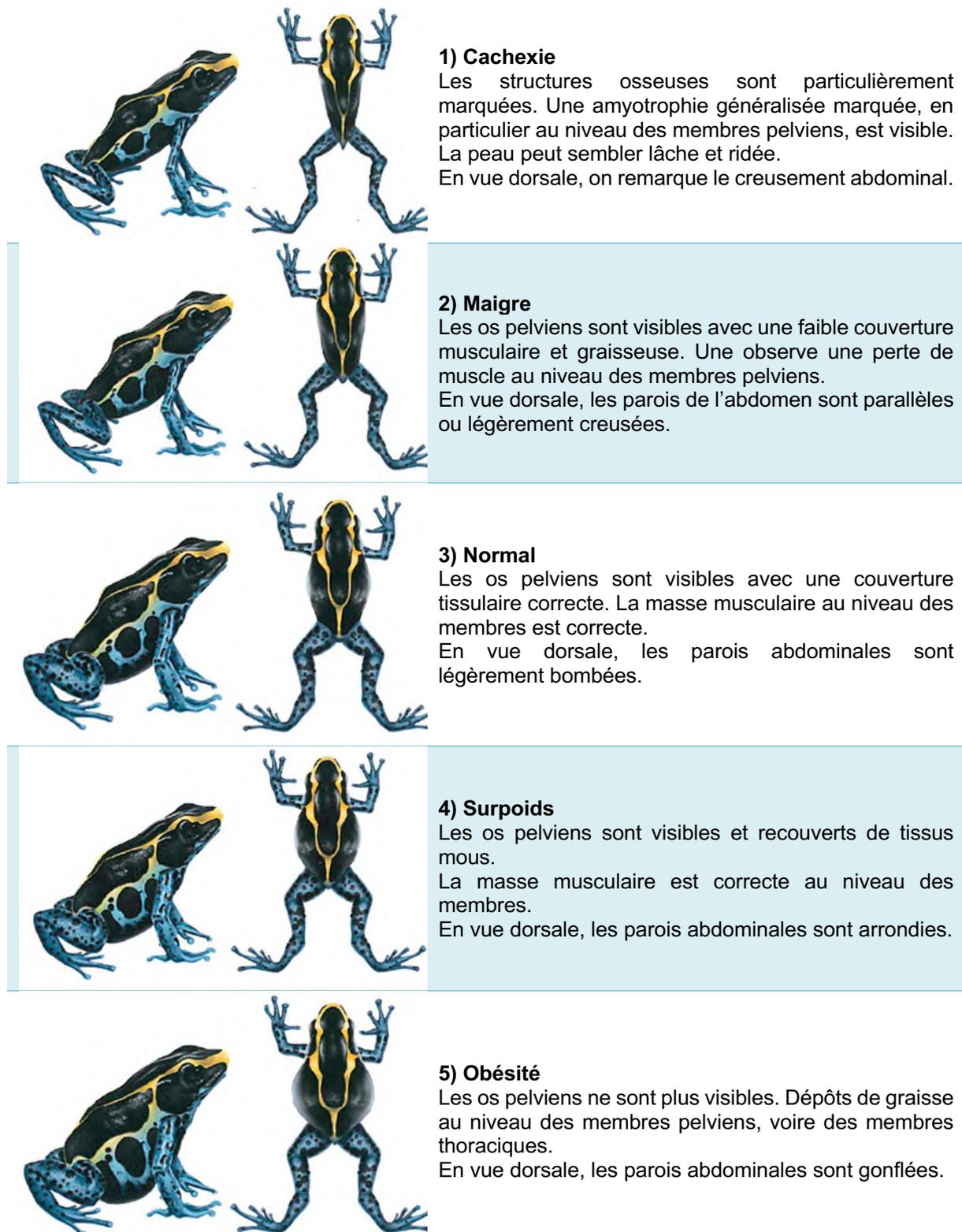
Les trois photographies suivantes sont des photographies infrarouges.

		
<p>Rainette Kunawalu perchée sur une branche à 1h54.</p>	<p>On remarque que l'individu est parti à 2h54.</p>	<p>À 4h54, un autre individu (ou le même) est revenu se percher au même endroit.</p>

Finalement, cette étude n'a pas été poursuivie par manque de temps.

L'étude de la note d'état corporelle (Figure 78) est intéressante pour mettre en évidence une éventuelle compétition alimentaire car on remarque des disparités au niveau de l'état corporel. L'interprétation doit cependant être raisonnée car tous les individus ne sont pas de la même génération (certains ayant été introduit en 2019).

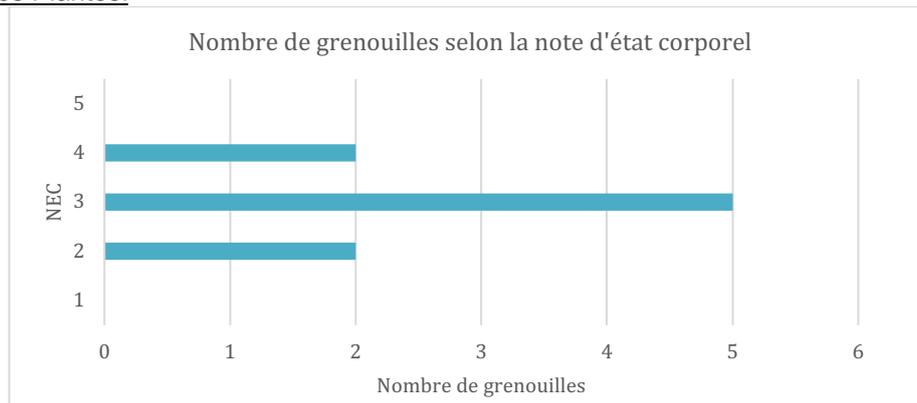
Figure 78 : Évaluation de la note d'état corporelle chez *Dendrobates tinctorius*, illustration de J. Abraham (Whitaker et Wright, 2019).



Une note de 3 ou 4 sur 5 est recherchée.

En nous basant sur cette grille, nous constatons que la majorité des individus hébergés au Vivarium présente une NEC satisfaisante à 3. Deux individus sont en surpoids et deux sont notés maigres (Figure 78). L'hypothèse d'une compétition alimentaire reste possible, mais la majorité des individus présente une note d'état corporel satisfaisante, et nous ne retrouvons aucun individu dans les extrêmes.

Figure 79 : Variation de la note d'état corporel parmi les rainettes Kunawalu du Vivarium de la Ménagerie du Jardin des Plantes.



5) Manipulation et contention

La manipulation des grenouilles par les soigneurs intervient généralement pour déplacer un individu mal placé (près des battants des portes par exemple) et lui éviter des blessures. Elle est généralement rapide et réalisée à l'occasion de l'ouverture du terrarium pour le nourrissage, lors du nettoyage des bassins ou encore de la brumisation. Les animaux ne sont pas sortis du terrarium durant ces opérations, le nettoyage des bassins pouvant être réalisé sans déranger les animaux. Toutefois, ces manipulations se font souvent les mains nues, non gantées.

La manipulation des grenouilles par les vétérinaires se fait dans un autre contexte, en particulier lorsque des soins ou des examens complémentaires sont nécessaires. Ces derniers portent des gants en vinyle pour manipuler les individus et ce type d'intervention a généralement lieu dans la salle de soins du laboratoire vétérinaire.

6) Exposition au public

Les animaux de la collection sont tous en exposition, mis à part l'individu qui se trouve en réserve et que nous avons nommé « 9 » dans le cadre de cette étude, isolé durant sa convalescence (Figure 76, d). Le terrarium se trouve juste en face de l'entrée du Vivarium et à côté de la porte d'entrée du service (Figure 73, 2). Les mouvements de va-et-vient sont donc quasi-permanents, en raison des aller-retours du personnel soignant dans les locaux, et surtout des visiteurs.

Le terrarium est exposé sur un comptoir, derrière une vitre en verre (Figure 76, a).

La fréquence des lésions a beaucoup diminué depuis l'année dernière et elles ont également fini par guérir au bout d'un temps très long.

Les circonstances sanitaires ont également tari le flux des visiteurs, situation dont il faut tenir compte par rapport au niveau de stress qui peut en résulter pour les animaux.

7) Aménagement du milieu et enrichissement

Au niveau des plantes, les soigneurs utilisent des branches de platane (*Platanus*), chêne (*Quercus* spp.), frêne (*Fraxinus*), croton (*Codiaeum variegatum*), *Ficus*, *Dieffenbachia*, *Epipremnum aureum*, *Schefflera arboricola*, *Aglaonema* spp., sphaigne (*Sphagnum*), auxquelles peuvent se rajouter d'autres végétaux supportant l'humidité fournis par le jardinier (Figures 81 et 82). Les plantes sont disposées au sein du terrarium de façon à concilier la présence de zones de perchage et de camouflage par les feuillages avec le côté esthétique en lien avec la présentation au public. Toutefois, on note l'absence de véritables cachettes et d'abris au sein du terrarium.

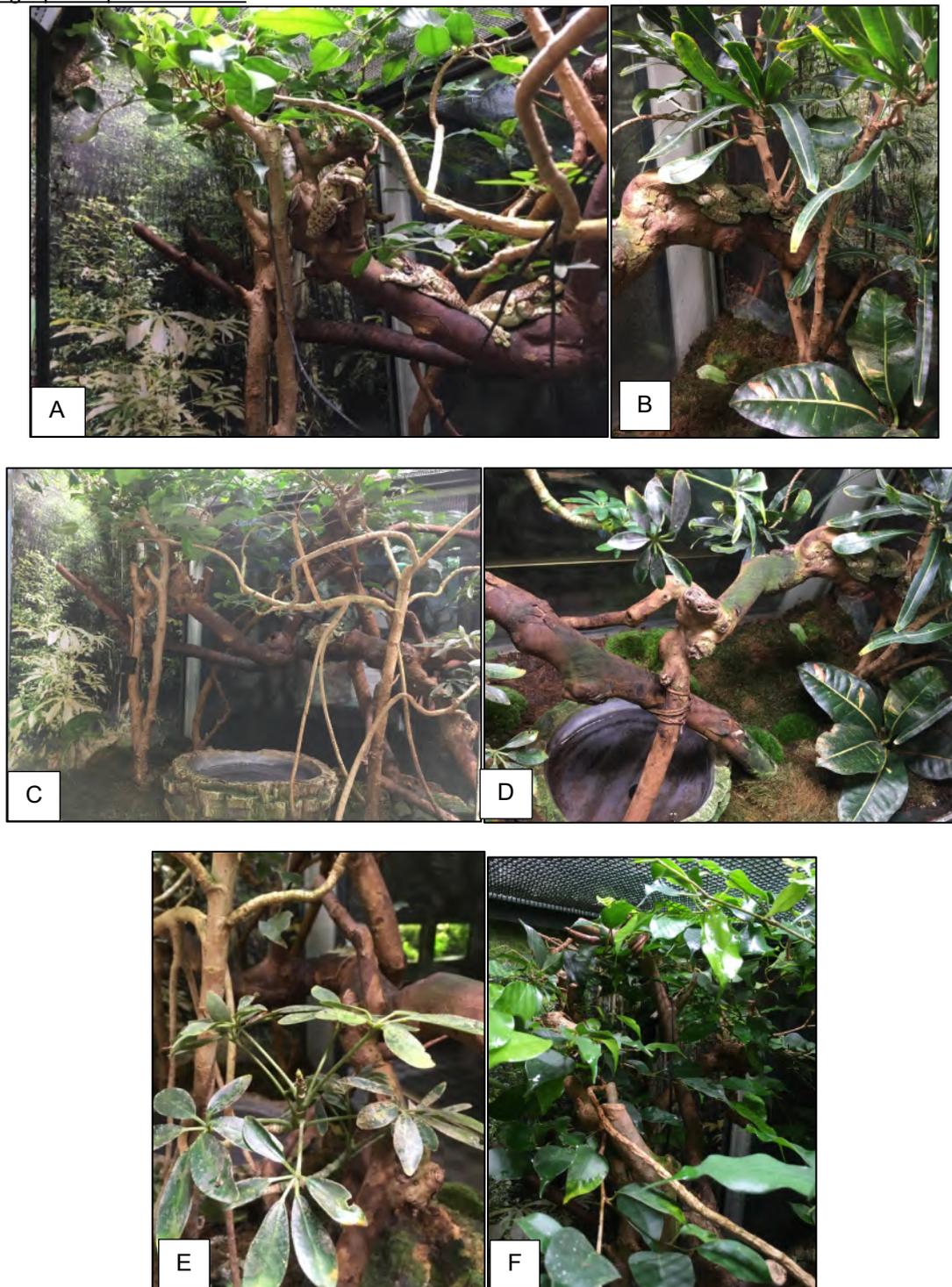
Le substrat se compose d'un mélange de tourbe et de terreau, et de la mousse de sphaigne (*Sphagnum*). Il est généralement renouvelé lorsque la mousse est abimée, soit environ tous les mois. En cas de problème ou de souci sanitaire majeur (invasion de blattes (Blattodea)), c'est l'ensemble du terrarium qui est refait.

Le panneau profond du terrarium est recouvert d'une image illustrant une ambiance de forêt tropicale et opacifiant cette paroi.

Les bassins mesurent tous deux 24 x 25 cm sur 5 cm de profondeur. Ils sont remplis quotidiennement à 80-90 % de leur capacité maximale avec de l'eau en provenance direct du réseau, après nettoyage. Avant remplissage, l'eau n'est ni ramenée à température ambiante (le robinet ne permettant pas le réglage de la température) ni laissée reposer. Toutefois, les animaux sont rarement retrouvés dans les bassins après leur remplissage. Elle aurait donc le temps d'atteindre la température ambiante du terrarium avant que les grenouilles ne s'y baignent.

Le terrarium de réserve se trouve dans les locaux privés du terrarium, hors de vue du public. Il est aménagé à l'aide de plantes et d'un substrat similaire à ceux du terrarium d'exposition. Le bassin est constitué d'un récipient carré en plastique de 14,3 cm de côté et 6 cm de profondeur, avec un treillis en nylon servant d'échelle. Un rocher est également disposé au centre du terrarium. Contrairement au terrarium d'exposition, la décoration est plus simple et moins dense ; il n'y a pas de cachettes à proprement parler (Figure 81).

Figure 80 : Environnement créé au sein du terrarium d'exposition des rainettes Kunawalu, photographies personnelles.



Ces photographies permettent de rendre compte de l'aménagement du terrarium d'exposition des rainettes Kunawalu.

(A) et (C) illustrent la partie gauche du terrarium, (B) et (D), la partie droite. Nous observons la présence de branches de platane procurant des perchoirs aux animaux, ainsi que de croton (*Codiaeum variegatum*), de *Ficus* (F) et de *Schefflera arboricola* (E). (C) et (D) permettent de localiser les deux bassins présents au sein du terrarium, situés sous les feuillages. Ces derniers sont dépourvus de plantes et l'eau y est maintenue en place grâce à un obturateur.

Figure 81 : Aménagement de l'environnement au sein du terrarium de réserve, photographies personnelles.



On retrouve ici un aménagement plus sobre avec comme plante, *Schefflera arboricola* ainsi qu'un rocher en guise de perchoir. On note l'absence de cachette spécifique. Les vitres sont ici transparentes, sans élément d'opacification. Un petit récipient d'eau est présent dans le terrarium mais n'est pas visible sur cette photographie.

D. Paramètres environnementaux

1) Éclairage

L'éclairage se fait au moyen d'une lampe LED, assurant une photopériode constante de 12 h (8 h à 20 h) tout au long de l'année à l'aide d'un minuteur automatique. Une lampe halogénée de 150 W était autrefois utilisée mais a été retirée car elle générait trop de chaleur.

2) Température et hygrométrie

À la Ménagerie, la totalité du Vivarium est en permanence chauffé en ambiance à 25°C. Les terrariums ne sont donc pas chauffés individuellement. Les rainettes Kunawalu ne disposent pas non plus d'un point chaud, qui aurait pu permettre la création d'un gradient de températures au sein du terrarium.

L'hygrométrie est maintenue grâce aux pulvérisations quotidiennes et à l'évaporation de l'eau des bassins. Une pulvérisation d'eau osmosée est réalisée chaque jour entre 10 et 12 h. En raison de la mauvaise isolation thermique du Vivarium, l'occurrence de fortes températures extérieures peut motiver une double pulvérisation quotidienne.

a) Objectif de l'étude expérimentale

Avant août 2020, aucun suivi de température ni d'hygrométrie sur l'ensemble des terrariums du Vivarium n'avait été réalisé. L'enregistrement des paramètres d'ambiance du terrarium des rainettes Kunawalu a

été débuté le 29 septembre 2020. Leur implication potentielle dans l'apparition des lésions rostrales observées sur les grenouilles de la collection a motivé cette étude spécifique.

L'objectif de cette étude était donc de procéder à un état des lieux des températures et de l'hygrométrie régnant au sein du terrarium en effectuant un suivi temporel. Les valeurs obtenues pourront alors être comparées aux recommandations de la littérature scientifique et d'éventuels écarts aux recommandations analysées en lien avec la pathologie cutanée ou dans le but d'optimiser les conditions de vie des animaux.

b) Hypothèses

Nous avons initialement supposé qu'un seul relevé quotidien de température suffirait car l'ambiance thermique au sein du vivarium est normalement très stable (sauf l'été où il peut faire très chaud en journée). La température au sein du terrarium devrait être identique à celle contrôlée par le thermostat du Vivarium, et celle de l'eau devrait être en équilibre avec celle-ci.

Toutefois pour valider cette hypothèse, nous avons décidé de mesurer la température en divers points du terrarium (Figures 82 et 83) en raison des micro-habitats pouvant exister, ainsi qu'à l'extérieur.

Une sonde de température a également été placée dans un bassin afin de vérifier l'hypothèse d'une stabilisation de la température moyenne de l'eau avec celle régnant au sein du terrarium. Le terrarium présentant deux bassins, séparés d'une dizaine de centimètres, de même contenance et placés à la même hauteur, nous supposons que l'eau qu'ils contiennent est à même température.

Les valeurs d'hygrométrie locale sont probablement largement influencées par la pulvérisation quotidienne d'eau osmosée intervenant à heure fixe et devant déterminer le profil des variations nyctémérales.

c) Matériels et méthodes

L'étude sera réalisée au sein du terrarium d'exposition des rainettes Kunawalu.

La température a été mesurée à l'aide de deux thermomètres-hygromètres (Thermo-Hygrometer Deluxe Pro) de la marque Lucky Reptile®. Ce modèle a l'avantage de posséder deux capteurs de température, dont un combiné avec un capteur d'hygrométrie, ainsi qu'une mémoire min/max des mesures de température et d'humidité relative à une précision de 0,1°C et 0,1 % près.

Les sondes sont placées de manière à obtenir les valeurs de température les plus représentatives possible du terrarium dans son ensemble. Elles ont été placées au niveau des sites préférentiels des animaux, en faisant en sorte d'avoir un point de mesure à chaque extrémité du terrarium et également dans un des bassins (Figure 82).

Figure 82 : Localisation des différents capteurs de température au sein du terrarium, vue côté visiteur (photographie de D. Duby, modifiée).

Les deux thermomètre-hygromètres sont nommés respectivement « G » et « D » selon leur localisation dans le terrarium à gauche et à droite, vue du côté des locaux du Vivarium. La sonde « in » combine un capteur de température et d'hygrométrie et la sonde « out » ne mesure que la température. Seule la sonde « out » est immersible. Afin de faciliter la compréhension, les sondes « out » et « in » se sont vues attribuer un nom.

Sauf mention spécifique, nous nous orienterons toujours par rapport à un terrarium vue du côté des soigneurs.



G : Gauche ; D : Droite ; Sonde (sol) = « inG » ; Sonde (extérieur) = « outG » ; Sonde (feuillage) = « inD » ; Sonde (eau) = « outD ».

Cette disposition a été choisie en privilégiant l'emploi des sondes mixtes au niveau des sites préférentiels de repos des animaux.

En effet, des observations attentives ont montré que les grenouilles fréquentaient majoritairement les branches. En hauteur, elles privilégiaient le côté droit, d'où le choix du placement de la sonde dans le feuillage à ce niveau. Près du sol, les grenouilles se retrouvaient surtout côté gauche, et aucune n'a été observée par terre du côté droit déterminant la localisation des mesures effectuées. La sonde « extérieur » a été fixée au treillis métallique, tout en haut du terrarium, dans un endroit dégagé.

Un relevé concomitant de la température et de l'hygrométrie sera réalisé trois fois par jour à heure fixe : 10 h, 12 h et 16 h. Ces horaires ont été choisis en prenant en compte les contraintes des soigneurs, afin qu'ils puissent participer à l'étude, tout en permettant un suivi assez régulier au cours de la journée. Les valeurs du thermomètre-hygromètre ont été relevés dans un tableau prévu à cet effet et affiché sur les portes du terrarium. Les valeurs de températures et d'hygrométries minimales et maximales atteintes au cours des 24 dernières heures ont aussi été notées avant de réinitialiser les appareils de mesure pour remettre la mémoire à zéro afin d'évaluer l'amplitude de variation des températures et de l'hygrométrie.

Les valeurs ont ensuite été recueillies par mes soins et reportées dans un tableur (Microsoft Excel®), permettant leur exploitation.

Nous avons remarqué en cours d'étude que les grenouilles avaient modifié leur site de repos préférentiel par rapport aux premières observations réalisées. Afin de suivre de façon plus pertinente les valeurs de température et d'hygrométrie préférées, nous avons décidé de déplacer les capteurs et de poursuivre l'étude avec des enregistrements au niveau des nouveaux sites représentés sur la Figure 83. Il en a

résulté deux périodes d'étude distinctes correspondant aux séries de mesures réalisées à des endroits différents du terrarium.

Figure 83 : Localisation des différents capteurs de température au sein du terrarium, vue côté visiteur au 10 octobre 2020 (photographie de D. Duby, modifiée).



Sonde (eau) = « inG » ; Sonde (feuillage G) = « outG » ; Sonde (extérieur D) = « inD » ; Sonde (sol D) = « outD ».

d) Résultats

Les graphiques ont été tracés en exploitant des valeurs minimales (Min) et maximales (Max) de température ou hygrométrie enregistrées sur 24 h au niveau des sondes « Feuillage », « Sol » et « Extérieur ». Les valeurs minimale et maximale d'une même sonde sont représentées par une même couleur afin de mieux différencier les sondes entre elles. La courbe supérieure de chaque couleur correspond aux valeurs maximales enregistrées au niveau de la sonde en question et la courbe inférieure, aux valeurs minimales enregistrées au niveau de la même sonde. Sur chaque graphique figurent les limites des intervalles des références de températures ou d'hygrométrie recommandées dans la littérature scientifique pour héberger des grenouilles en captivité.

Les résultats seront scindés selon la période d'étude et le paramètre considéré.

i. Période du 29 septembre au 9 octobre 2020

Température

Figure 84 : Variations de températures enregistrées au sein du terrarium d'exposition des rainettes Kunawalu entre le 29 septembre et le 9 octobre 2020.

Les lignes rouges nommées « Min » et « Max » délimitent les intervalles de référence en température décrites dans la littérature, soit respectivement 24°C et 30°C.

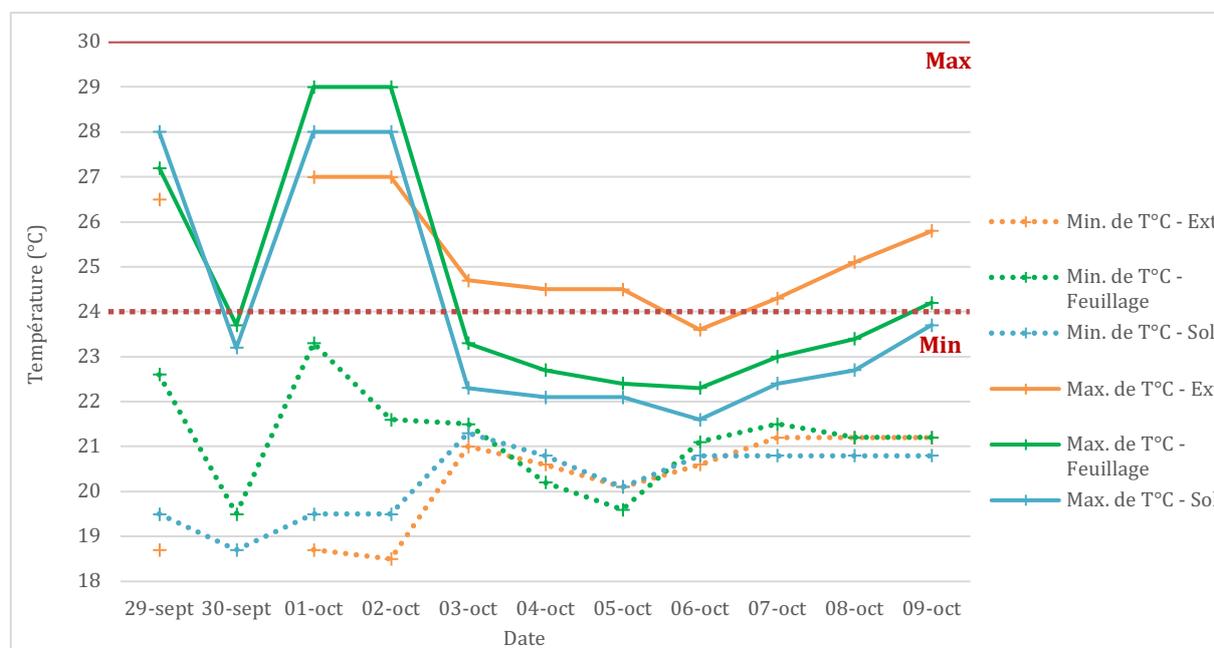


Tableau 20 : Présentation des résultats témoignant des variations de températures enregistrées au sein du terrarium d'exposition des rainettes Kunawalu entre le 29 septembre et le 9 octobre 2020, toutes sondes confondues.

Nombre de jours présentant au moins une valeur de température en dehors de l'intervalle (sur 11 jours)		11
Nombre maximum de jours consécutifs en dehors de l'intervalle		11
Nombre de jours où au moins une sonde enregistre des variations de températures entièrement en dehors de l'intervalle de référence		8
Différence minimale entre les valeurs minimales de température et la valeur seuil minimale (si température en dehors de l'intervalle) :	Sonde « Feuillage »	0,7°C
	Sonde « Sol »	2,7°C
	Sonde « Extérieure »	2,8°C
Différence maximale entre les valeurs minimales de température et la valeur seuil minimale :	Sonde « Feuillage »	4,5°C
	Sonde « Sol »	5,3°C
	Sonde « Extérieure »	5,5°C
Amplitude minimale de la variation de la température au sein d'une journée :	Sonde « Feuillage »	3°C
	Sonde « Sol »	1,2°C
	Sonde « Extérieure »	0,8°C
Amplitude maximale de la variation de la température au sein d'une journée :	Sonde « Feuillage »	7,4°C
	Sonde « Sol »	8,5°C
	Sonde « Extérieure »	8,5°C

Nous observons qu'aucune sonde n'enregistre des variations intégralement comprises entre les intervalles de référence (Figure 84). Chaque jour, un minimum de température inférieur à 24°C est

atteint au moins une fois au sein du terrarium pour chacune des sondes. Au cours des 11 jours où nous avons pu recueillir des mesures, nous avons remarqué des valeurs maximales en deçà du seuil minimal recommandé sur 8 jours consécutifs entre le 3 octobre et le 9 octobre à la fois pour la sonde « Feuillage » et la sonde « Sol » (Tableau 20). Cela ne se produit qu'une seule fois (6 octobre) pour la sonde « Extérieur ».

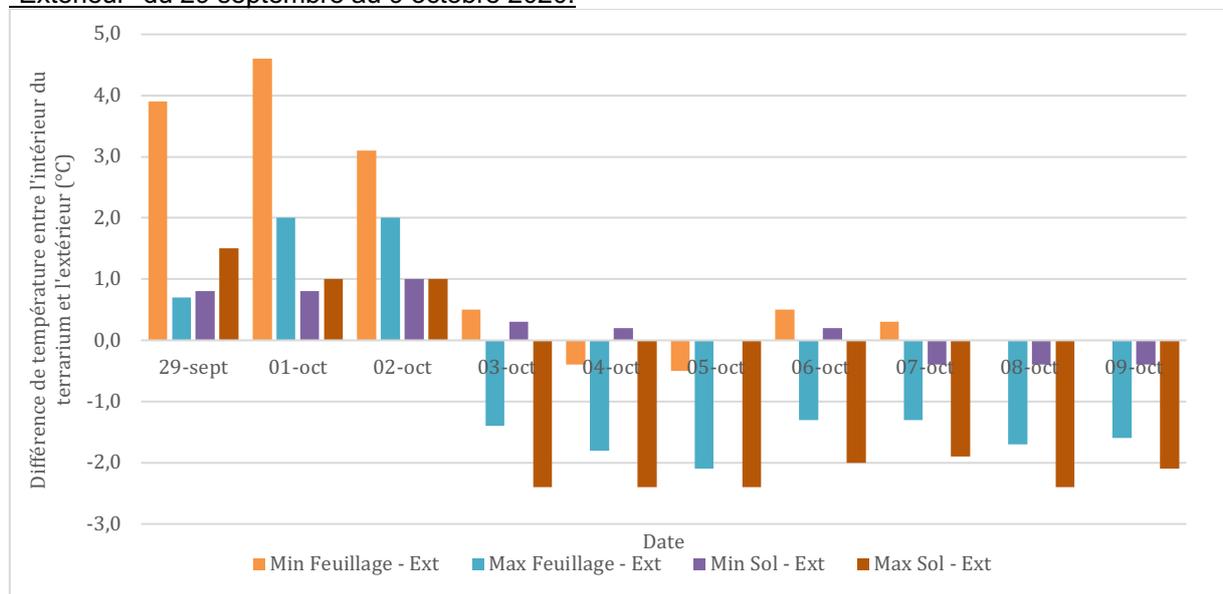
L'amplitude de la variation est particulièrement notable. En effet, les températures peuvent parfois présenter une différence de plus de 5°C avec le seuil minimal recommandé, davantage marquée au niveau de la sonde « Extérieure » (5,5°C) et dans une moindre mesure au niveau de la sonde « Feuillage » (4,5°C). Les variations sont généralement plus marquées au niveau de la sonde « Feuillage » où les températures présentent au moins une variation de 3°C (Tableau 20).

Au cours d'une journée, les amplitudes de variation peuvent également être importantes. L'amplitude la plus grande est enregistrée le 2 octobre toutes sondes confondues avec une variation des températures minimales et maximales enregistrées de 8,5°C au niveau des sondes « Extérieure » et « Feuillage ».

Les températures intérieures (sondes « Feuillage » et « Sol ») varient dans le même sens que la température extérieure, et cette dernière a tendance à être supérieure aux températures intérieures du terrarium.

Nous notons également que la température imposée par le thermostat du Vivarium soit 25°C ne permet pas d'obtenir une température stable à proximité immédiate du terrarium d'exposition des rainettes Kunawalu. En effet, les variations peuvent être très importantes ainsi que relevé plus haut. Les températures maximales enregistrées chaque jour au niveau de la sonde « Extérieur » semblent fluctuer entre 23,6°C et 27,0 °C (moyenne de 25,3°C sur l'ensemble de la période), les valeurs de température minimales sont inférieures à la température minimale de référence avec des valeurs entre 18,5°C et 21,2°C (moyenne de 20,2°C sur l'ensemble de la période) (Annexe 11).

Figure 85 : Différence de températures entre les sondes "Feuillage" et "Sol" par rapport à la sonde "Extérieur" du 29 septembre au 9 octobre 2020.

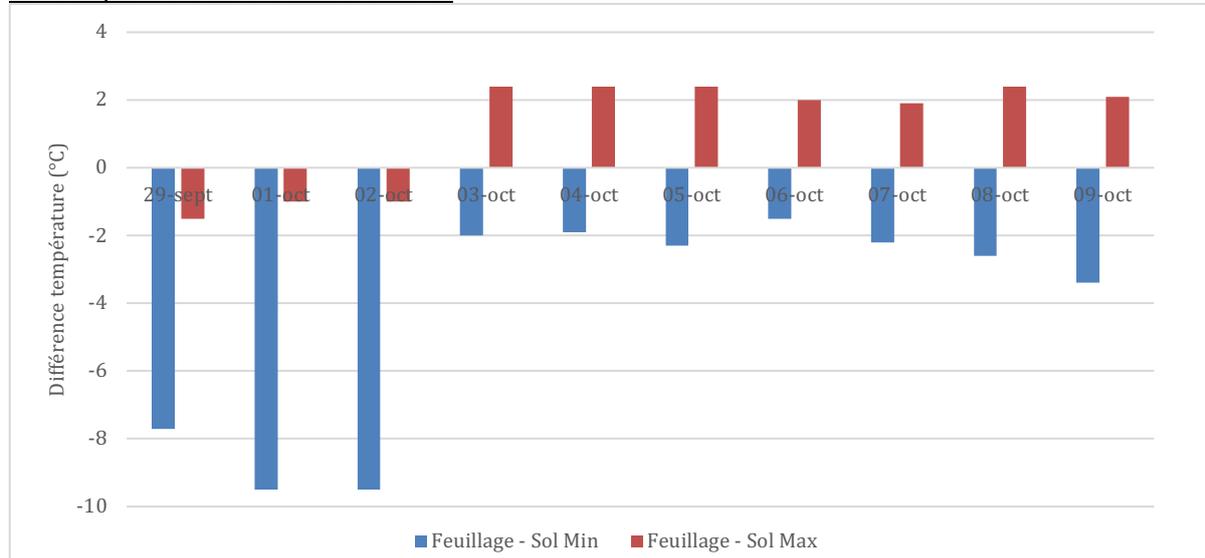


Sur la Figure 85, nous avons cherché à évaluer les variations observées au sein du terrarium, notamment au niveau des sondes « Feuillage » et « Sol », par rapport à la température extérieure enregistrée par la sonde « Extérieur » considérée comme mesurant la température régnant au sein du Vivarium à proximité immédiate du terrarium d'exposition des rainettes Kunawalu.

Il est rare d'observer une conservation de la température ciblée par le réglage du thermostat du Vivarium au sein du terrarium. En effet, nous constatons presque systématiquement une différence dans la

variation des températures entre l'extérieur et l'intérieur du terrarium (Annexe 12). En effet, au niveau de la sonde « Feuillage », nous relevons généralement une température inférieure à la température extérieure, de même qu'au niveau de la sonde « Sol », mais entre le 3 et le 9 octobre, les tendances s'inversent avec une température extérieure supérieure aux températures régnant au sein du terrarium.

Figure 86 : Différence des températures de la sonde « Feuillage » par rapport à la sonde « Sol » entre le 29 septembre et le 9 octobre 2020.

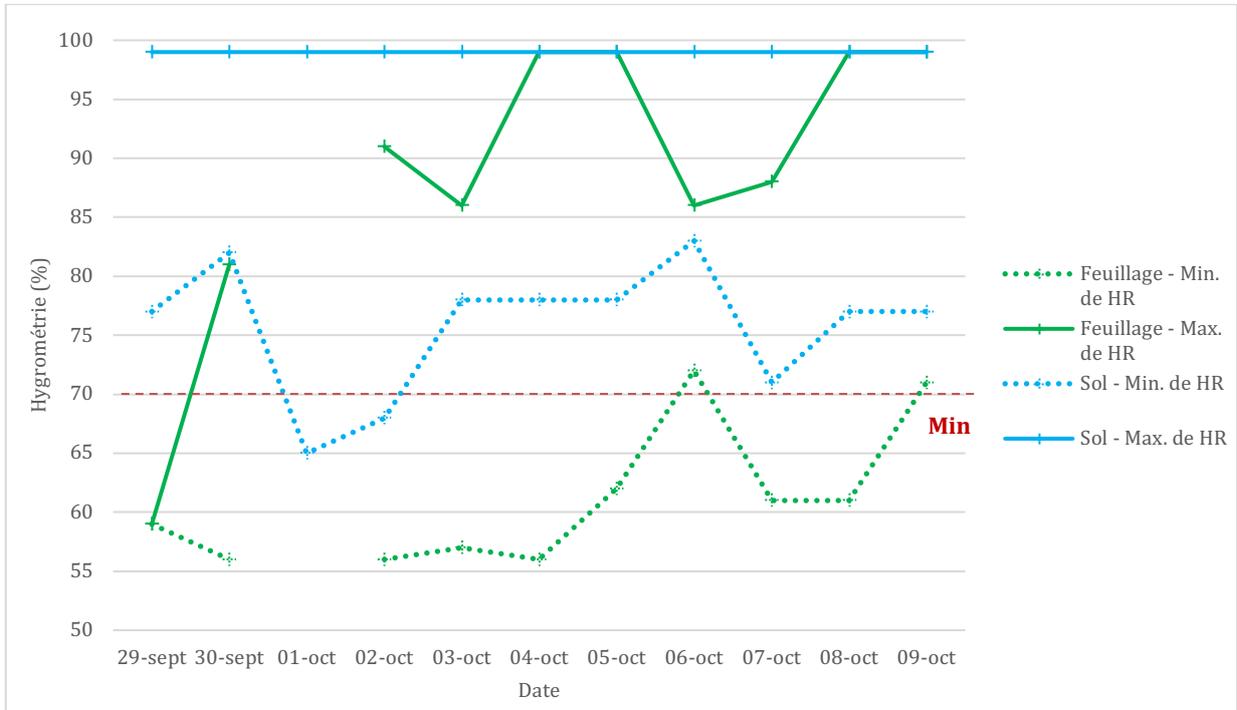


Les valeurs minimales de températures au niveau des feuillages sont toujours inférieures à celles retrouvées au niveau du sol. Les différences peuvent aller de 1,5 à 9,5°C d'écart. Les valeurs maximales de température ne suivent pas une tendance similaire. Entre le 29 septembre et le 2 octobre, les températures maximales au niveau des feuillages étaient inférieures à celles au niveau du sol avec une différence de 1 à 1,5°C entre les maximas. La tendance s'est ensuite inversée à partir du 3 octobre, et les variations étaient également plus marquées avec des différences de températures allant de 1,9 à 2,4°C (Figure 86).

Hygrométrie

Figure 87 : Variations de l'hygrométrie enregistrée au sein du terrarium d'exposition des rainettes Kunawalu entre le 29 septembre et le 9 octobre 2020.

La ligne rouge nommée « Min » situe le seuil minimum d'hygrométrie recommandée dans la littérature scientifique soit 70 %.



Sur la figure 87, nous observons que les valeurs d'humidité relative maximales sont généralement satisfaisantes et supérieures au seuil recommandé de 70 %.

Au niveau de la sonde « Sol », l'hygrométrie est toujours satisfaisante et supérieure au seuil recommandé, sauf de manière ponctuelle le 1^{er} et le 2 octobre 2020.

Au niveau de la sonde « Feuillage », l'hygrométrie est insuffisante. Les mesures rapportent fréquemment des mesures minimales plus basses que la valeur seuil de 70 % (8/11 jours) et ce, jusqu'à 4 jours consécutifs (Annexe 13).

ii. Période du 12 octobre 2020 au 11 janvier 2021

Température

Figure 88 : Variations de températures enregistrées au sein du terrarium d'exposition des rainettes Kunawalu entre le 12 octobre 2020 au 11 janvier 2021.

Les lignes rouges nommées « Min » et « Max » délimitent les intervalles de référence en température décrites dans la littérature, soit respectivement 24°C et 30°C.

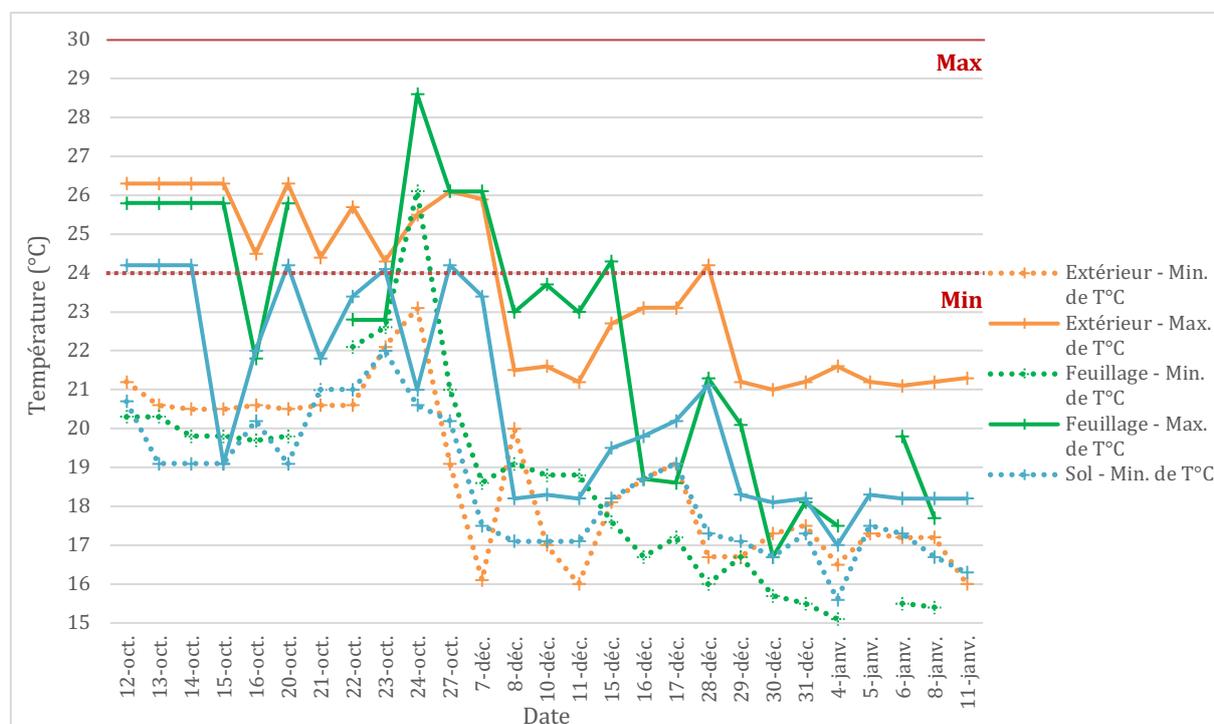


Tableau 21 : Présentation des résultats témoignant des variations de températures enregistrées au sein du terrarium d'exposition des rainettes Kunawalu entre le 12 octobre 2020 et le 11 janvier 2021, toutes sondes confondues.

Nombre de jours présentant au moins une valeur de température en dehors de l'intervalle (sur 27 jours)	27	
Nombre maximum de jours consécutifs en dehors de l'intervalle	27	
Nombre de jours où au moins une sonde enregistre des variations de températures entièrement en dehors de l'intervalle de référence	22	
Différence minimale entre les valeurs minimales de température et la valeur seuil minimale (si température minimale toujours inférieure à 24°C) :	Sonde « Feuillage »	Sans objet
	Sonde « Sol »	2°C
	Sonde « Extérieure »	0,9°C
Différence maximale entre les valeurs minimales de température avec la valeur seuil minimale :	Sonde « Feuillage »	8,9°C
	Sonde « Sol »	8,4°C
	Sonde « Extérieure »	8°C
Amplitude minimale de la variation de la température au sein d'une journée :	Sonde « Feuillage »	0,2°C
	Sonde « Sol »	0°C
	Sonde « Extérieure »	1,5°C
Amplitude maximale de la variation de la température au sein d'une journée :	Sonde « Feuillage »	7,5°C
	Sonde « Sol »	5,9°C
	Sonde « Extérieure »	9,8°C

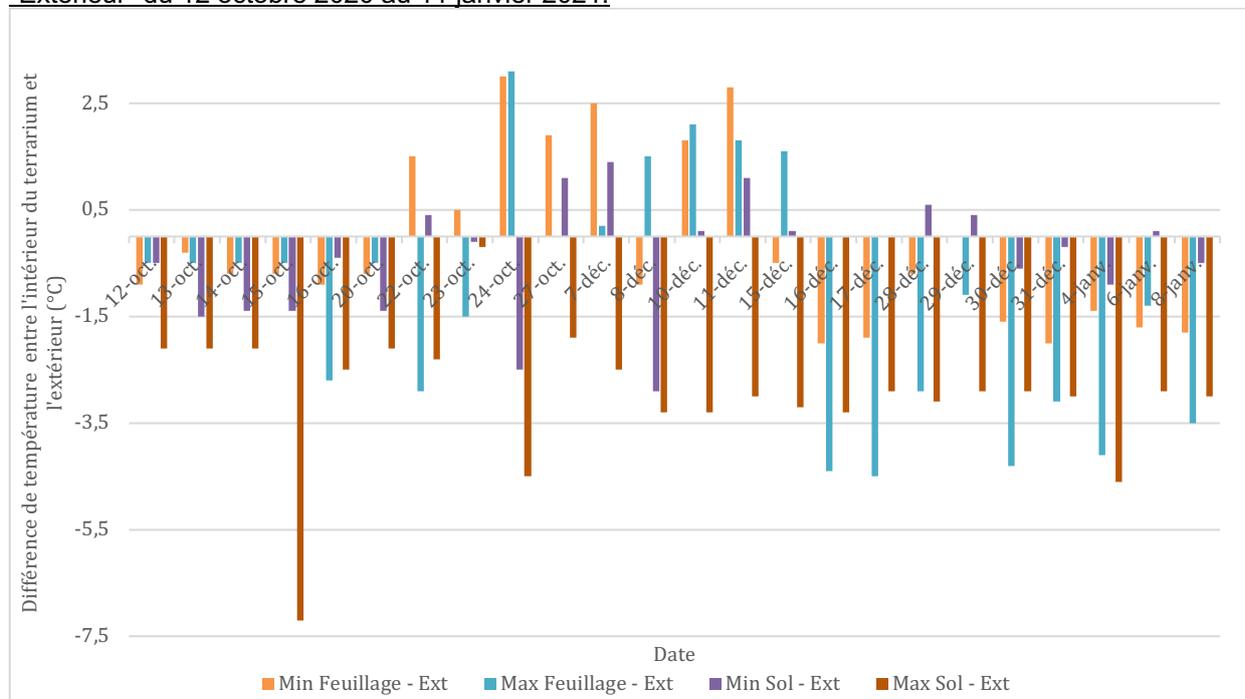
Sur la figure 88 représentant les variations des températures au sein du terrarium et à l'extérieur sur la période du 12 octobre 2020 au 11 janvier 2021, nous constatons que les températures enregistrées ont tendance à être inférieures au seuil minimal de 24°C, toutes sondes confondues, et ce, même en ce qui concerne les températures maximales enregistrées.

On note qu'il y a au moins une valeur de température en dehors de l'intervalle de référence chaque jour, toutes sondes confondues, sur l'ensemble de la période, et au moins une des sondes enregistre des températures inférieures à la valeur seuil de température minimale durant 22 jours consécutifs. Les différences de températures par rapport à la valeur seuil minimale peuvent atteindre jusqu'à 8°C en ce qui concerne la température « Extérieur », 8,9°C au niveau de la sonde « Sol » et 8,4°C au niveau de la sonde « Feuillage » (Tableau 21).

Au cours d'une journée, les amplitudes de variation sont également importantes. Les plus marquées ont été enregistrées début janvier (notamment le 4 janvier 2021) avec des températures particulièrement basses même au sein du terrarium (température minimale de 15,1°C au niveau de la sonde « Feuillage » et 15,6°C au niveau de la sonde « Sol » pour une température extérieure de 16,5°C). On note une amplitude de variation de 9,8°C le 11 janvier au niveau de la sonde « Extérieur » ! Les amplitudes de variation enregistrées par les sondes « Feuillage » et « Sol » sont également non négligeables avec des écarts allant jusqu'à 7,5°C et 5,9°C respectivement sur les relevés du 4 janvier 2021 (Tableau 21).

De façon similaire, la température imposée par le thermostat du Vivarium à 25°C ne permet pas d'obtenir une température stable à proximité immédiate du terrarium d'exposition des rainettes Kunawalu. Les températures maximales enregistrées chaque jour au niveau de la sonde « Extérieur » semblent fluctuer entre 16,0 et 23,1 °C (moyenne de 18,8°C sur l'ensemble de la période), les valeurs de températures minimales sont inférieures à la température minimale de référence avec des valeurs entre 21,0°C et 26,0°C (moyenne de 23,5°C sur l'ensemble de la période) (Annexe 14).

Figure 89 : Différence de températures entre les sondes "Feuillage" et "Sol" par rapport à la sonde "Extérieur" du 12 octobre 2020 au 11 janvier 2021.

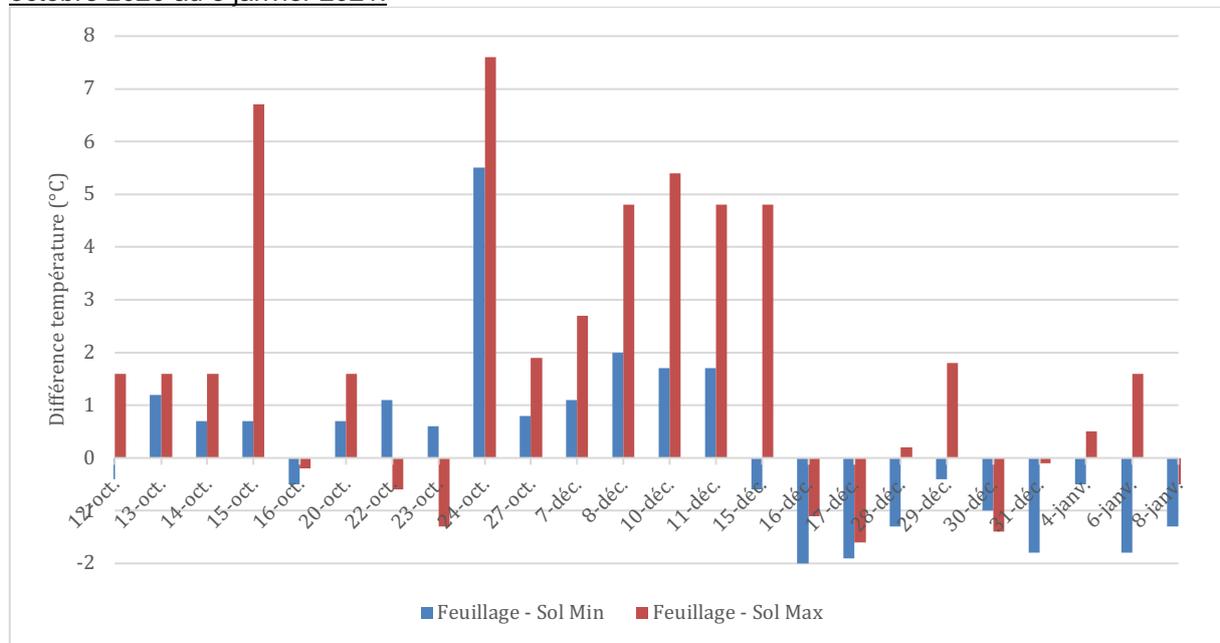


Sur la figure 89, nous cherchons à nouveau à évaluer les variations observées au sein du terrarium, notamment au niveau des sondes « Feuillage » et « Sol », par rapport à la température extérieure

enregistrée par la sonde « Extérieur » considérée comme mesurant la température régnant au sein du Vivarium à proximité immédiate du terrarium d'exposition des rainettes Kunawalu.

Il est rare d'observer une conservation de la température imposée par le thermostat du Vivarium au sein du terrarium. Cependant, sauf au niveau de la sonde « Feuillage » entre le 24 et 27 octobre et entre le 7 et le 15 décembre, et de façon ponctuelle au niveau de la sonde « Sol », les températures au sein du terrarium demeurent inférieures à la température extérieure.

Figure 90 : Différence des températures de la sonde "Feuillage" par rapport à la sonde "Sol" du 12 octobre 2020 au 8 janvier 2021.



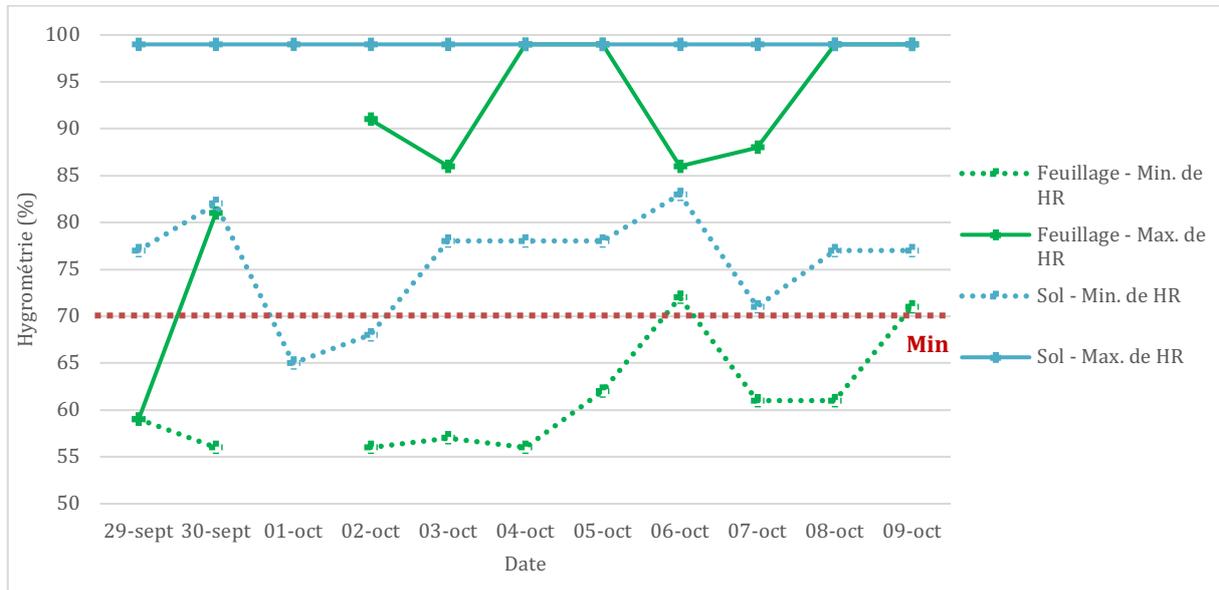
Dans la figure 90, à l'inverse de la figure 86, les valeurs de température enregistrées au niveau de la sonde « Feuillage » sont globalement supérieures à celles retrouvées au niveau « Sol », sauf sur la période du 16 et 17 décembre 2020, et du 31 décembre 2020 au 8 janvier 2021.

Les différences vont de 0,4 à 5,5°C d'écart concernant les valeurs minimales de températures, ce qui n'est pas négligeable, et vont de 0,2 à 6,7°C concernant les valeurs maximales.

Il semble exister un gradient vertical de températures entre les feuillages (coin supérieur gauche) et le sol (coin inférieur droit) entre le 12 octobre et le 15 décembre 2020, avec des températures supérieures généralement plus élevées, variant de 22°C à 29°C (moyenne à 24,7°C sur cette période) et 17,6°C à 26,1°C (moyenne à 20,3°C pour cette période) pour les valeurs basses au niveau des feuillages, contre 18,2°C à 24,2°C (moyenne à 21,9°C) et 17,1°C à 21,0°C (moyenne à 19,3°C) respectivement au niveau du sol. Ce gradient semble toutefois s'inverser sur la période du 16 et 17 décembre 2020, et du 31 décembre 2020 au 8 janvier 2021, tout en se réduisant en amplitude allant de 0,4°C à 2°C pour les valeurs minimales, et de 0,2 à 1,6°C pour les valeurs maximales.

Hygrométrie

Figure 91 : Variations de l'hygrométrie enregistrée au sein du terrarium d'exposition des rainettes Kunawalu entre le 29 septembre au 9 octobre 2020.

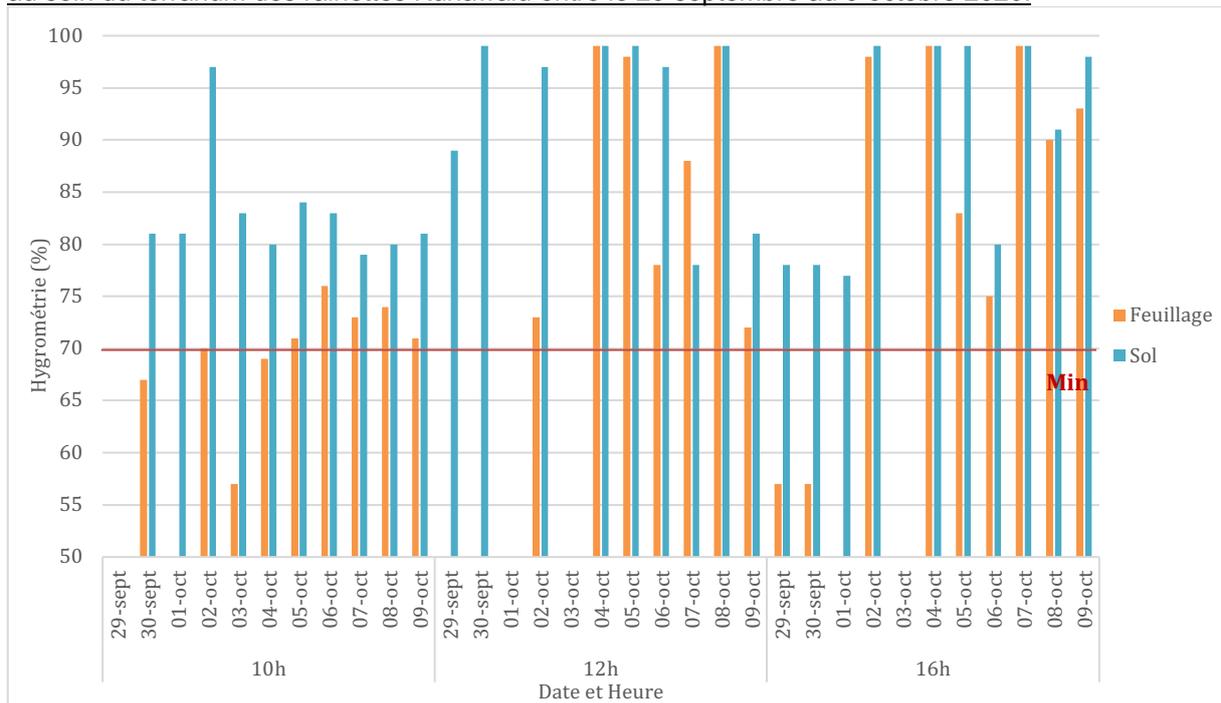


Sur la figure 91, nous observons que les valeurs d'humidité relative maximales sont généralement satisfaisantes et supérieures au seuil recommandé de 70 %.

Au niveau de la sonde « Sol », les valeurs d'humidité relative minimales atteintes sont très satisfaisantes mises à part deux valeurs inférieures à 70 % atteintes de façon ponctuelle le 1^{er} et 2 octobre 2020.

Au niveau de la sonde « Feuilleage », l'hygrométrie est clairement insuffisante. Les mesures rapportent fréquemment au moins une valeur inférieure à la valeur seuil de 70 % (7/9 jours, les jours où une donnée est manquante ne sont pas comptabilisés) et un minimum à 56 % est rapporté à trois reprises : le 30 septembre, le 2 et le 4 octobre 2020.

Figure 92 : Représentation des valeurs d'hygrométrie selon les heures de relevés au cours de la journée au sein du terrarium des rainettes Kunawalu entre le 29 septembre au 9 octobre 2020.



Lorsque l'on se penche plus précisément sur les relevés quotidiens à 10h, 12h et 16h (Figure 92), on observe que l'hygrométrie enregistrée au niveau de la sonde « Sol » se maintient tout au long de la journée au-dessus du seuil limite, comme observé dans la Figure 89. Au niveau de la sonde « Feuillage », il est fréquent d'observer des valeurs d'hygrométrie inférieures au seuil à 10h voire de façon occasionnelle à 16h (29 et 30 octobre). Cependant, pour les autres jours, les valeurs d'hygrométrie demeurent aux alentours de 70 %, ce qui reste correct. Ainsi, les valeurs minimales rapportés dans la figure 89 ne sont pas retrouvées durant la journée.

Figure 93 : Variations de l'hygrométrie enregistrée au sein du terrarium d'exposition des rainettes Kunawalu entre le 12 octobre 2020 au 11 janvier 2021.

La ligne rouge nommée « Min » situe le seuil minimum d'hygrométrie requise recommandée dans la littérature soit 70 %.



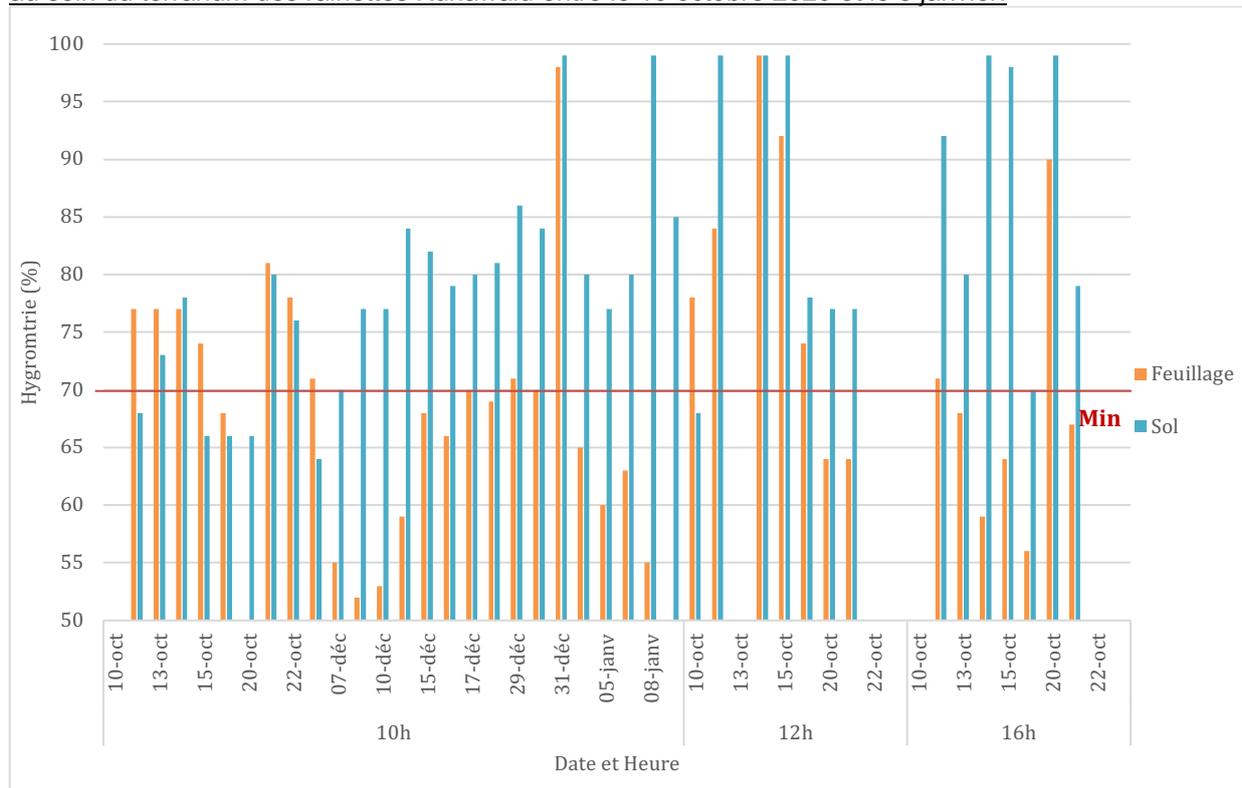
Sur la figure 93, nous observons que les valeurs d'humidité relatives maximales sont généralement satisfaisantes et supérieures au seuil recommandé de 70 %.

Au niveau de la sonde « Sol », les valeurs minimales d'humidité relative atteintes sont correctes mis à part entre le 12 octobre et le 20 octobre, ainsi que le 24 octobre et entre le 7 et le 8 décembre 2020, où elles peuvent descendre jusqu'à 57 %.

Au niveau de la sonde « Feuillage », l'hygrométrie est clairement insuffisante. Les mesures rapportent fréquemment un minimum d'au moins une valeur inférieure à la valeur seuil de 70 % (26/27 jours) et un minimum à 40 % est même rapporté le 4 janvier 2021.

Il est intéressant de noter que les valeurs minimales ne sont jamais enregistrées au cours de la journée, contrairement aux valeurs maximales, qui elles sont atteintes à 12h, après la brumisation de 11h (Figure 94). Cela suggère alors que les minima sont, soit atteints sur la période entre le relevé des mesures à 10h et la brumisation de 11h (il semble peu probable que l'humidité relative continue à diminuer après une pulvérisation), soit dans la nuit entre 16h et 10h le lendemain.

Figure 94 : Représentation des valeurs d'hygrométrie selon les heures de relevés au cours de la journée au sein du terrarium des rainettes Kunawalu entre le 10 octobre 2020 et le 8 janvier.



e) Complément à cette étude expérimentale

Une étude similaire a été réalisée en différé sur le terrarium de réserve, avec un seul thermomètre-hygromètre (Thermo-Hygrometer Deluxe Pro de la marque Lucky Reptile®) dont les sondes ont été placées au centre du terrarium, là où se trouve majoritairement la grenouille isolée, la sonde « out » étant placée en hauteur et la sonde « in » près du sol.

Un relevé des températures et de l'hygrométrie a été effectué trois fois par jour à heure fixe, en même temps que pour le terrarium principal, entre le 7 octobre 2020 et le 11 janvier 2021. Un relevé des valeurs maximales et minimales de température et hygrométrie enregistrées durant les dernières 24 h est également réalisé tous les matins à 10h, et la mémoire du thermomètre-hygromètre réinitialisé par la même occasion.

La température extérieure n'a pas été relevée au niveau de ce terrarium.

Figure 95 : Variations des températures enregistrées au sein du terrarium de réserve des rainettes Kunawalu entre le 7 octobre 2020 et le 11 janvier 2021.

Les lignes rouges nommées « Min » et « Max » délimitent les intervalles de référence en température décrites dans la littérature, soit respectivement 24°C et 30°C.

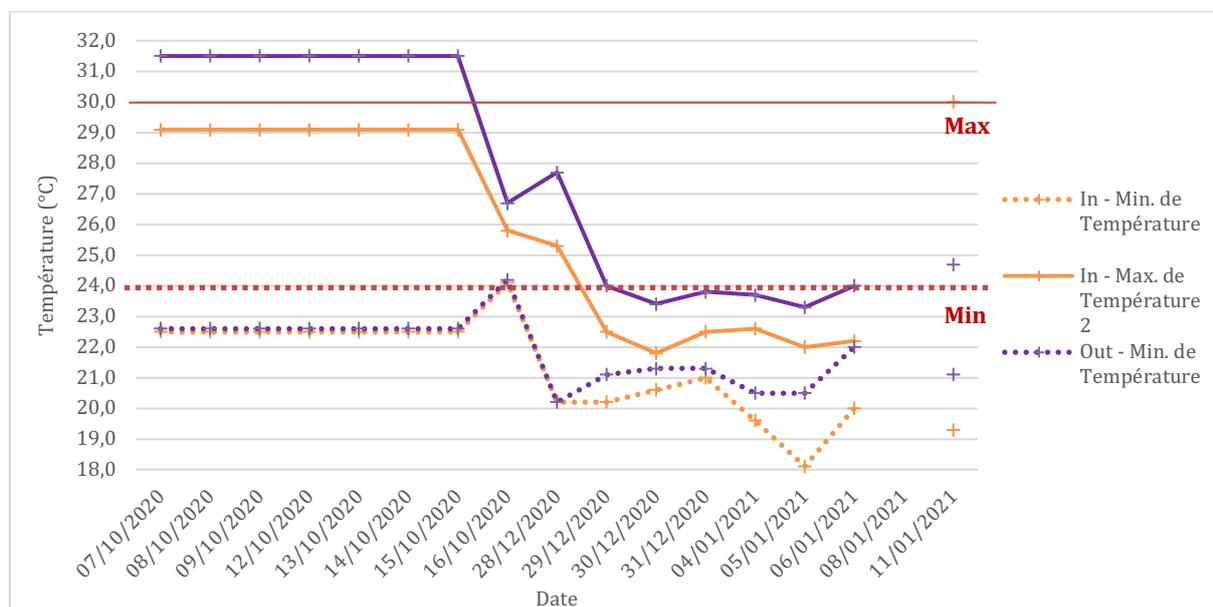


Tableau 22 : Présentation des résultats témoignant des variations de températures enregistrées au sein du terrarium de réserve des rainettes Kunawalu entre le 29 septembre et le 9 octobre 2020.

Nombre de jours présentant au moins une valeur de température en dehors de l'intervalle (sur 17 jours)	17	
Nombre maximum de jours consécutifs en dehors de l'intervalle	17	
Nombre de jours où au moins une sonde enregistre des variations de températures entièrement en dehors de l'intervalle de référence	12	
Différence maximale entre les valeurs minimales de température avec la valeur seuil minimale :	Sonde « In »	5,9°C
	Sonde « Out »	3,8°C
Différence maximale entre les valeurs maximales de température et la valeur seuil maximale :	Sonde « In »	0°C
	Sonde « Out »	1,5°C
Amplitude minimale de la variation de la température au sein d'une journée :	Sonde « In »	1,2°C
	Sonde « Out »	2,0°C
Amplitude maximale de la variation de la température au sein d'une journée :	Sonde « In »	10,7°C
	Sonde « Out »	8,9°C

Les températures semblent ici plus élevées que celles relevées dans le terrarium d'exposition (Figure 95). Les écarts aux valeurs de références (Tableau 22) sont également moins marqués que celles constatées dans le terrarium d'exposition où elles pouvaient dépasser 8°C (Tableaux 20 et 21). On observe même des valeurs de températures supérieures à 30°C entre le 7 octobre et le 15 octobre (31,5°C) au niveau de la sonde « Out ». Les températures maximales au niveau de la sonde « In » sont idéales (29°C) à cette période. Cependant, les températures chutent en dessous de 24°C, à 22,6°C, à un moment de la journée. A partir du 16 octobre, ces températures chutent et à partir du 30 décembre 2020, les températures ne dépassent plus sur 24 h le seuil des 24°C pour le reste de l'étude (Figure 95).

Les amplitudes de variations au sein d'une même journée peuvent être très importantes : par exemple 10,7°C le 11 janvier 2021 passant ainsi de 19,3°C à 30°C sur un nycthémère.

Figure 96 : Variation de l'hygrométrie enregistrée au sein du terrarium de réserve des rainettes Kunawalu entre le 7 octobre 2020 et le 11 janvier 2021.

La ligne rouge nommée « Min » démarque le seuil minimum d'hygrométrie requise recommandée dans la littérature soit 70 %.



Les valeurs maximales d'hygrométrie sont très satisfaisantes et se situent en moyenne à 96,1 %. Cependant, l'hygrométrie est encore une fois régulièrement insuffisante car elle descend tous les jours en dessous de 70 % et peut même attendre des valeurs très faibles autour de 58 %, voire 49 % comme cela est le cas le 15 octobre 2020 et le 11 janvier 2021, respectivement (Figure 96).

f) Discussion

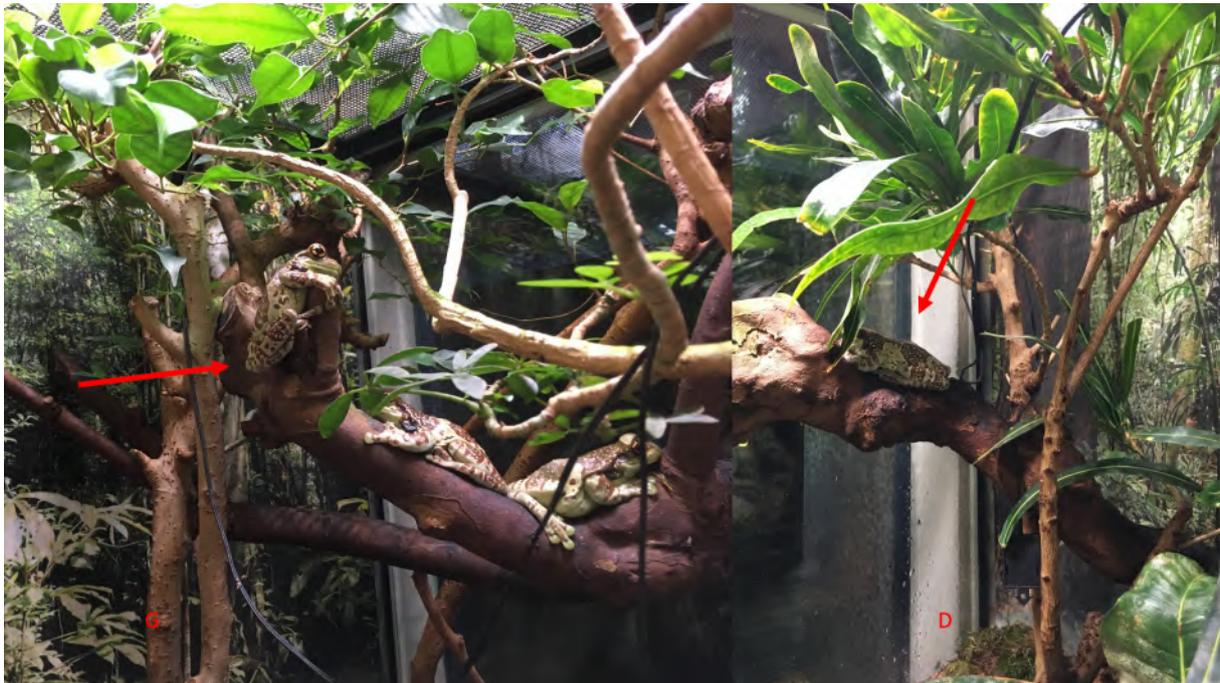
L'achat de thermomètre-hygromètres en prévision de cette thèse a permis d'initier un contrôle régulier des températures au sein des terrariums.

L'enregistrement des mesures devait initialement débuter en août 2020 et se poursuivre jusqu'en mars 2021. Cependant, en raison notamment de l'incapacité du personnel à effectuer les relevés au cours de l'année ainsi que des circonstances sanitaires liées à la crise de la COVID-19, la durée d'enregistrement s'en est trouvée d'abord réduite à mon stage qui s'est déroulé du 29 septembre au 09 octobre 2020. Un complément a pu être réalisé sur la période du 10 octobre 2020 au 11 janvier 2021 grâce à l'aide des Dr D. Duby et Dre P. Agnèse. Ainsi, les relevés ont essentiellement été réalisés par mes soins durant la première période d'étude, et par la Dre Agnèse par la suite. La stabilité des opérateurs, du matériel employé ainsi que l'affichage numérique des données au cours des deux périodes de l'étude permettent de garantir des bonnes reproductibilité et répétabilité de l'étude. Les biais devant être pris en compte sont des erreurs de lecture des valeurs indiquées par le thermomètre-hygromètre ou de reports des résultats sur Excel, des inconstances portant sur les heures de relevés, des écarts à la routine pouvant influencer l'évolution de la température (nettoyage ou brumisation plus tardives ou précoces, intervention sur le terrarium etc.) ou encore des oublis de réinitialisation de la mémoire des thermomètre-hygromètre (Tableau 23).

Les animaux étaient plus fréquemment retrouvés sur le branchage de droite, en hauteur, et à mi-hauteur à gauche sur les branchages, c'est pourquoi les sondes ont été placées en haut à droite du terrarium et en bas à gauche initialement afin de comprendre la raison de cette répartition différentielle et ce d'autant plus qu'on retrouvait également des individus au sol, près des bassins à gauche et vers le centre du terrarium. Cependant, nous avons constaté durant l'étude que les animaux fréquentaient finalement plus souvent la partie gauche du terrarium, en se plaçant en hauteur, sur les branches ou les parois. Les autres étaient à droite, à mi-hauteur sur les branchages. Ils se répartissaient donc de manière relativement équitable entre les parties droite et gauche du terrarium, tandis que l'espace central, le sol et les bassins étaient fréquemment déserts (Figure 97).

Figure 97 : Localisations préférentielles des rainettes Kunawalu au sein du terrarium d'exposition (photographies personnelles).

Les flèches rouges permettent de localiser les individus perchés. « G » désigne la gauche du terrarium, vue depuis les locaux du Vivarium, et « D » la droite du terrarium, vue depuis le même référentiel.



Si on compare les températures intérieures avec la température extérieure mesurée directement au niveau du terrarium, on observe que cette dernière est généralement plus élevée, ce qui signifie qu'il y a une perte de chaleur entre le chauffage du Vivarium et le terrarium. Ce dernier se situe juste à côté de la porte du service et des aller-retours sont fréquents à ce niveau, il est possible que cela provoque des courants d'air et une variation de température. De la même manière, les portes du Vivarium sont constamment ouvertes en journée pour les visiteurs, cela pourrait expliquer la variabilité de la température « extérieure ». À cela s'ajoute les variations de températures extérieures au bâtiment qui a des répercussions sur l'ambiance extérieure.

Nous pouvons également noter la présence d'un gradient de température vertical, entre l'extérieur et les feuillages, ainsi que l'extérieur et le sol. Il est possible d'observer une diminution allant jusqu'à 4,5°C (17 décembre 2020) de la température extérieure vers la température au niveau des feuillages, et jusqu'à 7,2°C (15 octobre 2020) entre la température extérieure et la température au niveau du sol.

Le gradient entre les feuillages et l'extérieur est visible sur l'analyse des températures maximales, mais est moins évident sur l'analyse des températures minimales. Il est difficile de conclure sur la présence ou l'absence d'un gradient horizontal au vu des résultats. Cependant, cela peut être discuté dans la mesure où le coin supérieur gauche du terrarium présente un niveau d'occupation plus important. En

l'absence de source de chaleur supplémentaire (lampe chauffante par exemple), il n'est pas aberrant de penser que les variations observées au sein du terrarium soient dues au manque d'isolation de la structure elle-même.

Au niveau de l'hygrométrie, nous constatons que les valeurs maximales sont très satisfaisantes, mais que ce pic est généralement atteint peu après la brumisation de 11h. À 16h, les valeurs minimales n'ont toujours pas été enregistrées ce qui suggère qu'elles surviennent possiblement durant la nuit (ou tout au moins entre 16h et 10h). Nous ignorons cependant la durée durant laquelle les grenouilles sont exposées à des valeurs les plus basses enregistrées comprises entre 50 et 40 %. Cependant, elles sont soumises à des valeurs minimales se situant systématiquement en-deçà de la valeur seuil de référence (70 %), et ce quelle que soit la période d'étude. Il pourrait être intéressant de doubler les pulvérisations, en complétant celle du matin par une seconde plus tardive avant le départ des soigneurs, afin de couvrir une période plus longue, durant la nuit notamment. Dans le cas où cette tâche deviendrait trop chronophage, un système de brumisation automatique pourrait également être envisagée.

Ainsi, nous constatons qu'il existe une variabilité des températures entre le terrarium et le milieu extérieur pouvant aller de minime ($< 1^{\circ}\text{C}$) à marquée ($> 7^{\circ}\text{C}$), ainsi qu'une étonnante hétérogénéité thermique au sein du terrarium selon que l'on se trouve au niveau des feuillages ou près du sol. Des différences locales pouvant être atteindre $6,7^{\circ}\text{C}$ entre les deux sondes internes ont mis en évidence l'existence probable d'un gradient vertical, bien qu'on ne puisse pas dire avec certitude que celui-ci soit toujours présent. Ce constat renforce l'intérêt de procéder à des relevés de températures ciblés et pertinents afin de mieux caractériser la variabilité des microclimats pouvant s'établir au sein du terrarium. Quant à l'hygrométrie, il semble exister un gradient vertical avec des valeurs d'humidité relative globalement supérieures près du sol par rapport au feuillage, ce qui semble être cohérent avec le fait que l'humidité relative diminue avec l'augmentation de la température.

Des soucis techniques ont entraîné une mise en route tardive du chauffage (fin novembre) au sein du Vivarium, les températures recueillies en septembre/octobre 2020 n'étaient donc possiblement pas représentatives des températures régnant au sein du terrarium les mois précédents, et en particulier l'année précédente lorsque la prévalence de lésions rostrales fut la plus forte.

Au niveau du terrarium de réserve, l'étude a été réalisée afin de compléter l'étude principale et de suivre les conditions environnementales dans lesquelles une grenouille en convalescence vivait. Nous avons constaté que les températures régnant au sein de ce terrarium étaient plus importantes (avec un maximum à $31,5^{\circ}\text{C}$ en début d'étude) mais qu'elles suivaient la même évolution à la baisse au cours du temps que le terrarium d'exposition.

Enfin, on notera que l'heure des relevés n'était pas toujours rigoureusement respectée en fonction de la charge de travail du jour. De nombreux manquements ont été notés et il arrivait parfois d'avoir des mesures décalées par rapport à l'horaire effectivement indiqué. On peut considérer que l'impact est moins significatif sur les relevés de température mais les relevés d'hygrométrie, sont davantage sensible à l'écart s'étant écoulé depuis la dernière la brumisation, qui n'est elle-même pas toujours effectuée à horaire fixe. Toutefois, nous avons privilégié l'analyse des amplitudes nyctémérales des paramètres climatiques ce qui minimise en un sens l'impact de ces décalages de relevés.

Il serait intéressant de connaître les durées précises (instantanée et en cumul sur une période donnée) durant lesquelles les animaux sont exposés à des conditions non optimales en valeurs absolues ainsi qu'à des fluctuations d'amplitude significatives. Il pourrait également être intéressant de poursuivre l'étude sur une durée plus longue afin de cartographier les différents microclimats existant au sein du terrarium, en continuant les relevés de température/hygrométrie et en les comparant de façon plus fine à l'occupation de l'espace par les animaux, afin d'identifier des liens éventuels entre l'utilisation différentielle du terrarium et paramètres d'ambiance micro-locaux. De plus, cela pourrait nous permettre de définir des conditions préférentielles privilégiées par les animaux au sein du Vivarium et de les confronter aux données de la bibliographie. Un compromis possible entre l'occupation de l'espace

conditionnée par les paramètres d'ambiance régnant au sein du terrarium et l'aménagement du terrarium en lui-même pourrait alors être recherché. En effet, nous ne pouvons pas exclure le fait que les animaux choisissent de façon préférentielle de se percher sur les branches ou de se mettre à l'abri des regards entre les feuillages, au détriment de conditions environnementales qui leur seraient possiblement plus profitables.

3) Qualité de l'eau

À la Ménagerie, aucun test sur la qualité de l'eau n'avait été réalisé jusqu'à aujourd'hui.

a) Nettoyage des bassins

La procédure de nettoyage consiste à vider entièrement et nettoyer les bassins du terrarium tous les jours, opération effectuée par les soigneurs, entre 10 h et 12 h. Les bouchons sont retirés pour permettre d'évacuer l'eau. Ensuite, une brosse imbibée de solution d'hypochlorite de soude dosée à 2,5 % en chlore actif est utilisée pour frotter le fond et les parois intérieures des bassins. Puis, les bassins sont rincés une à deux fois avec un jet d'eau. Lors du rinçage, de légères projections d'eau en dehors des bassins peuvent survenir. Enfin, les bassins sont ensuite remplis directement au moyen d'un tuyau délivrant de l'eau du réseau.

Le détail du protocole de nettoyage instauré par la Ménagerie est disponible en annexe (Annexe 15).

b) Analyse expérimentale de la qualité de l'eau :

i. Objectif

Comme nous avons pu le voir précédemment, la peau des amphibiens est un organe particulièrement perméable, ce qui rend les grenouilles très sensibles à la qualité de l'eau. Bien que la Rainette Kunawalu ne soit pas une espèce aquatique vivant en permanence dans l'eau, elle en dépend fortement, absorbant l'eau de son environnement par la peau et en se baignant occasionnellement. Elles peuvent également absorber les gouttes d'eau en suspension créées par l'évaporation de l'eau du bassin et lors des pulvérisations. Cette étude avait pour objectif de caractériser la qualité de l'eau mise à disposition des animaux, juste après le nettoyage et le remplissage des bassins, ainsi que 24 h plus tard avant que les soigneurs procèdent à son renouvellement. Les résultats pourraient permettre d'étendre la mise en place d'un protocole d'analyse de la qualité de l'eau à d'autres terrariums du Vivarium où elle pourrait constituer un facteur critique, en particulier pour les amphibiens aquatiques de la collection.

ii. Hypothèses

Nous savons désormais que les facteurs les plus importants à contrôler en termes de qualité de l'eau sont la présence d'ammonium, de nitrites et nitrates, le pH, la dureté et les phosphates, en plus de sa température qui a été abordée dans la partie précédente (Odum et Zippel, 2008).

Le cycle de l'azote permet la métabolisation de l'ammonium par les bactéries en nitrites puis en nitrates qui pourront ensuite être utilisés par les plantes. Dans le terrarium cependant, les plantes ne sont pas en contact avec les bassins, les nitrates ne peuvent donc être directement disponibles pour les végétaux et seront donc amenés à s'accumuler jusqu'au prochain changement d'eau. Enfin, suite à la production des déchets métaboliques, majoritairement azotés, nous pouvons nous attendre à une alcalinisation de l'eau au cours du temps. Cependant, l'eau du réseau d'Ile-de-France étant réputée calcaire, la dureté de l'eau devrait être élevée, et les variations de pH en conséquence être peu importantes.

Les bassins étant remplis directement après un nettoyage satisfaisant avec l'eau du réseau, on ne s'attend pas à une présence importante de chlore dans l'eau renouvelée. Cependant, l'eau n'étant pas « vieillie » avant son utilisation, la présence résiduelle de cet agent désinfectant ne peut être totalement

exclue et mérite d'être vérifiée. La température de l'eau du robinet n'est pas modulable et est supposée inférieure à la température ambiante du terrarium au moment du remplissage.

La qualité de l'eau du réseau et de l'eau osmosée est considérée comme peu par rapport à celle des bassins, et leur contrôle pourra être davantage espacé. Nous avons que l'eau contenue dans les deux bassins présentaient les mêmes caractéristiques.

iii. Matériels et méthodes

Les analyses de qualité de l'eau ont été réalisées à l'aide de kits d'analyses initialement destinés aux poissons d'aquarium. Il n'a pas été possible d'obtenir la sensibilité et la spécificité réelle des tests auprès des développeurs et le choix des produits s'est essentiellement basé sur un retour d'expériences des biologistes de l'Aquarium de Paris qui estiment la marque JBL® fiable, et l'utilisent au quotidien. De plus, le choix devait également prendre en compte, le fait que le test soit disponible sur le marché, facile et rapide à utiliser, et suffisamment précis. Les tests colorimétriques ont alors été privilégiés par rapport aux tests par bandelette. Ces derniers ont néanmoins été utilisés pour explorer un paramètre dont l'estimation n'existait pas sous forme de test colorimétrique. Enfin, nous avons choisi de privilégier une marque unique pour conserver une cohérence entre les résultats et éviter des biais liés à la fabrication des tests.

Monographie des tests de qualité de l'eau utilisés (JBL, 2021)

La figure 98 présente l'ensemble des tests de qualité de l'eau utilisés durant l'étude.

Figure 98 : Présentation des tests de qualité de l'eau.

JBL PROAQUATEST COMBISET Plus NH4®	Test KH : dureté carbonatée et stabilité du pH de l'eau.
	Test NO ₂ : détermination du taux de nitrites, toxiques pour les animaux.
	Test NO ₃ : détermination du taux de nitrates (cause des algues et nutriment pour les plantes).
	Test NH ₄ / NH ₃ : estimation de l'ammonium non toxique, calcul de l'ammoniac toxique sur tableau.
	Test pH 3,0 – 10,0.
JBL PROAQUATEST pH 7,4 – 9,0®	Test pH 7,4 – 9,0.
JBL PROAQUATEST GH®	Test GH : détermination de la dureté totale.
JBL PROAQUATEST EASY 7in1®	Test dichlore Cl ₂ : recherche de traces de désinfectants dans l'eau.
	Test pH 6,4 à 9,0.
	Test KH de 0 à 20 °dH.
	Test GH de <1 à >21 °dH.
	Test NO ₂ de 0 à 10 mg/l.
	Test NO ₃ de 0 à 250 mg/l.

Pour tous les tests colorimétriques, les flacons compte-gouttes doivent être tenus bien à la verticale avec l'embout vers le bas, et leur contenu versé sans produire de bulles d'air.

La concentration des différents éléments testés est estimée par comparaison de la coloration obtenue à l'équivalence lors du titrage, avec l'échelle de teintes fournie avec les tests.

- **JBL PROAQUATEST KH®**

Ce test permet de mesurer la dureté carbonatée, également appelée alcalinité, et estime la capacité d'une solution à neutraliser les acides. Une grande partie des sels dissous sont des carbonates alcalino-terreux et des hydrogénocarbonates alcalins. Avec les carbonates et le dioxyde de carbone, les hydrogénocarbonates constituent un système tampon important qui empêche les fluctuations importantes du pH dans l'eau. La dureté carbonatée mesurée donne la concentration totale d'hydrogénocarbonates dans l'eau et peut, dans certains rares cas (en cas de présence principale

d'hydrogénocarbonates alcalins comme dans les lacs d'Afrique de l'Est), être plus élevée que la dureté totale où on ne tient compte que des sels alcalino-terreux. La dureté carbonatée recommandée pour les espèces d'eau douce est de 5 à 12°dH.

Protocole :

- Rincer l'éprouvette plusieurs fois avec l'eau à tester.
- Remplir l'éprouvette avec 5 mL d'eau à tester à l'aide d'une seringue de 5 mL.
- Ajouter du réactif goutte à goutte. Agiter après chaque goutte et compter les gouttes jusqu'à ce que le bleu passe au jaune orangé.

Interprétation et solutions possibles :

Une goutte de solution réactive correspond à 1 degré de dureté carbonatée allemande (°dH), à 1,78 degré de dureté française (°fH), à une alcalinité de 0,36 mmol/L et à une teneur en hydrogénocarbonates de 21,8 mg/L.

- Si la valeur obtenue est trop faible par rapport aux valeurs usuelles, il est conseillé de recourir à des conditionneurs d'eau contenant des hydrogénocarbonates ou à des mélanges de sels minéraux.
- À l'inverse, si elle est trop élevée, il faut adoucir l'eau avec un dispositif d'osmose inversée.

• **JBL PROAQUATEST GH®**

La dureté totale correspond à la concentration totale des ions alcalino-terreux dans l'eau. Pasmans et Martel (2019b) recommandent une dureté modérée se situant entre 8°dH et 18°dH ou 2,9 et 6,5 mEq/L, pour les amphibiens.

Protocole :

- Rincer l'éprouvette plusieurs fois avec l'eau à tester.
- Remplir l'éprouvette avec 5 mL d'eau à tester à l'aide d'une seringue de 5 mL.
- Ajouter du réactif goutte à goutte. Agiter après chaque goutte et compter les gouttes jusqu'à ce que le rouge passe au vert.

Interprétation :

Une goutte de solution réactive correspond à 1 degré de dureté carbonatée allemande (°dH), à 1 degré de dureté totale française (°fH), à 1,25 degré (°e) anglais.

- Une valeur trop faible doit inciter à compléter en sels minéraux.
- A l'inverse, lors de valeurs trop élevées, il est conseillé d'adoucir l'eau avec un dispositif d'osmose inverse.

• **JBL PROAQUATEST pH 3-10®**

Il s'agit d'un test colorimétrique général pour un contrôle indicatif du pH sur une large fourchette. Le maintien aussi constant que possible d'un pH approprié est une condition importante pour le bien-être de tous les organismes aquatiques. Les fluctuations soudaines doivent être absolument évitées. D'autre part, de nombreuses substances dissoutes dans l'eau sont soumises à des modifications dues au pH. Par exemple, la quantité de CO₂ soluble dans l'eau dépend directement du pH. Le pH optimal pour la maintenance de la plupart des animaux se situe dans une plage neutre autour de 7.

Protocole :

- Rincer l'éprouvette plusieurs fois avec l'eau à tester.
- Remplir l'éprouvette avec 5 mL d'eau à tester à l'aide d'une seringue de 5 mL.
- Ajouter 5 gouttes de réactif, agiter pour mélanger et laisser reposer 5 minutes.

- Comparer la couleur obtenue sur fond blanc avec le nuancier fourni et relever le pH correspondant.

Interprétation et solutions possibles :

- Si la valeur de pH est trop faible, il est recommandé de le relever en ajoutant des éleveurs de pH.
- Si elle est trop élevée, il faut abaisser le pH en ajoutant un réducteur de pH ou, pour les aquariums d'eau douce, en ajoutant du CO₂ avec le système de fertilisation au CO₂ Proflora® de la marque JBL.

- **JBL PROAQUATEST pH 7.4-9.0®**

Il s'agit d'un test colorimétrique à graduation fine pour le contrôle de routine d'une eau légèrement alcaline, à l'instar de celle que l'on trouvait dans les bassins du terrarium, après les premiers résultats obtenus avec l'indicateur de pH plus large. Il est possible d'avoir des résultats fiables et précis même dans le cas d'une eau légèrement colorée (filtration sur tourbe ou lors d'un traitement médical) grâce à ce test.

Protocole :

- Rincer les deux éprouvettes plusieurs fois avec l'eau à tester.
- Remplir chacune des deux éprouvettes avec 5 mL d'eau à tester à l'aide d'une seringue de 5 mL.
- Ajouter 4 gouttes de réactif dans une des deux éprouvettes, agiter pour mélanger et laisser reposer 3 minutes.
- Placer les deux éprouvettes dans le bloc comparateur, l'éprouvette contenant de l'eau non traité à l'extrémité encochée du bloc comparateur.
- Placer le bloc comparateur avec les deux éprouvettes sur le nuancier de manière à ce que l'encoche soit dirigée vers les chiffres et le déplacer sur le nuancier jusqu'à ce que la couleur de l'échantillon mélangé au réactif corresponde le plus possible à la couleur se trouvant sous l'échantillon vierge.
- Relever le pH correspondant dans l'encoche du comparateur (Figure 99).

Interprétation et solutions possibles :

- Si la valeur est trop faible, il faut relever le pH en ajoutant des éleveurs de pH ou réduire l'apport de CO₂ s'il y a lieu.
- Si la valeur est trop élevée, il faut abaisser le pH en ajoutant du réducteur de pH ou rajouter du CO₂.

Figure 99 : Lecture des résultats du colorimétrique de pH, photographie personnelle.



- **JBL PROAQUATEST NH4®**

Ce test permet la mesure de la teneur en ammonium/ammoniac de l'eau. La dégradation de toutes les matières organiques s'inscrit dans le cycle de l'azote décrit précédemment. En temps normal, dans un bassin correctement aménagé ou équipé d'un filtre biologique performant, les nitrites ne peuvent pas être détectés. L'ammonium est un nutriment des plantes et normalement, en faible concentration, il n'est

pas toxique pour les organismes aquatiques. En fonction du pH, il peut toutefois y avoir formation d'ammoniac toxique (NH_3) à partir d'ion d'ammonium NH_4^+ , c'est pourquoi la mesure de l'ammonium doit toujours s'accompagner d'une mesure de pH.

Protocole :

- Rincer les deux éprouvettes plusieurs fois avec l'eau à tester.
- Remplir chacune des deux éprouvettes avec 5 mL d'eau à tester à l'aide d'une seringue de 5 mL.
- Ajouter 4 gouttes du réactif n°1 dans une des deux éprouvettes, agiter pour mélanger. Ajouter ensuite 4 gouttes de réactif n°2, mélanger puis ajouter 5 gouttes du réactif n°3 et mélanger. Laisser reposer 15 minutes jusqu'au changement de couleur complet.
- Placer les deux éprouvettes dans le bloc comparateur, l'éprouvette contenant de l'eau non traité à l'extrémité encochée du bloc comparateur.
- Placer le bloc comparateur avec les deux éprouvettes sur le nuancier de manière à ce que l'encoche soit dirigée vers les chiffres et le déplacer sur le nuancier jusqu'à ce que la couleur de l'échantillon mélangé au réactif corresponde le plus possible à la couleur se trouvant sous l'échantillon vierge.
- Relever la teneur en ammonium dans l'encoche du comparateur (Figure 100).

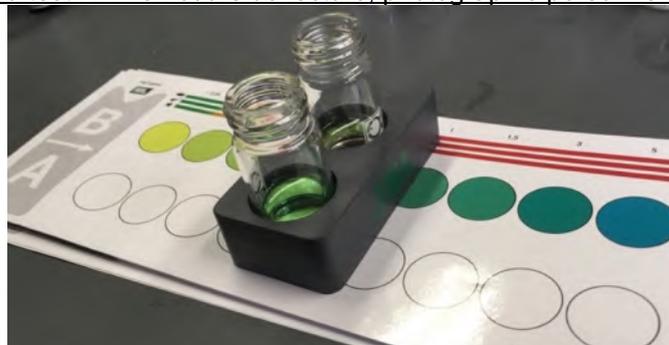
Interprétation et solutions possibles :

La concentration en ammonium ne doit pas dépasser 0,2 mg/L (Pasmans et Martel, 2019b).

Si la valeur est inférieure au seuil de référence, ce n'est pas un problème : le taux devrait toujours être le plus faible possible.

- Si la valeur trop élevée, il est recommandé d'utiliser un filtre biologique approprié, voire d'ajouter des bactéries dénitrifiantes. En mesure d'urgence, il est nécessaire de changer l'eau. Il faut également envisager de réduire la population d'animaux hébergés.

Figure 100 : Résultat du test NH_4 en cours de lecture, photographie personnelle.



• **JBL PROAQUATEST NO2®**

Ce test permet le contrôle de la teneur en nitrites. Les nitrites sont toxiques au même titre que l'ammoniac. Pasmans et Martel (2019b) recommandent de ne pas dépasser une concentration de 0,1 mg/L. Leur teneur s'accroît lorsque l'activité des bactéries dénitrifiantes diminue avec les températures basses ou qu'on nourrit les animaux avec des aliments riches en protéines.

Protocole :

- Rincer les deux éprouvettes plusieurs fois avec l'eau à tester.
- Remplir chacune des deux éprouvettes avec 5 mL d'eau à tester à l'aide d'une seringue de 5 mL.
- Ajouter 5 gouttes du réactif n°1 dans une des deux éprouvettes, agiter pour mélanger. Ajouter ensuite 5 gouttes de réactif n°2 et mélanger. Laisser reposer 5 minutes jusqu'au changement de couleur complet.

- Placer les deux éprouvettes dans le bloc comparateur, l'éprouvette contenant de l'eau non traité à l'extrémité encochée du bloc comparateur.
- Placer le bloc comparateur avec les deux éprouvettes sur le nuancier de manière à ce que l'encoche soit dirigée vers les chiffres et le déplacer sur le nuancier jusqu'à ce que la couleur de l'échantillon mélangé au réactif corresponde le plus possible à la couleur se trouvant sous l'échantillon vierge.
- Relever la teneur en nitrite dans l'encoche du comparateur (Figure 101).

Interprétation et solutions possibles :

- Comme précédemment, le taux devrait toujours être le plus faible possible.
- Si les valeurs obtenues sont trop élevées, il est recommandé d'utiliser un filtre biologique approprié et d'ajouter des bactéries dénitrifiantes, ainsi que d'effectuer un changement d'eau.

Figure 101 : Lecture des résultats des tests colorimétriques appliqués au test NO₂, photographie personnelle.



• **JBL PROAQUATEST NO3®**

Il permet le contrôle de la teneur en nitrates dans l'eau. Le cycle de l'azote assure une diminution de l'ammonium et des nitrites au cours du temps. Si cette tendance s'inverse, on peut être en présence d'une perturbation de la flore bactérienne. Une teneur en nitrates en augmentation continue accompagnée d'une teneur très faible ou indécélable en ammonium et en nitrites témoignent d'un bon fonctionnement du système bactériologique, mais aussi d'un équilibre insuffisant entre animaux (source d'azote) et plantes (consommateurs). Elle ne doit idéalement pas dépasser 30 à 50 mg/L.

Protocole :

- Rincer les deux éprouvettes plusieurs fois avec l'eau à tester.
- Remplir chacune des deux éprouvettes avec 10 mL d'eau à tester.
- Ajouter une grande cuillère (extrémité large de la double cuillère fournie) de réactif n°1 dans une des deux éprouvettes, agiter pour mélanger. Ajouter ensuite 6 gouttes de réactif n°2. Refermer l'éprouvette avec un bouchon et l'agiter vigoureusement jusqu'à ce qu'il ne reste plus que des résidus de poudre grise. Laisser reposer 10 minutes jusqu'au changement de couleur complet.
- Placer les deux éprouvettes dans le bloc comparateur, l'éprouvette contenant de l'eau non traité à l'extrémité encochée du bloc comparateur.
- Placer le bloc comparateur avec les deux éprouvettes sur le nuancier de manière à ce que l'encoche soit dirigée vers les chiffres et le déplacer sur le nuancier jusqu'à ce que la couleur de l'échantillon mélangé au réactif corresponde le plus possible à la couleur se trouvant sous l'échantillon vierge.
- Relever la teneur en nitrate dans l'encoche du comparateur (Figure 102).

Interprétation et solutions possibles :

- Si les valeurs obtenues sont trop faibles, il peut être nécessaire d'ajouter des engrais azotés (par exemple ceux de la gamme JBL ProScape®) aux plantes présentes dans le terrarium.

Pour chaque échantillon d'eau à tester :

- Prélever l'eau à l'aide de la seringue de 60 mL dédiée, après l'avoir préalablement rincée une fois avec l'eau à tester.
 - o L'eau de chaque bassin sera prélevée entre 10 et 11h chaque matin, avant que le nettoyage des bassins ait lieu (souvent entre 10h30 et 11h).
 - o Lors des jours de contrôle de l'eau neuve, un prélèvement supplémentaire de l'eau du bassin nouvellement rempli est réalisé dans le bassin de droite (bassin davantage fréquenté) juste après le nettoyage.
 - o Par la même occasion, de l'eau osmosée est directement prélevée dans le réservoir.
- Réaliser les tests au plus vite (dans les 10 à 30 minutes) et prévoir 15 à 30 minutes de manipulation. Ne pas différer les tests, ou à défaut placer les seringues au réfrigérateur le cas échéant, et réaliser les tests au plus tôt.
- Préparer l'ensemble des tests à réaliser sur la paillasse.
- Rincer tour à tour les récipients un échantillon de 5 mL de l'eau à tester.
- Les analyses sont réalisées selon le protocole décrit pour chaque test, dans l'ordre suivant : NH_4 , NO_3 , NO_2 , pH, GH, puis bandelette, afin d'optimiser le temps d'analyse. L'aspect macroscopique (couleur, turbidité, présence de débris) doit également être noté.
- Une fois les tests terminés, le résultat est noté et l'ensemble des récipients est lavé avec de l'eau et du liquide vaisselle, rincés à l'eau claire et séchés.

Le matériel utilisé était constitué des seringues plastiques, éprouvettes et béciers en PVC fournis avec les tests, réutilisés au fil des jours et changés au besoin. Il y a autant de seringues de 60mL en plastique que de type d'eau à tester : chaque bassin disposait de sa seringue étiquetée, et deux autres seringues étiquetées étaient destinées au prélèvement de l'eau du réseau nouvellement introduite dans les bassins et de l'eau osmosée (Figure 104).

Figure 104 : Plan de travail classique pour la réalisation des tests de qualité de l'eau, photographie personnelle.



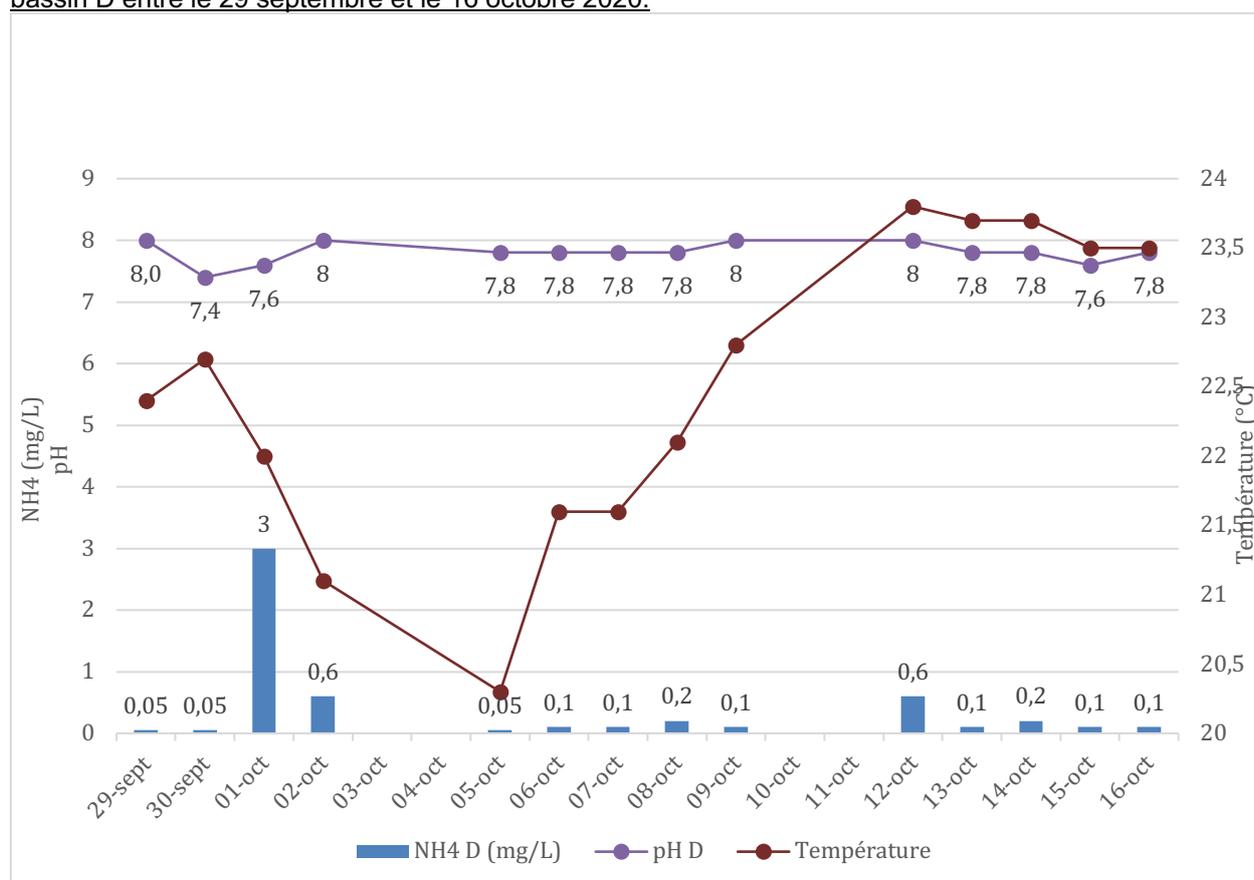
iv. Résultats

Des approximations sur les valeurs de NO_3 ont été réalisées pour la construction des graphiques car les résultats étaient exprimés en intervalles de valeurs. La valeur choisie pour remplacer ces intervalles correspond à la moyenne des deux bornes.

Bassin de droite « Bassin D »

Macroscopiquement, l'eau du bassin est généralement translucide, contenant peu de débris et d'une couleur beige pâle.

Figure 105 : Graphique représentant la teneur en $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$, du pH et de la température au sein du bassin D entre le 29 septembre et le 16 octobre 2020.



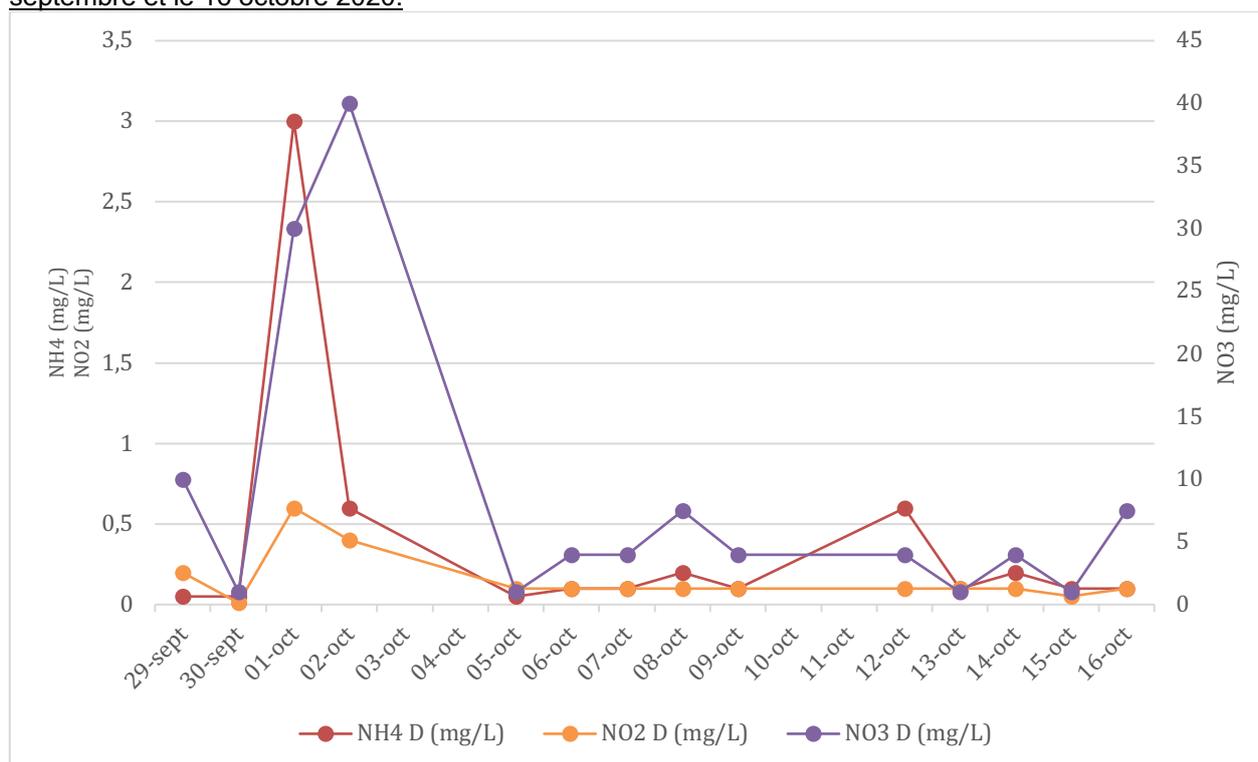
La concentration en $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ varie avec la température et le pH. La présentation des résultats sur la figure 105 a été choisie car la toxicité de l'ammoniaque est plus marquée en présence d'un pH alcalin et sa concentration augmente avec la température (Annexe 3).

Mis à part un pic à 3 mg/L inexplicable le 1^{er} octobre, la concentration en $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ retrouvée dans le bassin D dépasse rarement les 0,6 mg/L, et est en moyenne proche de 0,2 mg/L.

Le pH est relativement stable au cours du temps, comme on peut l'attendre pour une eau relativement dure, et se situe à une valeur de 7,8 en moyenne. L'eau a donc une tendance alcaline.

Des fluctuations de la température sont relevées selon les jours, à l'instar de ce que nous avons pu observer au niveau de la température ambiante du terrarium. Elle varie entre 20,3°C et 23,8°C.

Figure 106 : Graphique représentant l'évolution des métabolites azotés dans le bassin D entre le 29 septembre et le 16 octobre 2020.



Conformément au cycle de l'azote, les bactéries utilisent le carbone minéral (notamment celui des bicarbonates) pour réduire l'ammonium NH_4^+ en nitrites NO_2^- , puis en nitrates NO_3^- . Toute accumulation d'un des métabolites intermédiaires témoigne d'une anomalie au sein du cycle et toute accumulation de NO_3^- doit conduire à un changement d'eau plus régulier.

Comme vu auparavant, la concentration en NH_4^+ est en général inférieure ou égale à 0,2 mg/L comme recommandé. La teneur en NO_2^- est de 0,15 mg/L en moyenne, ce qui est légèrement supérieure à la concentration recommandée de 0,1 mg/L. On observe également des pics à des valeurs supérieures à 0,2 mg/L selon les jours, avec un maximum à 0,6 mg/L enregistré le 1^{er} octobre, cohérent avec le pic en NH_4^+ présent ce même jour. La concentration en NO_3^- est quant à elle, satisfaisante et inférieure à 50 mg/L durant toute la période avec une moyenne à 7,5 mg/L (Figure 106).

Une étude approfondie des événements du 1^{er} au 3 octobre serait intéressante afin de comprendre l'origine de ce pic des concentrations de métabolites azotés.

Figure 107 : Graphique représentant l'évolution de la dureté totale et carbonatée, et du pH, dans le bassin D entre le 29 septembre et le 16 octobre 2020.

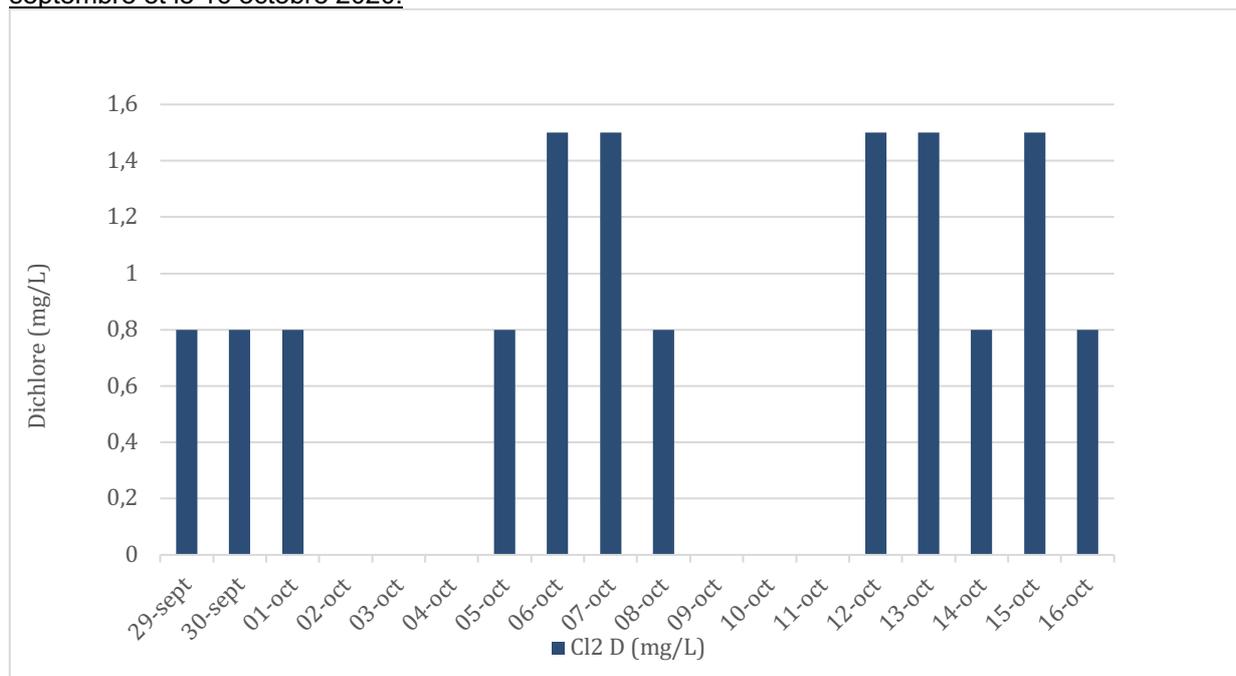


La mesure de la dureté n'a pas pu se poursuivre après le 9 octobre en raison d'un déficit en tests.

La dureté influence le pH comme nous l'avions vu précédemment.

La dureté totale est relativement stable avec une moyenne à 17°dH, tout comme la dureté carbonatée avec une moyenne à 13°dH. Ces valeurs sont attendues et compatibles avec l'eau assez dure du réseau francilien. On remarque par ailleurs un pH relativement stable entre 7,6 et 8,0 (hormis un point à 7,4 le 30 septembre), compatible avec une alcalinité de l'eau élevée expliquant une faible fluctuation du pH de l'eau (Figure 107).

Figure 108 : Graphique représentant l'évolution de la teneur en dichlore dans le bassin D entre le 29 septembre et le 16 octobre 2020.



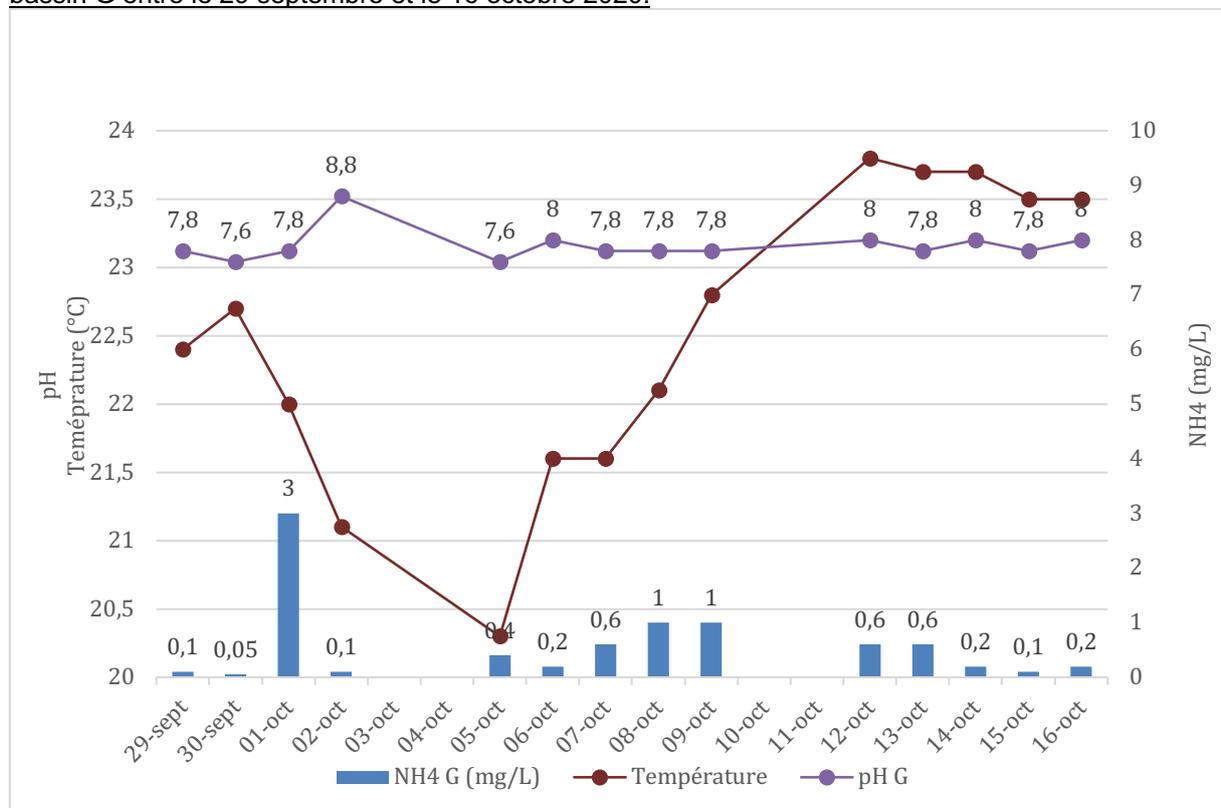
Le dichlore dans les bassins a été évalué dans un contexte d'utilisation d'une eau de réseau non vieillie et de produits de nettoyage chlorés.

La concentration en dichlore varie entre 0,8 et 1,5 mg/L environ et une moyenne de 0,9 mg/L. Ces valeurs sont peu précises du fait du test utilisé, cependant, elles restent supérieures aux doses maximales recommandées pour les poissons, ce qui pourrait donc être délétères au long cours, malgré le fait qu'elles ne semblent pas directement toxiques pour les individus du terrarium (Figure 108).

Bassin de gauche « Bassin G »

Au niveau de l'aspect macroscopique de l'eau, elle est généralement translucide, mais parfois trouble et avec généralement davantage de débris que le bassin D. L'eau était généralement de couleur jaune pâle à brun clair.

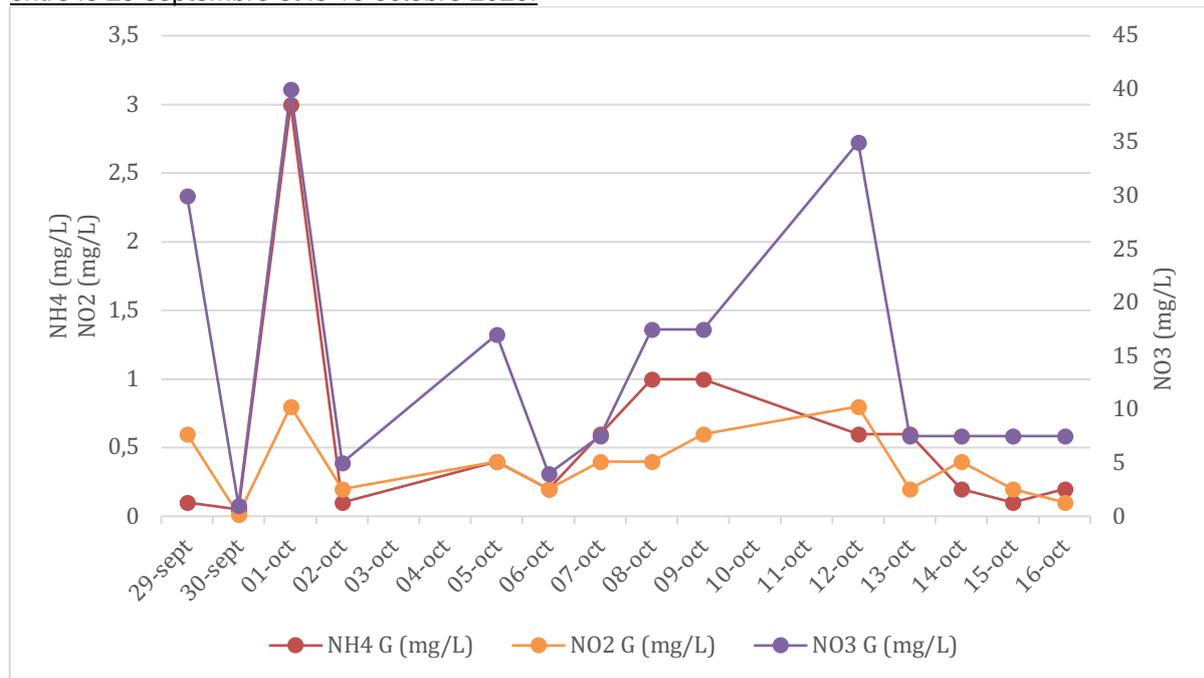
Figure 109 : Graphique représentant la teneur en $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$, du pH et de la température au sein du bassin G entre le 29 septembre et le 16 octobre 2020.



On observe un pH très stable au sein du bassin G. Hormis un pic le 02 octobre à 8,8, le pH varie entre 7,8 et 8,0 avec une moyenne à 7,9. Le pH du bassin G est donc également alcalin.

De façon similaire au bassin D, on observe un pic de NH_4^+ le 1^{er} octobre. Les concentrations en NH_4^+ varient entre 0,1 et 1 en général, avec une moyenne à 0,4 mg/L, ce qui est supérieur aux recommandations (Figure 109).

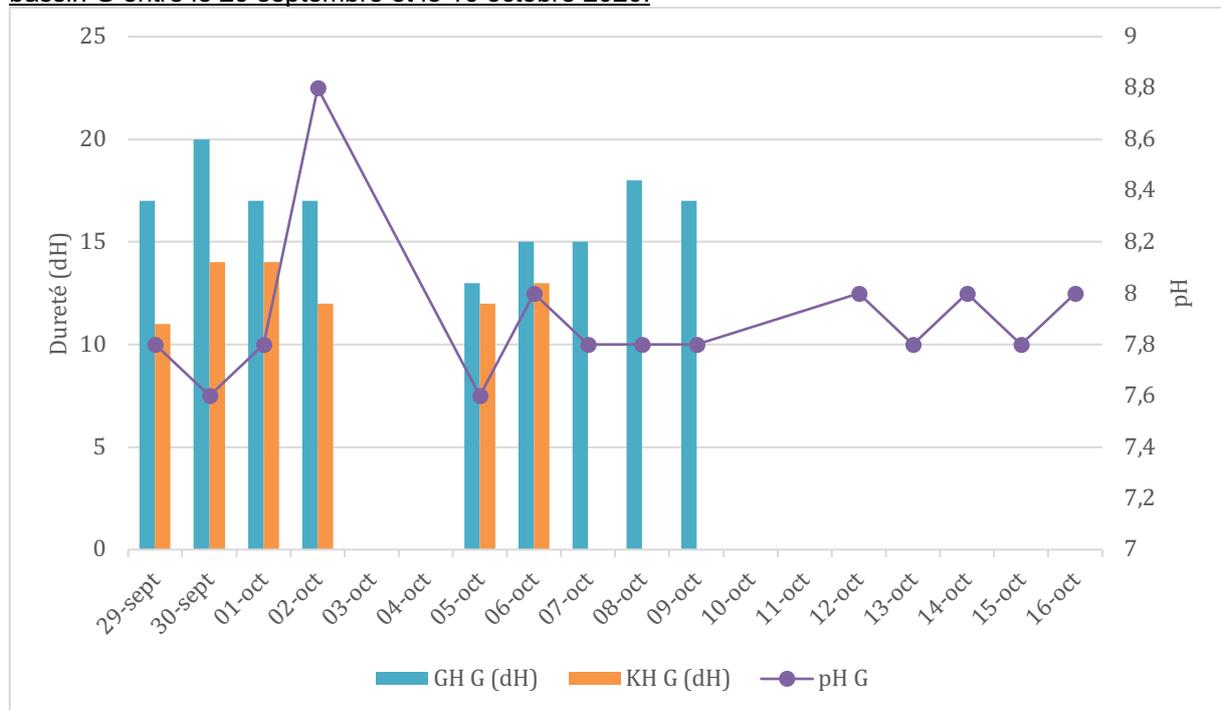
Figure 110 : Graphique représentant l'évolution de la teneur en métabolites azotés dans le bassin G entre le 29 septembre et le 16 octobre 2020.



L'évolution relative des courbes est conforme au fonctionnement du cycle de l'azote. Toutefois, les concentrations en métabolites azotés sont relativement élevées ici.

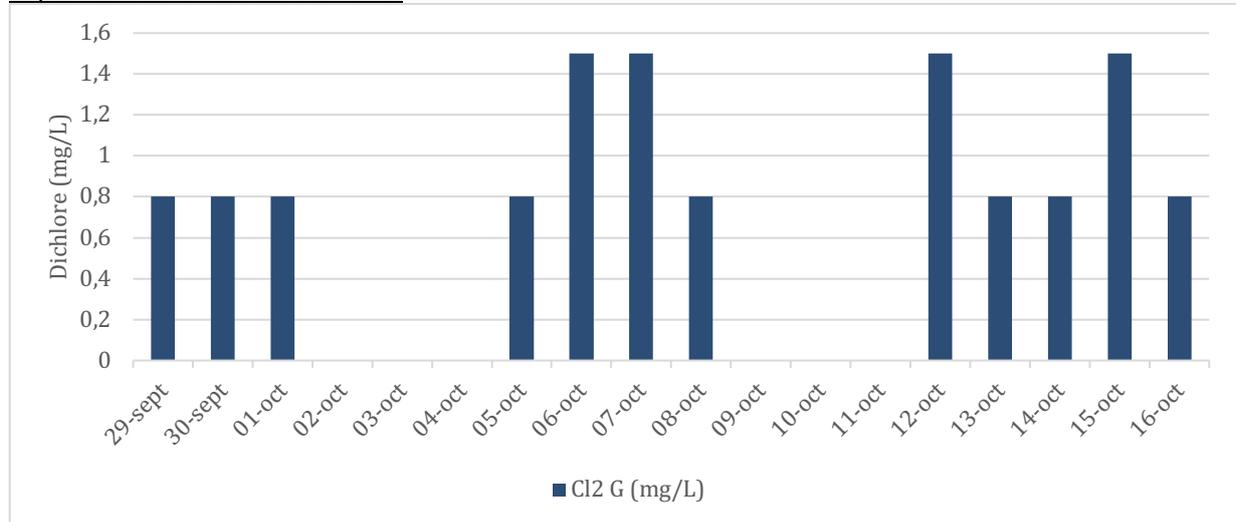
On note une concentration en NO_2^- variant entre 0,01 et 0,8 mg/L avec une moyenne à 0,4 mg/L, ce qui est supérieure à la recommandation. La concentration en NO_3^- varie entre 1 et 40, avec une moyenne à 15, ce qui est tout à fait satisfaisant (Figure 110).

Figure 111 : Graphique représentant l'évolution de la dureté totale et carbonatée, et du pH dans le bassin G entre le 29 septembre et le 16 octobre 2020.



La dureté totale varie entre 13 et 20°dH avec une valeur moyenne de 17°dH et la dureté carbonatée entre 11 et 14°dH avec une valeur moyenne à 13°dH. Comme précédemment, ces valeurs sont compatibles avec les propriétés de l'eau du réseau francilien réputée pour être une eau assez dure, et explique la relative stabilité du pH (Figure 111).

Figure 112 : Graphique représentant l'évolution de la teneur en dichlore dans le bassin G entre le 29 septembre et le 16 octobre 2020.



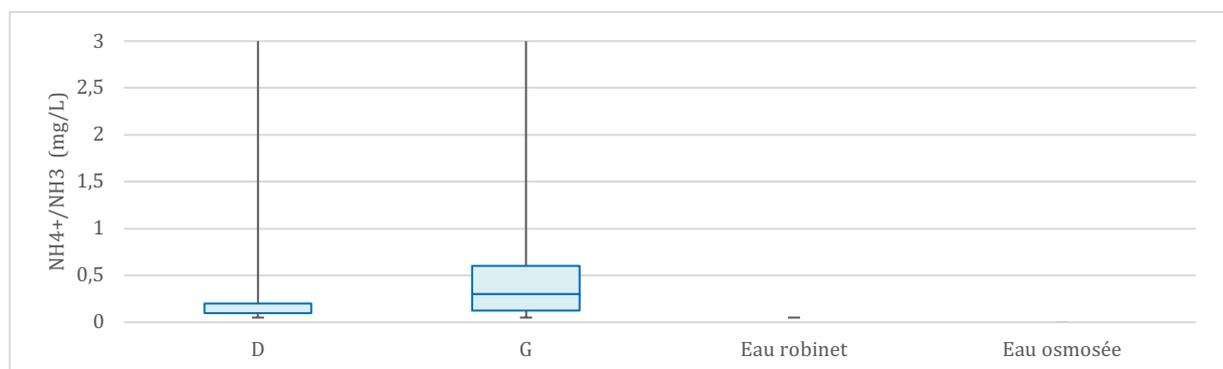
La concentration en dichlore varie entre 0 et 1,5 mg/L au cours de la période, avec une moyenne à 0,9 mg/L comme dans le bassin D. La présence de dichlore est une nouvelle fois confirmée (Figure 112).

Comparaison Bassin D/Bassin G

Les valeurs mesurées sur l'eau du robinet et l'eau osmosée sont là à titre de comparaison.

Figure 113 : Comparaison de la variation de la concentration en $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ dans l'eau des bassins Droit, Gauche, dans l'eau du robinet et dans l'eau osmosée entre le 29 septembre et le 16 octobre 2020.

Ce graphique présente les résultats sous forme de boîte à moustaches, où l'extrémité des moustaches correspond aux valeurs extrêmes maximales et minimales de la concentration en $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ retrouvée au sein de chaque échantillon d'eau. Le tracé des rectangles correspond aux boîtes qui délimitent en haut et en bas, le troisième et le premier quartile respectivement, séparés au centre par la médiane.

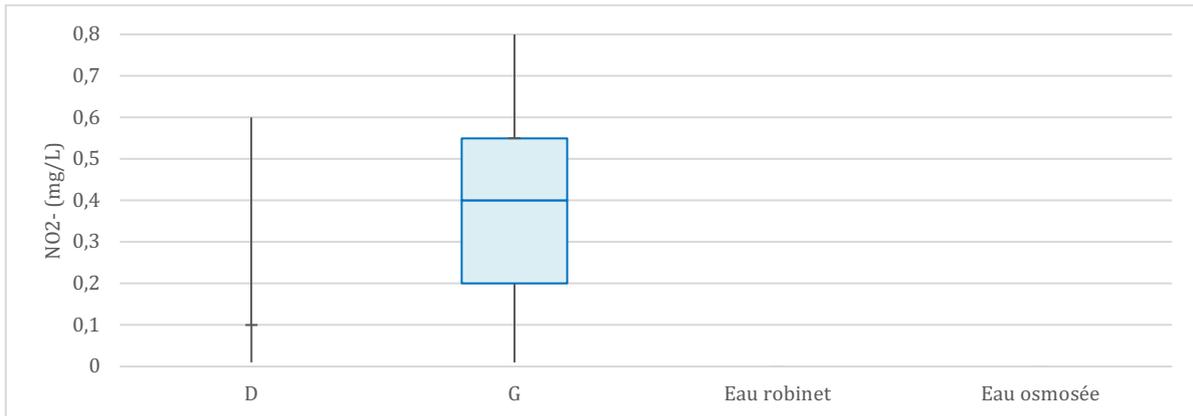


Le bassin G montre davantage de variation au niveau de la concentration en $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ et tend à avoir des valeurs plus élevées que le bassin D.

La concentration en $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ est nulle au sein de l'eau osmosée et très faible au sein de l'eau du robinet (variant entre 0 et 1 mg/L) (Figure 113).

Figure 114 : Comparaison de la variation de la concentration en NO_2^- dans l'eau des bassins Droit, Gauche, dans l'eau du robinet et dans l'eau osmosée entre le 29 septembre et le 16 octobre 2020.

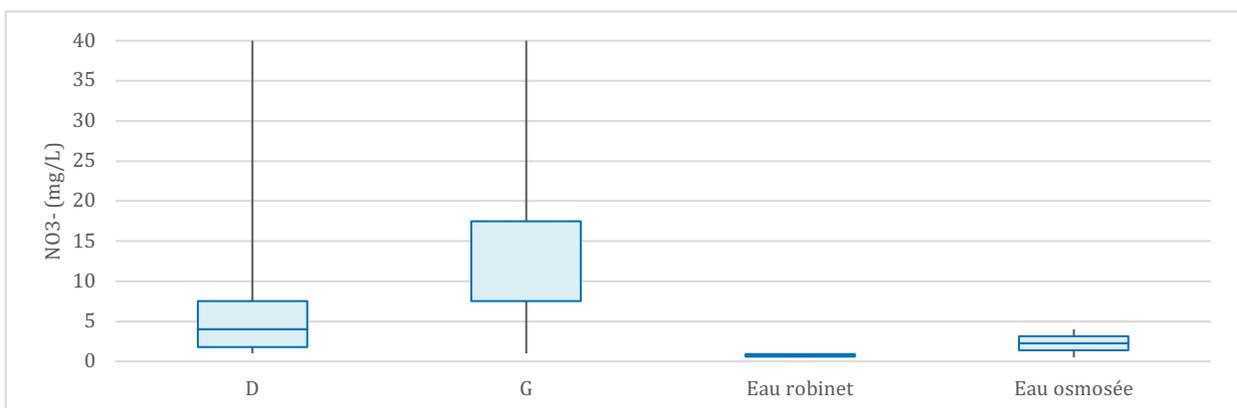
Ce graphique présente les résultats sous forme de boîte à moustaches, où l'extrémité des moustaches correspond aux valeurs extrêmes maximales et minimales de la concentration en NO_2^- retrouvée au sein de chaque échantillon d'eau. Le tracé des rectangles correspond aux boîtes qui délimitent en haut et en bas, le troisième et le premier quartile, séparés au centre par la médiane. Le trait central sur la colonne correspondant à la série de données du bassin de droite correspond également à la valeur médiane, le premier et troisième quartile respectivement ainsi que la médiane étant tous trois confondus.



Les valeurs de NO_2^- dans le bassin D sont très dispersées. Les variations de concentration au sein du bassin G sont encore une fois très importantes, et la valeur maximale est atteinte à 0,8 mg/L dans le bassin G (Figure 114).

Figure 115 : Comparaison de la variation de la concentration en NO_3^- dans l'eau des bassins Droit, Gauche, dans l'eau du robinet et dans l'eau osmosée entre le 29 septembre et le 16 octobre 2020.

Ce graphique présente les résultats sous forme de boîte à moustaches, où l'extrémité des moustaches correspond aux valeurs extrêmes maximales et minimales de la concentration en NO_3^- retrouvée au sein de chaque échantillon d'eau. Le tracé des rectangles correspond aux boîtes qui délimitent en haut et en bas, le troisième et le premier quartile respectivement, séparés au centre par la médiane.

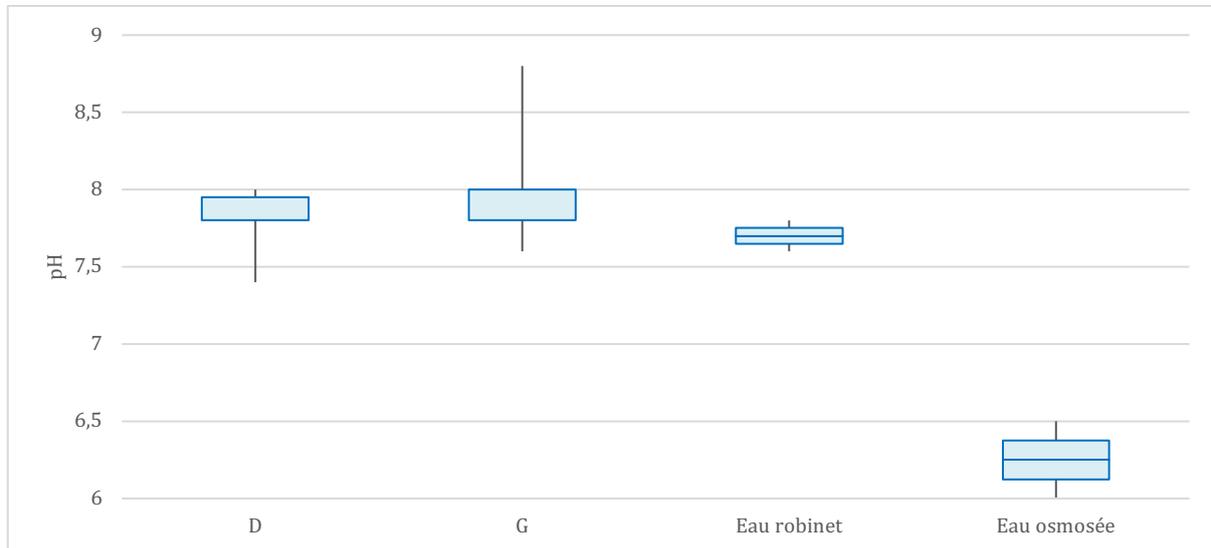


Les variations des résultats du bassin G sont une nouvelle fois plus importantes que celles du bassin D, et également à des valeurs plus élevées.

On observe la présence de NO_3^- dans l'eau osmosée alors qu'elle est pratiquement nulle dans l'eau du robinet (Figure 115).

Figure 116 : Comparaison de la variation du pH de l'eau des bassins Droit, Gauche, de l'eau du robinet et de l'eau osmosée entre le 29 septembre et le 16 octobre 2020.

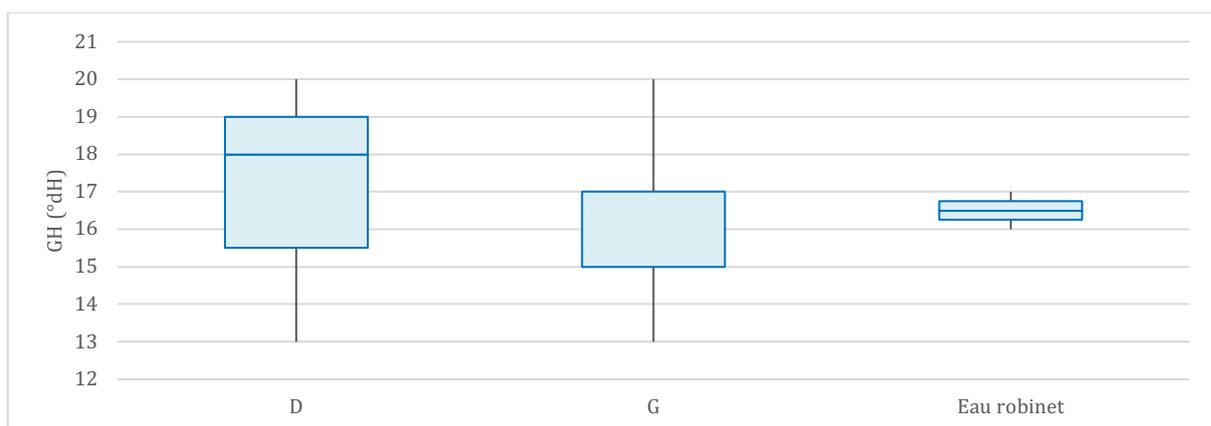
Ce graphique présente les résultats sous forme de boîte à moustaches, où l'extrémité des moustaches correspond aux valeurs extrêmes maximales et minimales du pH retrouvé au sein de chaque échantillon d'eau. Le tracé des rectangles correspond aux boîtes qui délimitent en haut et en bas, le troisième et le premier quartile respectivement, séparés au centre par la médiane.



Le pH de l'eau osmosée est acide (aux environs de 6). Le pH de l'eau du réseau est plutôt neutre à basique (vers 7,5). L'eau des deux bassins tend vers un pH alcalin à 8, avec une valeur isolée de 8,8 au niveau du bassin G (Figure 116).

Figure 117 : Comparaison de la variation de la dureté totale de l'eau des bassins Droit, Gauche, de l'eau du robinet et de l'eau osmosée entre le 29 septembre et le 16 octobre 2020.

Ce graphique présente les résultats sous forme de boîte à moustaches, où l'extrémité des moustaches correspond aux valeurs extrêmes maximales et minimales de la dureté totale GH retrouvée au sein de chaque échantillon d'eau. Le tracé des rectangles correspond aux boîtes qui délimitent en haut et en bas, le troisième et le premier quartile respectivement, séparés au centre par la médiane.

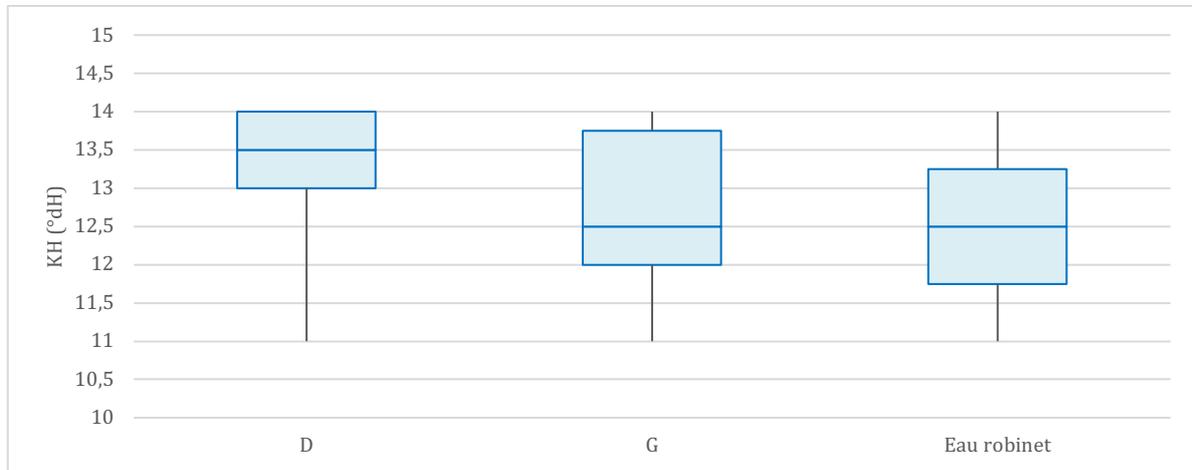


L'eau du robinet est assez dure avec une médiane de dureté à 16,5°dH. Les bassins présentent des variations plus importantes mais les valeurs médianes se situent au même niveau que celle de l'eau du robinet.

La dureté totale de l'eau osmosée n'a été réalisée qu'une seule fois et était de 1°dH, ce qui est cohérent avec la nature de cette eau (Figure 117).

Figure 118 : Comparaison de la variation de la dureté carbonatée de l'eau des bassins Droit, Gauche, de l'eau du robinet et de l'eau osmosée entre le 29 septembre et le 16 octobre 2020.

Ce graphique présente les résultats sous forme de boîte à moustaches, où l'extrémité des moustaches correspond aux valeurs extrêmes maximales et minimales de la dureté carbonatée KH retrouvée au sein de chaque échantillon d'eau. Le tracé des rectangles correspond aux boîtes qui délimitent en haut et en bas, le troisième et le premier quartile respectivement, séparés au centre par la médiane.

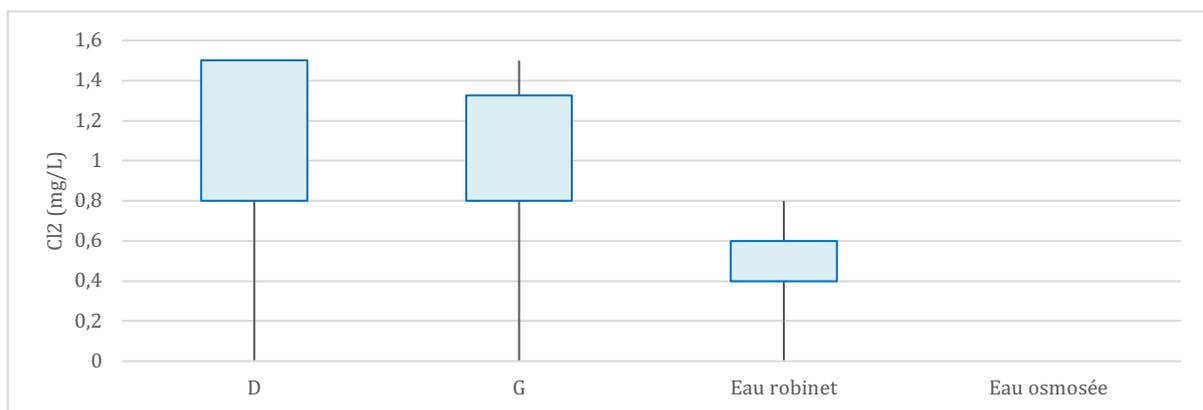


La dureté carbonatée de l'eau du bassin G semble légèrement moins élevée que celle du bassin D.

La dureté carbonatée de l'eau osmosée n'a été réalisée qu'une seule fois et était de 3°dH (Figure 118).

Figure 119 : Comparaison de la variation de la concentration en dichlore dans dans l'eau des bassins Droit, Gauche, dans l'eau du robinet et dans l'eau osmosée entre le 29 septembre et le 16 octobre 2020.

Ce graphique présente les résultats sous forme de boîte à moustaches, où l'extrémité des moustaches correspond aux valeurs extrêmes maximales et minimales de la concentration en dichlore retrouvée au sein de chaque échantillon d'eau. Le tracé des rectangles correspond aux boîtes qui délimitent en haut et en bas, le troisième et le premier quartile respectivement, séparés au centre par la médiane. Les médianes sont toutes confondues avec le premier quartile ici.

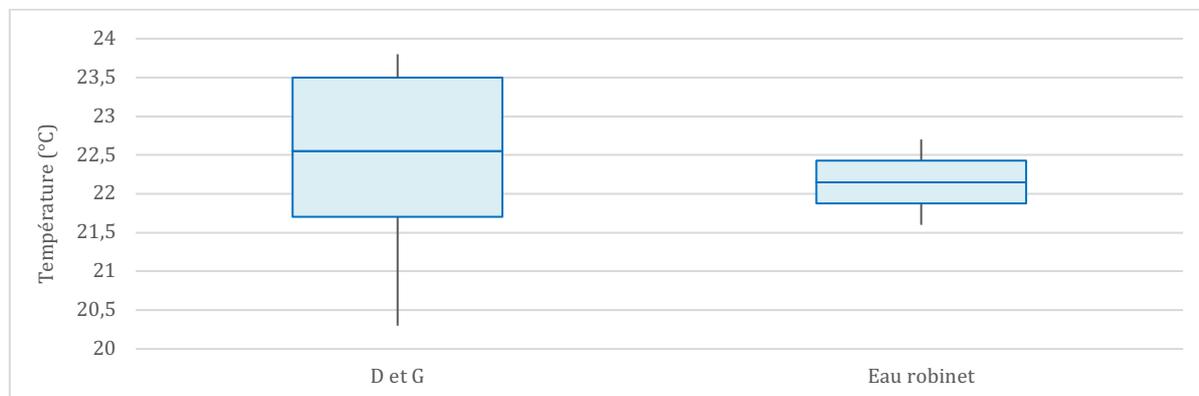


L'eau du robinet recueillie après nettoyage des bassins contient du dichlore en petite quantité. L'eau des bassins contient davantage de dichlore (Figure 119).

L'eau osmosée en est dépourvue.

Figure 120 : Comparaison de la variation de la température de l'eau des bassins Droit, Gauche, de l'eau du robinet et de l'eau osmosée entre le 29 septembre et le 16 octobre 2020.

Ce graphique présente les résultats sous forme de boîte à moustaches, où l'extrémité des moustaches correspond aux valeurs extrêmes maximales et minimales de la température mesurée au sein de chaque échantillon d'eau. Le tracé des rectangles correspond aux boîtes qui délimitent en haut et en bas, le troisième et le premier quartile respectivement, séparés au centre par la médiane.



La température de l'eau du robinet varie entre 21,6°C et 22,7°C, avec une valeur médiane à 22,2°C, tandis que celle au niveau des bassins varie entre 20,3°C et 23,5°C. L'eau a tendance à se réchauffer après le remplissage des bassins et à se stabiliser à une valeur médiane de 22,6°C (Figure 120).

La température de l'eau osmosée n'a été mesurée qu'une seule fois et était de 22,7°C.

v. Discussion

On note dans cette étude la présence de nombreux biais qu'il convient de discuter. La discussion portera davantage sur les points d'amélioration possibles car l'interprétation de la significativité des résultats selon les biais n'est pas pertinente en l'absence d'exploitation statistique des données (Tableau 23).

Tableau 23 : Présentation des différents biais de l'étude.

Biais de classement	Interprétation des couleurs sur les tests colorimétriques et lecture de bandelettes. Thermomètre-hygromètre (précision de mesure 0,1°C et 0,1 %).
Biais de sélection	Mesure de la température sur le bassin supposément le plus fréquenté.
Biais de confusion	Délai d'analyse après prélèvement. Prélèvement à heure variable, mais toujours avant le changement d'eau. Nourrissage et déchets organiques supplémentaires selon les jours.

La lecture des résultats des titrages colorimétriques peut être affectée par un biais de classement non différentiel. Nous avons tenté de nous en affranchir au maximum en limitant le nombre de manipulateurs à une seule personne (moi-même). Ainsi, si les valeurs sont sur-estimées ou sous-estimées, elles le seront *a priori* de la même façon.

Des biais de classement différentiel ne sont toutefois pas exclus. L'aspect macroscopique de l'eau ou son origine (eau du robinet ou eau d'un bassin par exemple) pourrait influencer l'interprétation de la couleur du test si un doute subsiste, en la surestimant si des débris sont retrouvés dans l'eau par exemple.

Le biais de sélection peut à priori être exclu car les mesures ont été réalisées sur toutes les catégories d'eaux. Cependant, la mesure de la température n'a été réalisée que dans le bassin droit et extrapolé au bassin de gauche, en raison de la capacité thermique de l'eau, de leur approvisionnement commun ainsi que de leur proximité au sein du terrarium. L'hypothèse d'une variation de températures initiales et finales à l'équilibre similaire a donc été émise.

On peut dans la même optique, discuter de la pertinence de l'hypothèse d'une faible variation des paramètres de l'eau du réseau d'une part et de l'eau osmosée d'autre part. Ils varient peu pour la première mais leurs variations ne sont pas prévisibles car elles dépendent complètement du réseau lui-même. Un contrôle régulier est préconisé par Pramuk et Gagliardo (2012), sans toutefois recommander une fréquence précise. *A priori*, une analyse mensuelle semble largement suffisante. Quant à l'eau osmosée, le processus de filtration permet l'obtention de paramètres contrôlés et probablement stables dans le temps.

Le délai avant analyse peut constituer un biais de confusion : en effet, les valeurs des paramètres tels que les métabolites azotés et le pH, pourraient se modifier. Cependant, dans une eau dure, le pH varie généralement peu.

L'interprétation des valeurs doit également être réalisée à la lumière des jours de nourrissage, de la présence éventuelle de proies noyées dans l'eau ainsi qu'à la fréquentation différentielle des bassins par les animaux. Toutefois, aucune grenouille n'a été observée au sein des bassins durant la période d'étude, ce qui rend ce dernier facteur négligeable par rapport à la présence des proies noyées dans l'eau, constatée à plusieurs reprises.

Il ne semble pas y avoir de pic d'élévation de la concentration en métabolites azotés lors des jours de nourrissage mais certains pics de NH_4^+ , NO_2^- et NO_3^- peuvent être expliqués par la présence de proies non consommées ou de débris organiques ou de mousse dans les bassins.

La conversion du NH_3 toxique en NH_4^+ dépend du pH et de la température : l'équilibre se déplace en faveur de la formation de NH_3 lorsque le pH et la température augmentent. Au-dessus d'un pH de 8,5, la toxicité de l'ammoniacque est à peu près multipliée par 10 par unité de pH supplémentaire (Boyer et Grue, 1995).

En nous basant sur l'annexe 3, pour une eau basique (pH = 8) et une température de 20°C, on obtient une proportion moyenne de 3,8 % de NH_3 dans l'eau. Si on réalise le calcul sur la valeur moyenne de $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ déterminée par le test colorimétrique, soit 0,4 mg/L à gauche et 0,2 mg/L à droite, en appliquant le coefficient de 3,8 %, on obtient 0,015 mg/L et 0,007 mg/L de NH_3 non ionisé respectivement. Les recommandations maximales pour les poissons sont de 0,05 mg/L, au-delà des dommages peuvent advenir et la mort survient à une concentration de 2 mg/L. Ici, les valeurs de NH_3 estimées pour un pH de 8,0 et une température de 20°C sont satisfaisantes (Francis-Floyd *et al.*, 2015).

Cependant, si on considère les analyses relatives au bassin de gauche relevées le 1^{er} octobre : pour une valeur de $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ à 3 mg/L, une température de 22°C et un pH à 7,6, on obtient une concentration en NH_3 de 0,05 mg/L, ce qui correspond à la dose toxique pour les poissons. Il faut ainsi être vigilant sur les opérations de changement d'eau (Francis-Floyd *et al.*, 2015).

Le nettoyage des bassins et les changements d'eau quotidiens étant bien réalisés, les pics de métabolites azotés semblent davantage imputables à une contamination de l'eau plus élevée certains jours.

Les espèces de bactéries nitrifiantes les plus courantes sont *Nitrosomas* et *Nitrobacter*, qui sont des bactéries à Gram négatifs, strictement aérobies. Comme nous l'avons vu, *Nitrosomas* permet la conversion de l'ammoniacque en nitrites, lesquels sont ensuite convertis en nitrates par *Nitrobacter*.

Plus de 80 % de l'énergie produite par *Nitrosomas* est consacrée à la fixation du dioxyde de carbone, ce qui explique leur taux de multiplication faible. *Nitrosomas* est cependant très efficace dans la conversion de l'ammoniaque : en effet, une seule bactérie est en mesure de convertir autant d'ammoniaque qu'une population d'environ 1 000 000 bactéries hétérotrophes standards.

Les bactéries nitrifiantes se reproduisent par division binaire. Dans les conditions optimales, elles peuvent doubler en nombre toutes les 7 h. *Nitrobacter* se divise toutes les 13 h. Ce taux de division est faible comparé à une bactérie hétérotrophe classique qui se divise toutes les 20 min (Pond Content Network, 2010). Leur taux de croissance est régi par les concentrations d'azote ammoniacal et de dioxygène, ainsi que par la température, le pH et la présence de micronutriments. La vitesse de réaction la plus lente étant celle de nitratisation, c'est cette dernière qui déterminera la cinétique globale de nitrification. La masse de bactéries nitrifiantes dans une installation est directement liée à la quantité de substrat qu'elle reçoit. La vitesse de croissance des populations nitrifiantes s'adapte donc plus ou moins rapidement à la masse d'azote à traiter (Deronzier *et al.*, 2002).

Nitrosomas et *Nitrobacter* se développent de façon optimale à une température de l'eau située entre 23,8 et 29,4 °C. Leur croissance est réduite de moitié à une température de 18,3°C, de 75 % à 10°C, et devient nulle en deçà de 4°C (Pond Content Network, 2010).

Nitrosomas se développe de façon optimale à un pH de 7,8 – 8,0. Sa croissance est ralentie à un pH inférieur à 7,0 et inhibée par un pH inférieur à 6,5. *Nitrobacter* se développe de façon optimale à un pH autour de 7,3-7,5, moins rapidement pour des valeurs plus élevées (Pond Content Network, 2010) mais peut persister même à des pH de l'ordre de 6 (Keen et Prosser, 1987).

Les processus de nitrification sont inhibés pour les pH inférieurs à 6,0. A un pH de 6,5, la plupart de l'ammoniaque présent dans l'eau sera retrouvé sous forme de NH_3^+ (Pond Content Network, 2010).

L'alcalinité (teneur en bicarbonates et carbonates exprimée par la dureté totale) est un point à considérer dans des situations extrêmes. En effet, si elle est inférieure à 20 mg/L, soit 1,1°dH, les bactéries ne seront pas en mesure de poursuivre les réactions (Francis-Floyd *et al.*, 2015).

Les taux de nitrification maximaux seront retrouvés dans des situations où les niveaux en dioxygène dissous dépassent 80 %. La nitrification n'aura pas lieu si le taux en dioxygène dissous descend en deçà de 2 mg/L. *Nitrobacter* est plus sensible à une baisse en dioxygène dissous que *Nitrosomas* (Pond Content Network, 2010).

Les bactéries nitrifiantes sont photosensibles, en particulier aux rayonnements ultraviolets. Une fois qu'elles ont colonisé une surface, cela ne pose plus de problème mais durant les 3-4 premiers jours, elles y sont particulièrement sensibles en particulier en phase de suspension dans l'eau (Pond Content Network, 2010). Il faudra en tenir compte si on décide de mettre en place un éclairage émettant des UVB. Les pics de métabolites azotés observés certains jours peuvent être reliés à la présence de déchets plus abondants (débris de proies) ou encore aux pics d'ammoniac ou de nitrites qui sont communément observés quelques heures à quelques jours après l'initiation d'un cycle de l'azote au sein d'un nouveau bassin.

On observe que l'augmentation des concentrations en métabolites azotés dans l'eau des bassins entre deux changements d'eau n'entraîne pas de variation du pH. En effet, ce dernier est relativement stable et cela s'explique par la caractéristique de l'eau du réseau qui présente une dureté carbonatée élevée. En effet, ce paramètre rend compte de la capacité de l'eau à limiter les fluctuations de pH. Le taux en dioxyde de carbone libre intervient également. Ainsi, lorsque l'eau d'un bassin stagne, une diminution du CO_2 libre se produit, entraînant une réduction du KH et une augmentation du pH.

Lors des prélèvements, on constate souvent une légère coloration de l'eau ainsi qu'une turbidité plus marquée dans le bassin de gauche que dans celui de droite. On note également que les grenouilles avaient tendance à se regrouper du côté gauche du terrarium. Les amphibiens n'ont pas été observés

dans les bassins durant la période d'étude, pourtant, l'eau des bassins était régulièrement retrouvée souillée. Il serait utile de réaliser une étude plus exhaustive du budget temps des animaux au sein du terrarium, ce qui renforcerait l'intérêt d'une analyse de la dynamique de l'occupation de l'espace par les grenouilles, à l'aide d'enregistrements vidéo par exemple. Dans l'hypothèse d'une faible fréquentation des bassins, il n'est pas exclu que leur activité plus importante dans les feuillages se situant au-dessus du bassin de gauche et qu'elle soit ainsi à l'origine d'une production de déchets ou débris organiques plus importants finissant alors dans ce bassin.

La mise en place des mesures de qualité de l'eau et des relevés de température/hygrométrie a été délicate. En effet, il n'était évident d'obtenir la coopération des soigneurs et les oublis étaient fréquents. Les premiers jours, l'eau des bassins était parfois changée avant la réalisation du prélèvement prévu. Finalement, il a été convenu que je passe faire mes prélèvements à une heure fixe, avant celle prévue de nettoyage. Cela me permettait également de réaliser mes analyses directement après, sans délai d'attente. Dans les rares cas où l'analyse ne pouvait être faite dans les minutes qui suivaient, les échantillons étaient conservés au réfrigérateur trente minutes à une heure maximum. Quant aux relevés de température de l'eau du bassin, un passage trois par jour était assuré par moi-même durant mon stage, puis par le Dr Agnèse par la suite. Le nombre de relevés a ensuite été réduit à un par jour pour concilier la poursuite des relevés avec sa charge de travail personnel.

Enfin, il faut également prendre en compte la difficulté associée à l'établissement et la mise en place sur le terrain du protocole. Nous avons dû comme indiqué précédemment le moduler afin de l'adapter notamment au niveau patron de répartition des grenouilles au sein du terrarium. Cela nous a alors amené à distinguer deux périodes d'étude avec des mesures à des localisations différentes. De plus, la courte période disponible pour la réalisation des mesures a également rendu plus difficile la mise en œuvre du protocole, les ajustements ont dû être réalisés très rapidement et la moindre mesure manquante a pu affecter sensiblement l'exploitation des données. L'interprétation des résultats doit également être réalisée avec précaution en raison de la faible quantité de données mais elle permet cependant une première approche de l'étude des paramètres d'ambiance et propose une piste d'amélioration dans l'élevage des *Trachycephalus resinifictrix* au sein du Vivarium de la Ménagerie du Jardin des Plantes.

4) Hygiène

Le nettoyage des bacs et des récipients accueillant les *Trachycephalus resinifictrix* au Vivarium suit le protocole suivant :

Les *Trachycephalus resinifictrix* disposent de deux bassins d'une contenance de 2,5 L. Ils sont nettoyés tous les jours et disposent chacun d'une brosse dédiée. Chaque semaine (le vendredi), les rainettes sont retirées et les bacs sont vidés. Chaque bac est ensuite nettoyé à l'eau et au détergent (liquide vaisselle) avec une brosse qui lui est dédiée. Une fois propres, les bacs sont remplis avec du Virkon® dilué à 10g/L. Les bacs sont couverts et le produit est laissé 30 min. Enfin, les bacs sont rincés trois fois à l'eau clair puis remplis avant d'accueillir les animaux (Annexe 15).

En pratique, les bassins sont bien vidés tous les jours, frottés avec une brosse ayant trempée dans de la javel, puis rincés une à deux fois, revidés, avant d'être remplis à nouveau d'eau. Il n'y a pas de désinfection effective avec du Virkon® chaque semaine. Éventuellement, les vitres sont nettoyées avec du vinaigre blanc. La pulvérisation a lieu au même moment, l'ensemble du terrarium est pulvérisé, des plantes jusqu'aux vitres, et des deux côtés de manière assez homogène.

Les brosses sont maintenues dans des récipients contenant une solution de javel (hypochlorite de soude à 2,6 %) renouvelée chaque semaine (le vendredi).

Ces protocoles ont été établis pour éviter la propagation de germes entre chaque terrarium et au sein du terrarium.

Le nettoyage des terrariums peut être assuré à l'aide d'eau et la désinfection effectuée avec de l'eau de Javel domestique à 3-6 % ou diluée à 10 % (hypochlorite de sodium). Quel que soit le désinfectant utilisé, il faut bien rincer le matériel et le laisser sécher à l'air libre, ou utiliser du thiosulfate de sodium pour neutraliser l'agent si un agent de blanchissement a été utilisé (Pramuk et Gagliardo, 2012).

L'eau du robinet contient une quantité résiduelle de dichlore entre 0 et 0,8 mg/L, tant qu'elle est parfois de 1,5 mg/L dans l'eau des bassins. Puisqu'il ne s'agit d'un composé retrouvé exclusivement de façon exogène, il n'est pas exclu que ce surplus soit introduit de façon exogène par un rinçage insuffisant des bassins après leur nettoyage.

Chapitre II – Lésions cutanées rostrales chez les rainettes Kunawalu

Il était initialement prévu de noter l'apparition de nouvelles lésions cutanées sur les courbes de relevés de paramètres, de les décrire exhaustivement puis de suivre leur évolution au cours du temps. Cependant, l'absence d'apparition de nouvelles lésions n'a pas permis la réalisation de cette partie de l'étude.

Nous nous contenterons de caractériser les lésions actuellement rencontrées ainsi que de discuter les recherches ayant été effectuées en relation avec la problématique ayant motivé la mise en place de ce travail.

I - Historique de la pathologie rencontrée au Vivarium

A. Circonstances d'apparition et historique

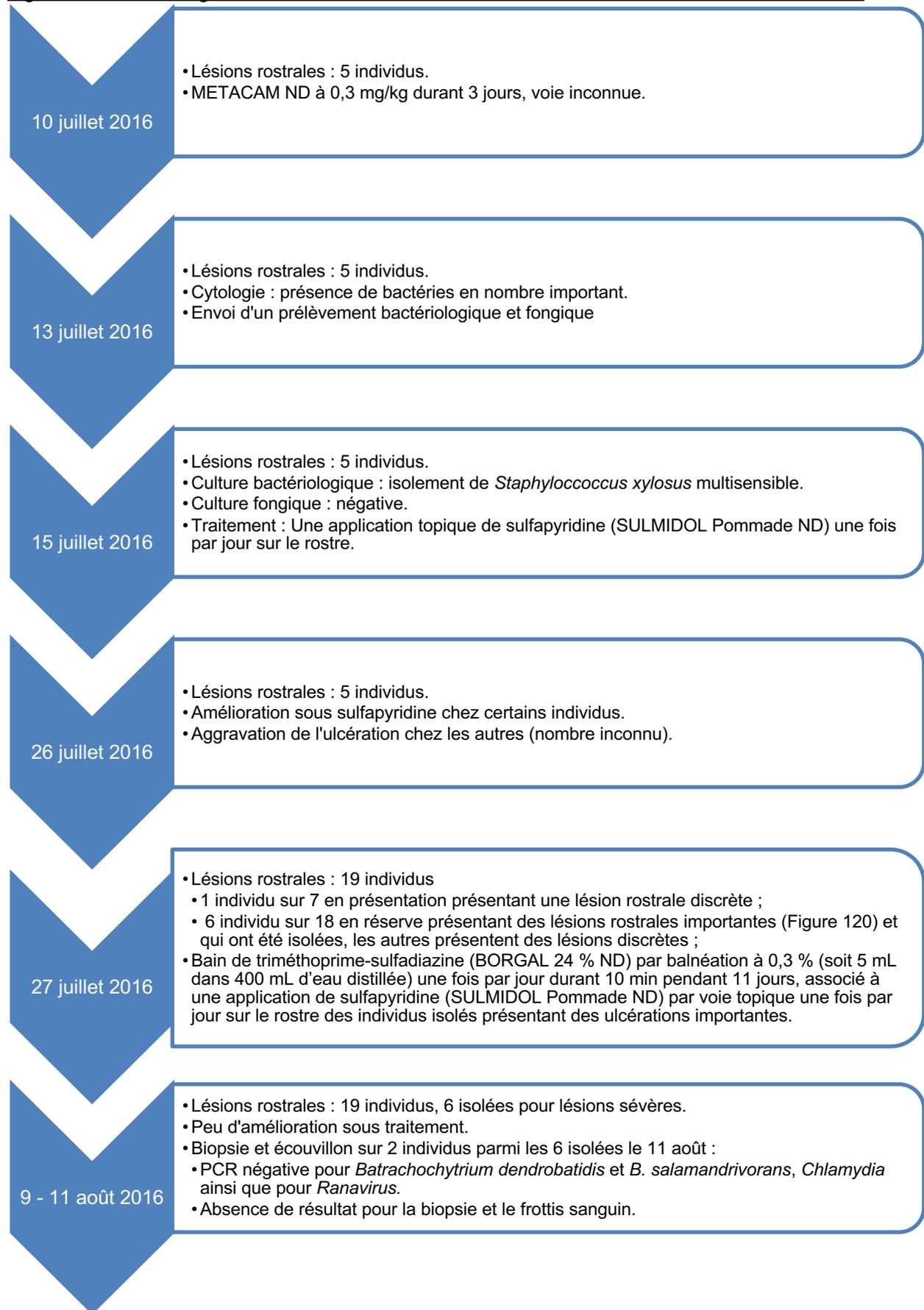
La Ménagerie a rapporté une apparition des lésions de façon aiguë sur pratiquement toutes les rainettes Kunawalu en 2016. Les lésions ont eu du mal à cicatriser. Par la suite, entre 2016 et 2019, leur prévalence a diminué, pour disparaître par la suite, à la manière d'une flambée épizootique.

Cette thèse a été initiée pour mettre en place un suivi des grenouilles et faire un bilan des paramètres environnementaux auxquels elles sont exposées. Il était également envisagé de séparer les animaux en lots afin de tester l'effet de modifications ciblées des conditions d'élevage mais cela n'a pas pu être réalisé en raison de l'absence de nouvelles lésions durant l'étude.

On note donc aujourd'hui une disparition totale de la survenue de nouvelles lésions rostrales, les seules objectivées étant déjà répertoriées, en cours de cicatrisation voire cicatrisées. Le projet initial a donc dû changer d'objet.

Les premières lésions rostrales ont été rapportées en juillet 2016 sur deux individus (Figure 121). La chronologie de l'apparition des lésions et de leur prise en charge est résumée dans les Figures 121 à 123.

Figure 121 : Chronologie de l'évolution des lésions rostrales chez les rainettes Kunawalu en 2016.



Le 27 juillet 2016, des lésions rostrales importantes sont rapportés chez 6 individus en réserves (Figure 122). À ce moment précis, 73 % (19/26) des individus présents présentaient une lésion rostrale, plus ou moins sévère.

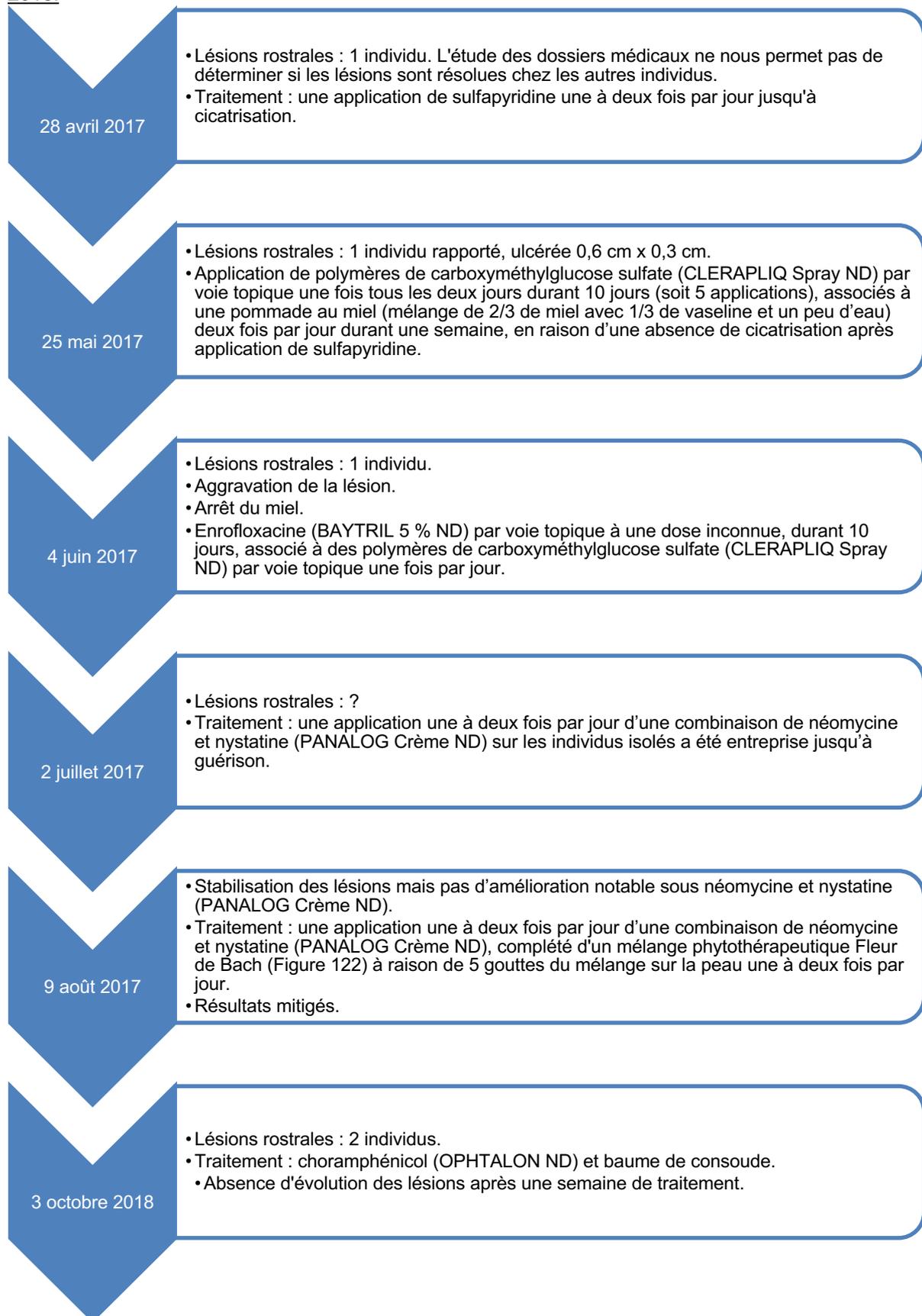
Figure 122 : Aspect des lésions rostrales observées initialement (photographie de la Ménagerie du Jardin des Plantes).



Le 31 juillet 2016, des traces de sang semble avoir été retrouvées sur les vitres du terrarium, sans blessure visible sur les animaux. Une hypothèse traumatique n'est donc pas exclue.

Le 11 août 2016, une biopsie, un écouvillon cutané et une prise de sang sous anesthésie (médétomidine à la dose de 0,1 mg/kg, kétamine à la dose de 30 mg/kg) ont été réalisés sur deux rainettes Kunawalu parmi les six isolées pour des lésions importantes. Une radiographie « corps entier » a mis en évidence des déformations osseuses sur ces individus. Toutes les rainettes Kunawalu du Vivarium ont alors reçu une administration de vitamine A par voie topique à raison d'une goutte sur le dos d'une dilution au 1/100^e de TROIVIT ND (500 UI/ml e rétinol, 75 UI/ml de cholécalférol, 0,5 mg/ml de alpha-tocophérol). Ce traitement a été poursuivi à raison de 2 gouttes par jour sur toutes les grenouilles, une fois par jour, durant 14 jours. Les vétérinaires rapportent une recherche étiologique infructueuse à l'issue des examens complémentaires.

Figure 123 : Chronologie de l'évolution des lésions cutanées chez les rainettes Kunawalu en 2017 et 2018.



Les lésions n'ont jamais été définitivement guéries et demeurent d'origine indéterminée, cependant aucune nouvelle lésion supplémentaire n'a été observée jusqu'à fin avril 2017 (Figure 123).

En raison de l'enregistrement des données médicales et de l'absence d'identification individuelle des rainettes Kunawalu le suivi des lésions doit être exploité avec précaution car les individus atteints ne sont pas clairement identifiés et on ignore donc l'aspect évolutif précis des lésions des individus atteints.

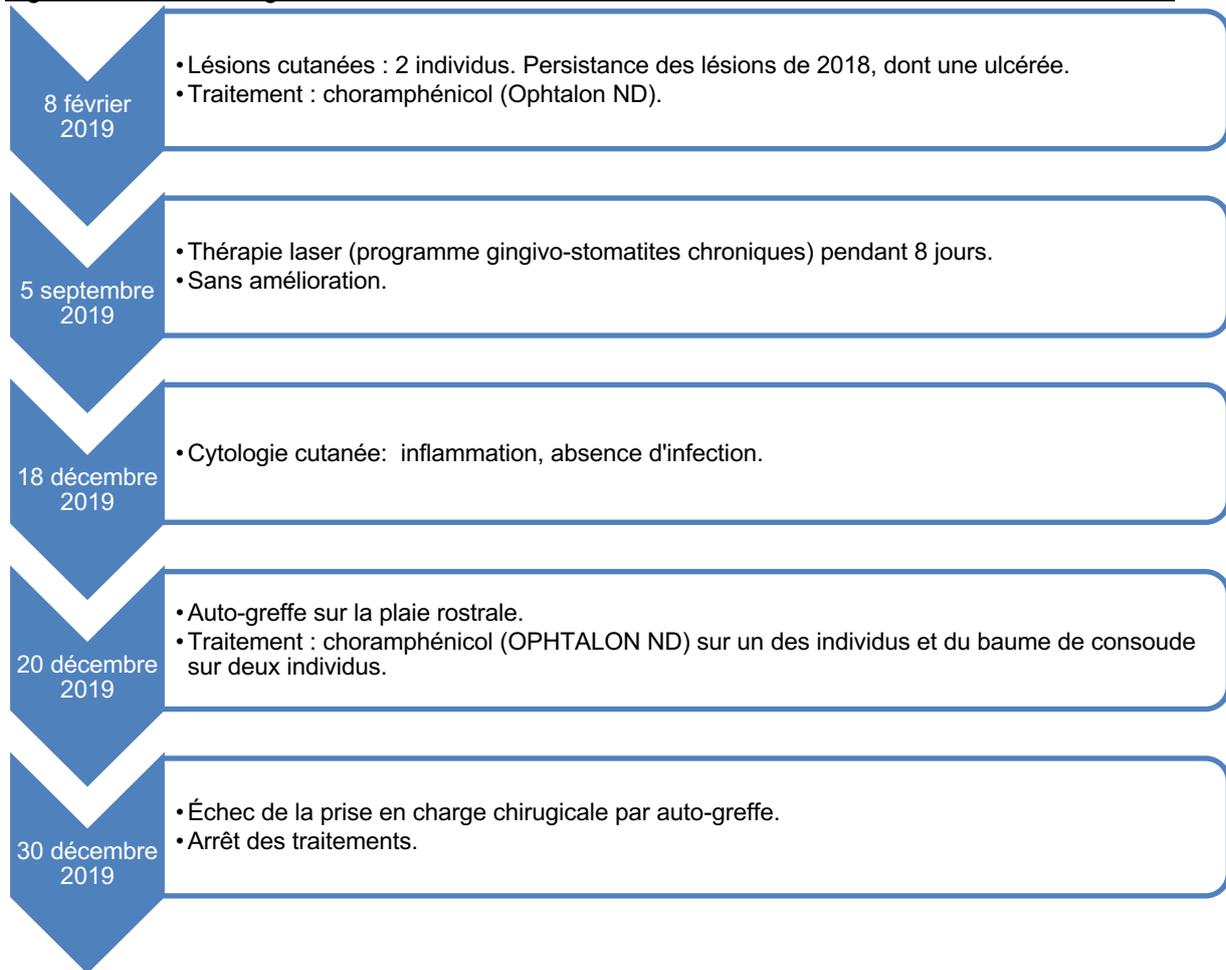
Le 2 juillet 2017, une nouvelle antibiothérapie à base d'une application une à deux fois par jour d'une combinaison de néomycine et nystatine (PANALOG Crème ND) sur les individus isolés a été entreprise jusqu'à guérison. Une stabilisation des lésions a été observée après un mois de traitement mais sans amélioration notable, ce qui a motivé l'instauration d'un traitement à base d'un mélange phytothérapeutique Fleur de Bach (Figure 124) à raison de 5 gouttes du mélange sur la peau une à deux fois par jour, mais les résultats sont demeurés mitigés. De plus, le recours à la phytothérapie n'était pas pratique pour les soigneurs.

Figure 124 : Composition du mélange phytothérapeutique Fleur de Bach (Ménagerie du Jardin des Plantes).

- Noyer (*Juglans regia*) : limiter les influences extérieures, meilleure adaptation aux changements.
- Églantine (*Rosa canina*) : diminuer l'apathie et le manque d'enthousiasme, éviter la résignation.
- Olive (*Olea europaea*) : Pour aider à la convalescence.
- Centaurée (*Centaureum umbellatum*) : Pour aider à combattre les infections opportunistes.
- Bourgeons de marronnier (*Aesculus hippocastanum*) : Pour les animaux n'apprenant pas de leurs erreurs.
- Impatiente (*Impatiens glandulifera*) : Pour les animaux impatients.

Aucune évolution ne semble avoir été relevée jusqu'en octobre. Le 3 octobre 2018, du choramphénicol (OPHTALON ND) a été mis en place comme nouveau traitement des ulcérations sur un des individus et du baume de consoude utilisé pour la même indication sur deux individus. Le 10 octobre 2018, aucune évolution des lésions n'est rapportée (Figure 125).

Figure 125 : Chronologie de l'évolution des lésions cutanées chez les rainettes Kunawalu en 2019.



En février 2019, un rapport a révélé une persistance de lésions rostrales sur deux individus, dont une s'étant ulcérée avec un liseré érythémateux.

Le 20 décembre 2019, une auto-greffe sur la plaie rostrale sous anesthésie générale (kétamine à la dose de 30 mg/kg, médétomidine à la dose de 0,1 mg/kg, butorphanol à la dose de 1 mg/kg) a été réalisée sur un des individus. Un traitement à base d'enrofloxacin (10 mg/kg par voie topique une fois par jour pendant 9 jours, BAYTRIL ND) a été initié. Toutefois, le greffon est devenu noir et bosselé 10 jours après la fin de l'antibiothérapie et n'a pas permis une résolution satisfaisante. De plus, l'application locale d'enrofloxacin engendrait des démangeaisons chez les individus, ce qui a pu altérer la cicatrisation.

Tous les traitements ont finalement été arrêtés face à l'absence de réponse des lésions, lesquelles se sont finalement stabilisées (Figure 125).

B. Caractérisation des lésions

La Ménagerie rapporte que toutes les grenouilles à l'époque avaient été touchées de façon plus ou moins sévères (Tableau 24 et Figure 126). Les lésions avaient la particularité de cicatriser particulièrement lentement malgré les traitements. Les examens complémentaires à visée étiologique réalisés n'ont pas non plus permis de déterminer l'étiologie en cause.

1) Description des lésions

Tableau 24 : Description des lésions observées chez les rainettes Kunawalu au 13 octobre 2020, photographies personnelles.

Les flèches désignent les vestiges d'une ancienne lésion aujourd'hui guérie et les cercles mettent en évidence les lésions actuellement présentes.

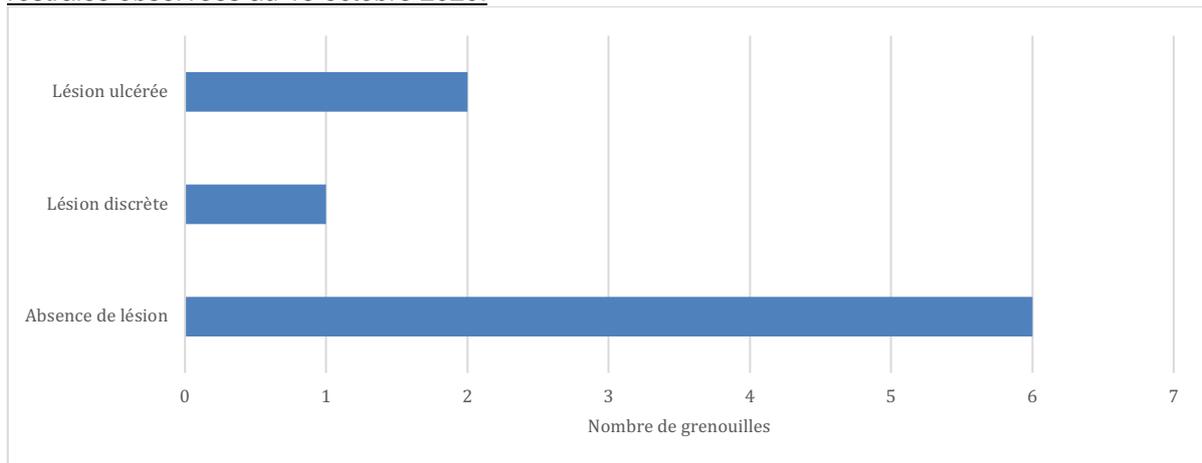
Grenouille	Lésions au 13/10/2020	Photo
1	Absence de lésion, signe de lésion rostrale ancienne.	
2	Absence de lésion, très discret signe de lésion rostrale ancienne.	
3	Lésion rostrale discrète et ancienne, plate de 0,4 cm de diamètre.	
4	Absence de lésion.	

Tableau 25bis : Aspect des lésions observées chez les rainettes Kunawalu au 13 octobre 2020, photographies personnelles.

Les flèches désignent les vestiges d'une ancienne lésion aujourd'hui guérie et les cercles mettent en évidence les lésions actuellement présentes.

Grenouille	Lésions au 13/10/2020	Photo
5	Absence de lésion.	
6	Lésion ulcérée et marquée de 0,4 cm de diamètre.	
7	Absence de lésion, signe d'une ancienne lésion de petite taille.	
8	Absence de lésion.	
9	Lésion marquée ovale de 1,1 cm sur 0,9 cm, ulcérée.	

Figure 126 : Représentation du nombre de grenouilles atteintes en fonction de la gravité des lésions rostrales observées au 13 octobre 2020.



2) Examens complémentaires

Relativement peu d'examens complémentaires ont été réalisés afin de ne pas générer de complications traumatiques sur d'anciennes lésions ayant déjà eu du mal à cicatriser. En raison de l'absence d'amélioration malgré les traitements antibiotiques ciblant *Staphylococcus xylosus* et en l'absence d'autres facteurs pathogènes comme *Batrachochytrium dendrobatidis* ou encore *Ranavirus*, des biopsies ont été envisagées dans la démarche diagnostique.

Les biopsies ont été réalisées à l'aide d'un punch pour biopsie dermique de 6 mm de diamètre au niveau de la lésion, entre marge saine et atteinte (Figures 127 et 129). Cette méthode a été choisie pour être la moins traumatique possible et ne pas aggraver les lésions. Il a été décidé de réaliser une analyse histologique sur les lésions ulcérées des grenouilles 6 et 9 qui étaient les plus sévèrement touchées. Une bactériologie devait également être demandée par la même occasion, cependant, la difficulté de prélever une quantité suffisante de peau en raison de la sévérité des lésions et de leur localisation rostrale, n'a finalement pas permis sa réalisation. Le résultat des biopsies est présenté dans le tableau 25.

Figure 127 : Réalisation de la biopsie sur la grenouille 6 à l'aide d'un biopsie-punch, photographie personnelle.



Le premier sujet a été anesthésié par baignade dans une solution dosée à 500 mg de tricaine méthylsulfonate (MC-222) par litre d'eau (Figure 128). La deuxième grenouille a reçu une injection intramusculaire de médétomidine à la dose de 0,1 mg/kg et de kétamine à la dose de 20 mg/kg.

Le protocole par baignade présente une grande marge de sécurité. La poudre de MS-222 se dissout facilement dans l'eau, générant une solution très acide. L'acidité est non seulement irritante pour les amphibiens mais diminue également l'efficacité de l'agent anesthésique. Du bicarbonate de sodium est alors ajouté à la solution jusqu'à saturation afin de maintenir le pH entre 7,0 et 7,5. Cette solution n'est pas stable très longtemps et il convient donc de la jeter après chaque utilisation. L'animal est immergé de manière à être au moins couvert à moitié par la solution. L'induction survient dans les 15 minutes

avec un pic vers 30 minutes. La profondeur de l'anesthésie est estimée en suivant le tonus musculaire et une perte du réflexe de retournement est recherchée. Les effets sont relativement aléatoires selon les espèces ; il est donc nécessaire d'évaluer régulièrement la profondeur de l'anesthésie et de sortir l'animal du bain dès qu'elle est jugée suffisante (Chai, 2017).

Figure 128 : Anesthésie de la grenouille 9 par baignade dans une solution de MS-222 tamponnée avec du bicarbonate de sodium, photographie personnelle.



Le protocole par anesthésie fixe permet une induction rapide et une durée d'anesthésie plus longue. Le réveil est également plus différé comparé à l'emploi de MS-222. Dans le cas présent, le réveil a également été de moins bonne qualité, avec un animal demeurant peu actif dans les heures suivant l'anesthésie.

Figure 129 : Grenouille 9 avant (à gauche) et après (à droite) biopsie, photographies personnelles.



Une échographie ainsi qu'une radiographie ont également été réalisées sur ces deux individus. Ces deux examens ont davantage été réalisés à visée pédagogique, mais également pour profiter de l'anesthésie pour faire un contrôle complet des animaux et apprécier la présence éventuelle de lésions osseuses en regard des lésions rostrales -une ostéolyse- à la radiographie. L'échographie n'a révélé aucune anomalie à l'exception d'une zone hyperéchogène au niveau du foie de la grenouille 6. La radiographie a mis en évidence une diminution de la densité osseuse et des déformations au niveau de la colonne vertébrale comme des membres chez les deux individus, témoignant d'une ostéodystrophie probablement secondaire à une hyperparathyroïdie d'origine nutritionnelle (Figure 130).

Figure 130: Radiographie des rainettes Kunawalu 6 et 9, photographie personnelle.



Tableau 26: Résultats de l'examen histologique des biopsies cutanées.

Grenouille	6	9
Lésions	Excoriation épidermique focale avec accumulation d'hémorragies aiguës en surface. Le derme sous-jacent présente une fibroplasie modérée remplaçant les glandes. Cette fibroplasie est richement vascularisée et légèrement infiltrée de lymphocytes, plasmocytes et macrophages. Absence d'élément fongique en coloration de PAS.	Prolifération d'un tissu fibreux immature richement vascularisé en profondeur du derme, avec atrophie des glandes en surface. Ce tissu présente une infiltration périvasculaire minime par des lymphocytes, plasmocytes, macrophages et rares polynucléaires hétérophiles. Des petites hémorragies aiguës sont observées. L'épiderme en surface est légèrement hyperplasique. Absence d'élément fongique en coloration de PAS.
Conclusion	Dermatite érosive et fibrosante chronique.	Dermatite fibrosante profonde chronique.

Ainsi, les lésions observées chez les deux individus sont cicatricielles et d'origine inconnue. Aucun agent infectieux n'a été observé.

Au vu des analyses histologiques, une cause traumatique semble alors la plus probable, bien qu'aucun élément ne permette d'expliquer avec précision la raison d'une guérison aussi longue dans le temps.

II - Discussion

En raison de la disparition totale de survenue de nouvelles lésions rostrales, l'étude initialement prévue a changé de nature. Il n'a pas été possible d'en déterminer précisément l'étiologie. Une récurrence dans le futur ne peut être totalement exclue, en particulier si on ne résout pas la cause initiale.

Dans cette discussion, j'aimerais revenir sur plusieurs points concernant la prise en charge médicale des lésions cutanées, récapituler un certain nombre de facteurs environnementaux dont l'optimisation

pourraient limiter l'apparition de lésions ou leur aggravation et enfin, évoquer des pistes de recherche qu'il aurait été intéressant d'explorer au niveau de la démarche diagnostique.

A. Prise en charge médicale des lésions cutanées

Llewelyn *et al.*, (2019) ont étudié l'influence des principaux solvants utilisés comme excipient pour favoriser la pénétration cutanée des principes actifs. L'usage d'éthanol à des concentrations supérieures à 10 % n'est pas recommandé. En effet, bien que l'absorption cutanée du principe actif soit alors meilleure, des lésions cutanées sévères peuvent apparaître. L'éthanol à une concentration de 1 % est souvent utilisé comme co-solvant avec un impact minime sur la structure cutanée. De nombreuses molécules ont été utilisées par voie topique dans le cadre du traitement des lésions rostrales chez les rainettes Kunawalu, et face à l'échec thérapeutique ou en raison de la présence de démangeaisons observées (BAYTRIL ND), nous pouvons nous interroger sur l'impact potentiel des solvants alcooliques qu'ils contiennent, même s'il ne s'agit pas d'éthanol (acide benzoïque pour le BAYTRIL ND par exemple) et même s'ils sont concentrés à 1 %, pourraient engendrer des irritations de la peau ou autres altérations structurales d'un tégument connu pour être particulièrement fragile.

De nombreuses stratégies thérapeutiques ont été successivement tentées par l'équipe vétérinaire de la Ménagerie du Jardin des Plantes pour la prise en charge des lésions rostrales. Malgré différentes cures d'antibiotiques, des soins de plaies quotidiens ou encore des techniques plus récentes comme les greffes cutanées ou la thérapie laser, aucune ne semble avoir fonctionné.

La thérapie laser, encore appelée photobiomodulation, permet la réduction de l'inflammation, de la douleur et stimule la cicatrisation chez les animaux de laboratoire comme certaines espèces domestiques. Il y a actuellement peu d'études démontrant l'efficacité de la thérapie laser chez les espèces non domestiques, et aucune chez les amphibiens (Riegel, 2018).

Les cas cliniques rapportant un bénéfice de la thérapie laser sont souvent anecdotiques ou difficiles à interpréter et plus encore à interpoler à d'autres taxons. Les conditions d'emploi concernent souvent des cas d'étiologie indéterminée et privilégient un traitement symptomatique. La thérapie laser est non invasive, relativement sûre et utilisable sur des animaux de parcs zoologiques. Le calibrage de l'appareil est souvent extrapolé à partir de données obtenues chez d'autres espèces. Il importe de considérer les bénéfices attendus de la thérapie laser, notamment ses propriétés analgésiques et la durée de traitement présomptif, par rapport aux autres types de traitements (Riegel, 2018).

Les plaies superficielles sont par définition accessibles à l'action directe du laser. Cette méthode semble apporter des résultats satisfaisants dans de multiples cas de gestion de plaies. Cependant aucune information n'existe sur une indication possible chez les amphibiens et une extrapolation par analogie s'avère complexe eu égard aux particularités très particulières de la peau des grenouilles (Riegel, 2018).

Tableau 27 : Exemples de paramètres recommandés pour le traitement par laser des plaies superficielles chez les mammifères, oiseaux, reptiles et poissons (Riegel, 2018).

Espèce	Localisation	Énergie
Humain	Épiderme	1-4 J/cm ²
Chat	Gingivite, acné du chat	3-4 J/cm ²
Chien de taille moyenne	Contusion superficielle	2-3 J/cm ²
Oiseau	Contusion superficielle	1-2 J/cm ²
Reptile	Gingivite	0,5-1 J/cm ²

La Rainette Kunawalu est un animal de petite taille, dont les plaies en cause peuvent être considérées comme très superficielles en raison de leur peau extrêmement fine. Cette dernière est de plus de teinte claire et dépourvue de phanères. Les oiseaux possèdent une peau particulièrement fine qui se rapprocherait le plus de celle des grenouilles. On pourrait en déduire (Tableau 26) que la dose de 2 J/cm² constitue la dose maximale à employer (Riegel, 2018).

Le traitement par laser des stomatites de reptiles requiert l'usage d'une dose de 0,5 à 1 J/cm² permettant de réduire l'inflammation et de résoudre la gingivite. En termes de profondeur tissulaire, la muqueuse buccale pourrait constituer une analogie intéressante (Riegel, 2018).

Sur des lésions très superficielles et inflammatoires, une voire quelques séances sont généralement suffisantes. Sur des lésions plus chroniques, il est souvent nécessaire de réaliser des sessions deux fois par semaine jusqu'à guérison, voire tous les jours au début pour accélérer la résolution avant d'espacer les séances suivantes (Riegel, 2018).

Dans la plupart des cas aigus, la phase d'induction initiale suffit à obtenir la guérison. Ensuite, une série de traitements est réalisée à fréquence dégressive de manière à maintenir une réponse clinique. La fréquence est à ajuster au patient (Riegel, 2018).

Les effets de la thérapie laser sont cumulatifs. Après chaque séance, une amélioration clinique doit être observée. Si aucune réponse n'est observée après trois à quatre séances, il faut réévaluer l'animal, le diagnostic ainsi que les zones traitées (Riegel, 2018).

En 2019, les vétérinaires de la Ménagerie avaient tenté une photobiomodulation en utilisant les paramètres présentés dans le tableau 27, inspiré d'un protocole formulé pour les gingivite-stomatites chroniques.

Tableau 28 : Paramètres utilisés dans le cadre de la photobiomodulation destinée au traitement des lésions rostrales chez les rainettes Kunawalu.

Fréquence	Temps	Surface	Énergie	Densité énergétique	Mode d'émission
36 Hz	1 seconde	1 point de 0,5 cm	0,115 J	0,23 J/cm ²	Sinusoidal 50 %

Après 8 jours de séances, la photobiomodulation a été arrêtée faute de succès.

B. Modifications pouvant être apportées au niveau environnemental

Les lésions rostrales sont possiblement d'origine traumatique. Elles sont souvent exacerbées par le stress c'est pourquoi il est important de couvrir les parois transparentes au maximum et de maintenir le terrarium dans une pièce calme. Dans le cadre d'un terrarium d'exposition, il est difficile de maintenir les animaux totalement hors de portée de vue. L'ensemble des parois sont déjà obscurcies, ne laissant qu'une paroi faciale transparente pour les visiteurs. Le terrarium se trouve au sein du Vivarium. Le sens de circulation des visiteurs est imposé par un couloir de passage et le Vivarium est plongé dans la pénombre. Toutefois, ce bâtiment est un lieu qui résonne et les visites d'enfants en bas âge génèrent souvent un volume sonore non négligeable, associé à des percussions sur les vitres, malgré la surveillance des encadrants et les recommandations affichées à l'entrée du Vivarium. A cela s'ajoute également le fait que le terrarium des rainettes Kunawalu se situe directement en face de l'entrée du Vivarium dont la porte est laissée ouverte en permanence. Il peut donc y avoir davantage d'agitation à ce niveau susceptible de générer un stress chronique chez les animaux.

Les zones traumatogènes à l'intérieur du terrarium ne sont pas d'emblée évidentes mais il pourrait être pertinent de capitonner les coins ainsi que le couvercle en treillis métallique pour qu'ils soient moins traumatisants en cas de choc.

Concilier bien-être animal et exposition au public constitue un défi. Il est également intéressant d'aménager davantage de cachettes en fournissant un feuillage plus dense pour que les animaux puissent s'y réfugier tout en restant visibles en partie, ou encore au moyen de récipients retournés afin que les animaux puissent se soustraire du regard du public en toute circonstance.

Certaines structures réalisent également des postes d'observation, où les terrariums sont visibles à partir de petits hublots. Cela ajoute un côté ludique et original à la visite pour les visiteurs, tout en

conférant davantage d'intimité aux animaux. Ces aménagements sont prévus par la Ménagerie du Jardin des Plantes dans un futur proche.

Les paramètres d'ambiance sont également un point important à considérer. Bien que les données que nous avons recueillies ne nous aient pas permis de conclure de façon significative, cela ne nous empêche pas de souligner que des variations d'ambiance tant spatiales que temporelles peuvent être importantes dans le terrarium. La mise en route du chauffage lors de la période d'automne et hiver 2020 n'avait pas pu être réalisée avant fin novembre. Lors de l'étude, des températures aussi basses que 15,1°C (atteintes au niveau de la sonde « Feuillage » en janvier 2021) ou aussi élevées que 29°C (atteintes au niveau de la sonde « Feuillage » en octobre 2020) ont également été relevées. Les variations journalières peuvent être très importantes, atteignant 8,5°C au sein du terrarium, voire 9,5°C au niveau de la sonde extérieure (et donc au sein du Vivarium). Les résultats ont montré des variations de températures débordant fréquemment en dehors des gammes de températures préconisées pour ces espèces situées entre 24 et 30°C (Barnett *et al.*, 2001), avec des écarts pouvant aller jusqu'à 5 à 8°C en deçà de 24 °C. Une température trop basse diminue le métabolisme basal des ectothermes et génère une dépression du système immunitaire. Les infections des premières lésions rostrales pourraient ainsi être reliées à une infection opportuniste suite à une dépression du système immunitaire par des paramètres d'ambiance non adaptés. Ainsi, *Staphylococcus xylosus* fait partie de la flore commensale des grenouilles, et son isolement en nombre peut résulter d'une infection opportuniste faisant suite à une effraction cutanée (Slaughter *et al.*, 2001).

L'hygrométrie n'est pas satisfaisante au sein du terrarium. Elle se maintient de façon correcte au cours de la journée mais des valeurs d'humidité relative inférieures au seuil de 70 % sont enregistrées quotidiennement. L'idéal serait de maintenir une hygrométrie supérieure à 70 % tout au long de la journée (Barnett *et al.*, 2001) afin de ne pas perturber l'homéostasie des animaux. Un tel objectif pourrait éventuellement être atteint en réalisant deux pulvérisations dans la journée, soit une en début de journée et une le soir par exemple.

La qualité de l'eau peut également affecter la santé de la peau. Une concentration toxique en chlore peut engendrer des lésions ulcéraives et la mort. Les autres paramètres ne provoquent pas directement des lésions tégumentaires mais peuvent y contribuer. Des concentrations sub-toxiques en métabolites azotés auraient ainsi pu participer à l'évolution des lésions rostrales infectées potentiellement d'origine traumatique rapportées dans notre étude (Barnett *et al.*, 2001).

Bien que peu de données existent à ce sujet chez les anoures, un apport en UVB pourrait être intéressant à envisager. En effet, la vitamine D₃ joue un rôle important au niveau de la peau en favorisant la réponse immunitaire locale mais serait également impliquée dans la guérison des lésions cutanées en modulant cette réponse et en favorisant l'angiogenèse et la ré-épithélialisation. De plus, nous avons constaté sur les radiographies réalisées une déminéralisation généralisée du squelette ainsi qu'une déformation de la colonne et des membres évoquant une ostéodystrophie chez les animaux. Un apport en UVB serait donc ici doublement intéressant, associé à une complémentation contrôlée en vitamine D₃ et en calcium.

C. Discussion autour de la démarche diagnostique

L'examen histologique s'avère particulièrement judicieux dans la recherche étiologique des lésions de la peau. En effet, il est réalisable à partir d'une biopsie cutanée, facile et relativement sûr à réaliser. Toutefois, il existe, malgré tout, des complications possibles telles que les saignements, en particulier si le prélèvement concerne une zone très vascularisée, les infections et le risque de créer une cicatrice problématique, mais elles sont généralement minimales et facilement prévenues (Nischal *et al.*, 2008).

Il existe différentes méthodes de biopsies qui dépendent de la taille de la lésion, de sa localisation et de la suspicion clinique.

Un choix raisonné de la lésion à prélever ainsi que de la technique est indispensable pour maximiser les chances d'obtenir une biopsie interprétable. En général, il est préférable de choisir une lésion classique, peu remaniée et d'éviter celles situées en zone de friction en raison des interférences secondaires pouvant influencer l'interprétation de la biopsie. Dans notre cas, les grenouilles ne présentaient qu'une seule lésion, laissée au repos depuis plusieurs mois après les tentatives infructueuses de traitement.

Nous avons ici opté pour une biopsie réalisée au moyen d'un punch. Il s'agit de l'une des techniques les plus utilisées à visée diagnostique voire thérapeutique dans certains cas particuliers. Elle est également utilisable pour tous types de lésions solides et vésicules dont la taille est compatible avec le punch. Une taille de 6 mm a été choisie en raison de l'aspect granulomateux des lésions. Elle permet également de recueillir suffisamment de peau pour être représentative de la lésion, sans aggraver l'ulcération déjà présente.

La peau des grenouilles est très fine, notamment au niveau du rostre où elle adhère fortement au périoste sous-jacent. Il importe de ne pas toucher le périoste lors de la biopsie afin d'éviter la douleur associée.

La plaie résultant de la biopsie cicatrise par seconde intention.

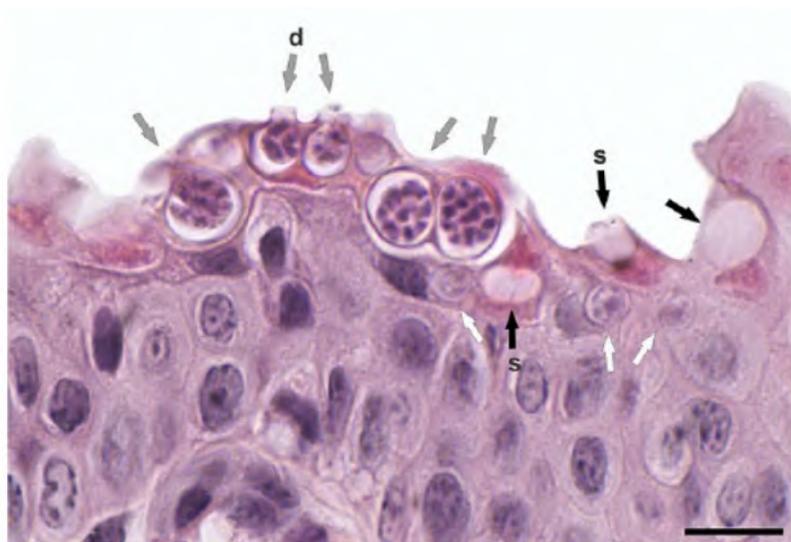
L'avantage de la biopsie par punch permet de recueillir un tissu de forme très uniforme, toutefois, il présente l'inconvénient de ne prélever que les tissus superficiels.

Enfin, il est important de fixer la biopsie cutanée dans un volume de formol à 10 % 10 fois plus important que le volume du tissu ainsi prélevé et de manipuler ce dernier le moins possible afin de ne pas l'endommager.

L'examen histologique permet la caractérisation des lésions cutanées mais aussi de mettre en évidence des agents infectieux. Par exemple, Borteiro *et al.* (2019) ont montré qu'il était possible de visualiser la présence de *Batrachochytrium dendrobatidis* chez 75 % des grenouilles atteintes sur des biopsies de 3,2 mm à 8,7 mm (Figure 131). La sensibilité n'est pas parfaite et reste inférieure à celle de la RT-PCR ; toutefois, cela pourrait constituer une piste intéressante de diagnostic dans le futur (Borteiro *et al.*, 2019).

Figure 131 : Infection cutanée d'une *Physalaemus henselii* par *Batrachochytrium dendrobatidis* (Borteiro *et al.*, 2019).

Les flèches indiquent des sporocystes à différents stades de développement : en blanc, les stades immatures, en gris les sporulés et en noirs les sporanges vides. (d) correspond aux tubes de relargage de spores et (s) au septum.



Dans notre cas, les biopsies ne sont finalement pas très concluantes. Elles sont majoritairement en faveur de lésions cicatricielles d'origine traumatique. L'hypothèse infectieuse apparaît comme peu probable malgré le fait qu'une exclusion rigoureuse en absence de culture bactériologique ou fongique ne soit pas complètement possible. Cependant, on note également l'absence de réponse aux antibiotiques qui pourrait en partie appuyer cette hypothèse non-infectieuse.

Il serait intéressant de s'interroger sur la raison pour laquelle les lésions ont évolué sur un mode chronique, sur plus de deux ans, et pourquoi nous observons des cicatrices, et non une régénération complète de la peau à l'instar de ce qui est relaté dans la littérature scientifique.

Les lésions rostrales ont la particularité de présenter une évolution très lente avec une décoloration secondaire permanente possible, sans que l'on ait pour autant une idée de la durée de guérison. La récupération d'un épithélium normal est extrêmement progressive mais les abrasions rostrales mettent généralement 5 à 14 jours pour guérir (Wright, 2001e).

Des bactériologies ont été réalisées à plusieurs reprises, révélant la présence de *Staphylococcus xylosus* multisensible. Cependant, les traitements antibiotiques n'ont finalement pas permis d'obtenir une nette amélioration. Il aurait pu être intéressant de réaliser une cytologie au début de la démarche diagnostique. Les plaies ne sont actuellement plus traitées mais laissées à cicatriser par seconde intention. Les vétérinaires n'observent pas d'aggravation des lésions, mais au contraire une évolution stable et assez similaire à celle des lésions sous traitement. Se pose alors la question de la pertinence de ces derniers. Au vu du stress engendré lors des manipulations ainsi que du bénéfice limité attendu, il n'est pas aberrant de privilégier une surveillance à un traitement actif. Cependant, dans le cadre d'un traitement plus agressif, il est possible d'envisager un débridement quotidien associé à des traitements antibiotiques et antifongiques ainsi qu'à une prévention des traumatismes futurs (Diana *et al.*, 2001).

On peut imaginer que les animaux se soient blessés à la faveur d'un traumatisme causé par un stress environnemental non identifié. Cette blessure aurait occasionné une infection par un germe de la flore commensale, retardant la cicatrisation. Les paramètres d'ambiance n'étant pas optimaux ne permettraient alors pas une guérison dans de bonnes conditions, prolongeant ainsi la durée de cicatrisation, entretenant alors une lésion inflammation chronique. Il n'est pas exclu qu'à l'instar des humains, la vitamine D₃ joue un rôle dans la guérison des plaies en régulant l'activité de la cathélicidine, un peptide antimicrobien intervenant dans la réaction immunitaire de la peau en favorisant la cicatrisation et la réparation tissulaire, qui est également présente chez les anoues. Bien que son rôle ne soit pas encore entièrement élucidé, y compris chez l'homme, il peut être intéressant de proposer une supplémentation en vitamine D₃ par voie orale ou transdermique dans la gestion des plaies (Mostafa et Hegazy, 2015).

La présence de nombreux mâles au sein d'un même terrarium, sans possibilité de se cacher ou de s'isoler, peut également être source de stress et de traumatisme (Hunt, 2019). On peut aussi noter la diminution de la reproduction ces derniers temps, pouvant être corrélée à une diminution des températures au sein du terrarium. Une réduction de l'activité des grenouilles pourrait alors coïncider avec celle de l'apparition des lésions rostrales. Cela pourrait suggérer que le comportement reproducteur des animaux aurait pu favoriser les interactions antagonistes entre les individus ou une augmentation de l'activité des grenouilles et donc du risque de traumatisme.

CONCLUSION

L'élevage des anoures en captivité requiert une connaissance des particularités de l'espèce cible et une rigueur dans le contrôle et le suivi des paramètres d'ambiance. En effet le métabolisme comme le bien-être des anoures dépendent totalement de leur environnement.

Nous avons pu voir que la gestion des conditions d'élevage *sensu lato* est une science complexe mais indispensable au succès de l'entretien en captivité, même chez une espèce considérée comme facile à conserver telle que la Rainette Kunawalu.

Bien que notre étude ne permette pas de conclure avec certitude sur l'impact des conditions environnementales sur l'apparition et l'évolution de lésions cutanées qui ont motivé l'initiation de ce travail, elle nous a permis de réaliser un premier bilan des paramètres zootechniques encadrant la détention des rainettes Kunawalu.

L'hypothèse traumatique des lésions, causée par le stress est privilégiée compte-tenu de ce que nous avons pu relever. En complément de la gestion médicale ou chirurgicale des lésions, leur prévention doit intégrer une évaluation de leur l'environnement. L'introduction de cachettes supplémentaires pourrait permettre de réduire le stress lié aux congénères ainsi que celui lié à l'exposition aux regards des visiteurs. Dans un second temps, diminuer le nombre de mâles au sein du terrarium pourrait également constituer une mesure intéressante en cas de persistance du problème.

Il serait également intéressant de revoir les modalités de chauffage et de maintien de l'hygrométrie au sein du terrarium.

En effet, si les températures et les valeurs d'hygrométrie restent en moyenne dans les intervalles recommandés dans la littérature scientifique, elles atteignent souvent les valeurs limites basses et peuvent notablement varier selon les jours alors que le thermostat du Vivarium devrait normalement permettre le maintien d'une température ambiante stable. L'isolation de la structure peut être questionnée et il serait intéressant de ne pas maintenir l'entrée du Vivarium ouverte en permanence, car elle favorise la perte thermique. L'absence d'un gradient de température net au sein du terrarium pourrait motiver l'installation d'une lampe chauffante permettant aux animaux de choisir les conditions thermiques qui leur conviennent le mieux. De plus, dans une situation où les grenouilles sont en phase de convalescence comme c'est le cas ici, une hausse de la température au sein du terrarium pourrait s'avérer bénéfique à la guérison des lésions rostrales. Il n'est en effet pas exclu que le retard de cicatrisation observée sur les individus soit imputable à des températures trop faibles pour permettre une stimulation du métabolisme et du processus de cicatrisation.

Le doublement de la fréquence des pulvérisations quotidiennes pourrait permettre d'obtenir une humidité relative plus importante et stable tout au long de la journée, tout en veillant à assurer un drainage correct de l'excès d'humidité avec l'installation d'un drain.

Concernant les paramètres de qualité de l'eau, les changements quotidiens de l'eau des bassins permettent une maîtrise correcte des substances potentiellement nocives, en particulier dans un système fermé comme celui-ci. Les déchets azotés, qui constituent une des problématiques majeures, semblent globalement sous contrôle mais on observe, malgré tout, des concentrations se rapprochant des limites hautes voire supérieures au seuil toxique certains jours. L'exposition était courte, la toxicité n'a en principe pas le temps de s'exprimer, même si une exposition chronique peut également se révéler délétère, sous réserve que les grenouilles s'y baignent effectivement sans qu'on n'ait pu l'objectiver. Cependant, préconiser des changements des bassins plus fréquents reste discutable puisque les animaux ne semblent pas les utiliser. Un élément sur lequel il serait intéressant d'intervenir est le dichlore. Aucun traitement *ad hoc* de l'eau n'est réalisé à la Ménagerie et nous avons pu constater que sa présence était fréquente dans l'eau du réseau utilisée. Un simple vieillissement de l'eau permettrait

d'y remédier, d'autant plus que cela permet de ramener l'eau à température ambiante avant de l'introduire au sein du terrarium.

Enfin, il serait intéressant de réitérer la caractérisation des lésions en cas de récurrence, l'étude actuelle demeurant frustrante sur ce point. Une étude parallèle de la dynamique d'occupation du terrarium par les individus pourrait également se révéler particulièrement pertinente pour affiner nos connaissances sur les besoins physiologiques de ces grenouilles.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :

- ACEMAV, DUGUET R., MELKI F. (2003) Les Amphibiens de France, Belgique et Luxembourg, Mèze, Biotope.
- ALLEN M.E., OFTEDAL O.T. (1989) Dietary Manipulation of the Content of Feed Crickets. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 20, 26-33.
- ANSELME B. (2019) La respiration dans le monde animal. In *Sciences de la nature - Lycée Fénelon*. [<https://brunoanselme.files.wordpress.com/2019/02/respiration-1.pdf>] (consulté le 05/03/2020).
- BARNETT S., COVER J., WRIGHT K.M. (2001) 5 - Amphibian Husbandry and Housing. In *Amphibian Medicine and Captive Husbandry*, Eds Wright, K. M., Whitaker, B. R., Malabar (Florida), Krieger Publishing Company, pp 35-61.
- BARRIENTOS S., STOJADINOVIC O., GOLINKO M.S., BREM H., TOMIC-CANIC M. (2008) Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound Repair Regen* 16(5), 585-601.
- BEA-CREATIONS (2020) Cycle de développement d'un anouère. In *Smavas.fr*. [<https://smavas.fr/comprendre/la-faune-aquatique/grenouille-2>] (consulté le 05/03/2020).
- BECKER M.H., RICHARDS-ZAWACKI C.L., GRATWICKE B., BELDEN L.K. (2014) The effect of captivity on the cutaneous bacterial community of the critically endangered Panamanian golden frog (*Atelopus zeteki*). *Biological Conservation* 176, 199-206.
- BERGER L., VOLP K., MATHEWS S., SPEARE R., TIMMS P. (1999) *Chlamydia pneumoniae* in a Free-Ranging Giant Barred Frog (*Mixophyes iteratus*) from Australia. *Journal of Clinical Microbiology* 37(7), 2378-2380.
- BERKELEYMAPPER (2021) [Logiciel], Berkeley (California), Berkeley Natural History Museums.
- BORTEIRO C., KOLENC F., VERDES J.M., MARTÍNEZ DEBAT C., UBILLA M. (2019) Sensitivity of histology for the detection of the amphibian chytrid fungus *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 31(2), 246-249.
- BOYER R., GRUE C.E. (1995) The Need for Water Quality Criteria for Frogs. *Environmental Health Perspectives* 103(4), 1-6.
- BOYER T., SCOTT P. (2019) 27 - Nutrition. In *Mader's Reptile and Amphibian Medicine and Surgery*, Eds Divers S., Stahl S., 3^e ed., St. Louis (MO), W.B. Saunders, pp 201-223.
- BRIAND A., LAIDEBEURE S., LÉCU A., et al. (2019) Intradermal Infection by Chigger Mites (*Endotrombicula Madagascariensis*) in a Group of *Mantella Baroni* Frogs Illegally Imported from Madagascar. *Journal of Exotic Pet Medicine* 29, 131-135.
- BROGARD J. (1992) Les maladies des reptiles, 2^e éd. Maisons-Alfort, Éditions Du Point Vétérinaire.
- BROWNE R., VERCAMMEN F., VERSCHOOREN E., ANTWIS R.E. (2009) UV-B, Vitamin D3, and amphibian health and behaviour. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 154 (2), 184-190.
- BROWNE R.K., WOLFRAM K., GARCÍA G., BAGATUROV M.F. (2011) Zoo-based amphibian research and conservation breeding programs. *Amphibian and Reptile Conservation*. 5(3), 1-14.
- CAMPBELL L.J., CREWS C.M. (2008) Wound epidermis formation and function in urodele amphibian limb regeneration. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 65(1), 73-79.

- CHAI N., *et al.* (2017) Anesthésie chez les Amphibiens. In *Guide pratique d'anesthésie des NAC*. Paris, Éditions Med'Com, pp 151-166.
- CLAIRAMBAULT P., JANVIER P., RAGE J.-C. (2021) Amphibiens ou Batraciens. In *Encyclopædia Universalis*. [<https://www.universalis.fr/encyclopedie/amphibiens-batraciens/>] (consulté le 18/02/2021).
- CLÉMENT M.E. (2005) Les maladies infectieuses et parasitaires des amphibiens. Thèse Méd. Vét. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort.
- DASZAK P., BERGER L., CUNNINGHAM A.A., *et al.* (1999) Emerging Infectious Diseases and Amphibian Population Declines. *Emerging Infectious Diseases* 5(6), 735-748.
- DEMORI I., EL RASHED Z., CORRADINO V., *et al.* (2019) Peptides for Skin Protection and Healing in Amphibians. *Molecules* 24(2), 347.
- DENSMORE C.L., GREEN D.E. (2007) Diseases of Amphibians. *ILAR Journal* 48(3), 235-254.
- DERONZIER G., SCHÉTRITE S., RACAULT Y., *et al.* (2002) Traitement de l'azote dans les stations d'épuration biologique des petites collectivités. Antony, France, Cemagref.
- DEWYNTER M., MARTY C., COURTOIS É.A., *et al.* (2016) L'identification des rainettes des genres *Osteocephalus* et *Trachycephalus* (Hylidae : *Lophohylineae*) en Guyane. *Les cahiers de la fondation Biotope* 7: 1-16.
- DIANA S., BEASELY V., *et al.* (2001) 16 - Clinical Toxicology. In *Amphibian Medicine and Captive Husbandry*, Eds Wright, K. M., Whitaker, B. R., Malabar (Florida), Krieger Publishing Company, pp 223-232.
- DUBAISSI E., PAPALOPULU N. (2011) Embryonic frog epidermis : a model for the study of cell-cell interactions in the development of mucociliary disease. *Disease Models & Mechanisms* 4(2), 179-192.
- DUBOIS A. (1978) Les principaux stades de développement significatifs en écologie et en génétique des populations des amphibiens anoures. *La Terre et la vie* 32, 453-459.
- DUBY D. (2017) Protocoles de nettoyage des bacs et récipients à amphibiens au Vivarium, protocole de nettoyage pour le Vivarium, Zoo de la Ménagerie du Jardin des Plantes.
- DUELLMAN W.E., TRUEB L. (1994) *Biology of Amphibians*, 2nd éd., Baltimore (USA), The Johns Hopkins University Press, pp 367-414.
- DURSO A., MAERZ J. (2019) 13 - Natural Behaviour. In *Mader's Reptile and Amphibian Medicine and Surgery*, Eds Divers S., Stahl S., 3^e ed., St. Louis (MO), W.B. Saunders, pp 90-99.
- FAIVOVICH J., HADDAD C., GARCIA P., *et al.* (2005) Systematic review of the frog family Hylidae, with special reference Hylinae: Phylogenetic analysis and taxonomic revision. *Bulletin of the American Museum of Natural History* 294, 240.
- FERRIE G.M., ALFORD V.C., ATKINSON J., *et al.* (2014) Nutrition and Health in Amphibian Husbandry. *Zoo Biology* 33(6), 485-501.
- FINKE M.D. (2003) Gut loading to enhance the nutrient content of insects as food for reptiles: A mathematical approach. *Zoo Biology* 22(2):147-162.
- FRANCIS-FLOYD R., WATSON C., PETTY D., POWDER D.B. (2015) Ammonia in Aquatic Systems. *UF School of Forest Resources and Conservation, Program in Fisheries and Aquatic Sciences* FA16. 1-5.
- FROST D. (2020) Amphibian Species of the World. In *American Museum of Natural History*, [<https://amphibiansoftheworld.amnh.org/>] (consulté le 21/05/2021).

- GAMMILL W.M., FITES J.S., ROLLINS-SMITH L.A. (2012) Norepinephrine depletion of antimicrobial peptides from the skin glands of *Xenopus laevis*. *Developmental and Comparative Immunology*. 37(1), 19-27.
- GERMINEO (2021) Désinfectant VIRKON S. In *Germineo*. [<https://www.germineo.com/produit/1467-desinfectant-virkon-s>] (consulté le 18/04/2021).
- GODWIN J.W., BROCKES J.P. (2006) Regeneration, tissue injury and the immune response. *Journal of Anatomy* 209(4), 423-432.
- GODWIN J.W., ROSENTHAL N. (2014) Scar-free wound healing and regeneration in amphibians: Immunological influences on regenerative success. *Differentiation, Exotic Animals in Development* 87(1), 66-75.
- GOELDI E.A. (1907) Description of *Hyla resinifictriae* Goeldi, a new Amazonian Tree-Frog peculiar for its Breeding-habits. *Proceedings of the Zoological Society of London* 77(1), 135-140.
- GONIAKOWSKA-WITALIŃSKA L., KUBICZEK U. (1998) The structure of the skin of the tree frog (*Hyla arborea arborea* L.). *Annals of Anatomy* 180(3), 237-246.
- GRIFFITHS R.A., PAVAJEAU L. (2008) Captive Breeding, Reintroduction, and the Conservation of Amphibians. *Conservation Biology* 22(4), 852-861.
- HADFIELD C.A., WHITAKER B.R. (2005) Amphibian Emergency Medicine and Care. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine* 14(2), 79-89.
- HAYES T.B., CASE P., CHUI S., *et al.* (2006) Pesticide Mixtures, Endocrine Disruption, and Amphibian Declines: Are We Underestimating the Impact? *Environmental Health Perspectives* 114(Suppl 1), 40-50.
- HELMER P.J., WHITESIDE D.P. (2005) Amphibian anatomy and physiology. In *Clinical Anatomy and Physiology of Exotic Species*. Edinburgh, Elsevier-Saunders, pp 3-14.
- HÖDL W. (1991) Begleitveröffentlichung zum wissenschaftlichen Film C 2392 des ÖWF: Phrynohyas resinifictrix (Hylidae, Anura) - Calling behaviour. Vienne. In *Wissenschaftlichen Film (Wien)* 42, 63-70.
- HUNT C.J.-G. (2019) 15 - Stress and Welfare. In *Mader's Reptile and Amphibian Medicine and Surgery*, Eds Divers S., Stahl S., 3^e ed., St. Louis (MO), W.B. Saunders, pp 105-108.
- IUCN (2008) *Trachycephalus resinifictrix* (2008). In *IUCN Red List of Threatened Species*. [<https://www.iucnredlist.org/en>] (consulté le 19/02/2020).
- JBL (2021) Boutique JBL pour aquarium, bassin et terrarium. In *jbl.de* [<https://www.jbl.de/fr/produits/boutique-jbl-pour-aquarium-bassin-et-terrarium?cpref=968&country=us#>] (consulté le 13/03/2021).
- JOHNSON A.J., WELLEHAN J.F.X. (2005) Amphibian virology. *Veterinary Clinics of North America : Exotic Animal Practice* 8(1), 53-65.
- KAST J., NICK H. (2012) Chapter 3 - Hygiene and Disease Management : Field and Captivity. In *Amphibian Husbandry Resource Guide*. Eds Poole V.A., Grow S., 2^e éd. Silver Spring (MD), Association of Zoos and Aquariums, pp 6-59.
- KEEN G.A., PROSSER J.I. (1987) Interrelationship between pH and surface growth of Nitrobacter. *Soil Biology and Biochemistry* 19(6), 665-672.
- KLASING K., THACKER P., LOPEZ M., CALVERT C. (2000) Increasing the calcium content of mealworms (*Tenebrio molitor*) to improve their nutritional value for bone mineralization of growing chicks. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 31(4), 512-517.

- LÉVESQUE M., VILLIARD E., ROY S. (2010) Skin wound healing in axolotls: a scarless process. *Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution* 314(8), 684-697.
- LIMA A.P., MAGNUSSON W.E., MENIN M., *et al.* (2005) Hylidae; *Phrynohyas resinificatrix*. In *Guia de Sapos Da Reserva Adolpho Ducke: Amazônia Central*. Manaus (BRA), Attema Design Editorial, pp 92.
- LIPS K.R., BREM F., BRENES R., *et al.* (2006) Emerging infectious disease and the loss of biodiversity in a Neotropical amphibian community. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 103(9), 3165-3170.
- LLEWELYN V.K., BERGER L., GLASS B.D. (2019) Permeability of frog skin to chemicals : effect of penetration enhancers. *Heliyon* 5(8): e02127.
- MARRIS E. (2008) Bagged and boxed : it's a frog's life. *Nature* 452(7186), 394-395.
- MARTEL A., SPITZEN-VAN DER SLUIJS A., BLOOI M., *et al.* (2013) *Batrachochytrium salamandrivorans* sp. nov. causes lethal chytridiomycosis in amphibians. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 110(38), 15325-15329.
- MATSUDA H., YOKOYAMA H., ENDO T., TAMURA K., IDE H. (2001) An epidermal signal regulates Lmx-1 expression and dorsal-ventral pattern during *Xenopus* limb regeneration. *Developmental Biology*. 229(2), 351-362.
- MCWILLIAMS D.A. (2008) Nutrition Recommendations for some Captive Amphibian Species (Anura and Caudata). The Canadian Association of Zoos and Aquariums Nutrition Advisory Research Group.
- MESCHER A.L., NEFF A.W. (2006) Limb Regeneration in Amphibians : Immunological Considerations. *ScientificWorldJournal* 6, 1-11.
- MIGNET F. (2015) Biology and Captive Breeding of the Amazonian Milk Frog, *Trachycephalus resinificatrix* (Goeldi 1907). *IRCF Reptiles & Amphibians* 22, 68-75.
- MODZELEWSKI E.H., CULLEY D.D. (1974) Growth Responses of the Bullfrog, *Rana catesbeiana* Fed Various Live Foods. *Herpetologica* 30(4), 396-405.
- MOSTAFA W.Z., HEGAZY R.A. (2015) Vitamin D and the skin: Focus on a complex relationship : A review. *Journal of Advanced Research* 6(6), 793-804.
- MOURET H. (2001) L'Élevage des Amphibiens. Paris, Philippe Gérard Editions.
- MUNEOKA K., HOLLER-DINSMORE G., BRYANT S.V. (1986) Intrinsic control of regenerative loss in *Xenopus laevis* limbs. *Journal of Experimental Zoology* 240(1), 47-54.
- MURAWALA P., TANAKA E.M., CURRIE J.D. (2012) Regeneration: The ultimate example of wound healing. *Seminars in Cell & Developmental Biology, Wound Repair* 23(9), 954-962.
- MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE (2021a) Ménagerie, le zoo du Jardin des Plantes. In *Jardin des Plantes de Paris* [<https://www.jardindesplantesdeparis.fr/fr/programme/galleries-jardins-zoo-bibliotheques/menagerie-zoo-jardin-plantes-2765>] (consulté le 28/04/2021).
- MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE (2021b) *Trachycephalus resinificatrix* (Goeldi, 1907). In *Inventaire National du Patrimoine Naturel*. [https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/436891] (consulté le 17/03/2020).
- MYLNICZENKO N. (2009) Amphibians. In *Manual of Exotic Pet Practice*, Eds Mitchell M.A., Tully T.N. Saint Louis, W.B. Saunders, pp 73-111.

- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (US) SUBCOMITTEE ON AMPHIBIAN STANDARDS. (1974) Amphibians: Guidelines for the Breeding, Care and Management of Laboratory Animals. Washington, D.C., National Academies Press.
- NISCHAL U., NISCHAL KC, KHOPKAR U. (2008) Techniques of Skin Biopsy and Practical Considerations. *Journal of Cutaneous and Aesthetic Surgery* 1(2), 107-111.
- NOBLE G.K. (1931) The biology of the amphibia. New York, McGraw-Hill.
- ODUM R.A., ZIPPEL K.C. (2008) Amphibian water quality: approaches to an essential environmental parameter : Water Quality and Amphibian Conservation. *International Zoo Yearbook* 42(1), 40-52.
- PASMANS F., MARTEL A. (2019a) 12 - Amphibian Taxonomy, Anatomy, and Physiology. In *Mader's Reptile and Amphibian Medicine and Surgery*, Eds Divers S., Stahl S., 3^e ed., St. Louis (MO), W.B. Saunders, pp 86-89.
- PASMANS F., MARTEL A. (2019b) 28 - Amphibians. In *Mader's Reptile and Amphibian Medicine and Surgery*, Eds Divers S., Stahl S., 3^e ed., St. Louis (MO), W.B. Saunders, pp 224-234.
- PESSIER A.P. (2002) An overview of amphibian skin disease. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine, Anatomy and Disorders of the Integument* 11(3), 162-174.
- PEZZUTI T.L., LEITE F.S.F., NOMURA F. (2009) The Tadpole of *Phyllomedusa itacolomi* (Anura, Hylidae), with a Description of the Internal Oral Morphology. *South American Journal of Herpetology* 4(2), 117-124.
- POND CONTENT NETWORK (2010) Water Tech: Care and Feeding of Nitrifying Bacteria. In *POND Trade Magazine*. [<https://www.pondtrademag.com/water-tech-care-and-feeding-of-nitrifying-bacteria/>] (consulté le 25/04/2020).
- POYNTON SL., WHITAKER B.R. (2001) Protozoa and metazoan infecting amphibians. In *Amphibian Medicine and Captive Husbandry*, Eds Wright, K. M., Whitaker, B. R., Malabar (Florida), Krieger Publishing Company, pp 193-221.
- PRAMUK J.B., GAGLIARDO R. (2012) General Amphibian Husbandry. In *Amphibian Husbandry Resource Guide*, Eds Poole V.A., Grow S., 2^e ed., Silver Spring, MD, Association of Zoos and Aquariums, pp 6-59.
- RAMSEY J.P., REINERT L.K., HARPER L.K., WOODHAMS D.C., ROLLINS-SMITH L.A. (2010) Immune defenses against *Batrachochytrium dendrobatidis*, a fungus linked to global amphibian declines, in the South African clawed frog, *Xenopus laevis*. *Infection and Immunology* 78(9), 3981-3992.
- REAVILL D.R. (2001) Amphibian Skin Diseases. *Veterinary Clinics of North America : Exotic Animal Practice* 4(2), 413-440.
- RIEGEL R.J. (2017) Laser therapy in veterinary medicine : photobiomodulation. Chichester (West Sussex), John Wiley & Sons Inc.
- ROLLINS-SMITH L.A., CONLON J.M. (2005) Antimicrobial peptide defenses against chytridiomycosis, an emerging infectious disease of amphibian populations. *Developmental and Comparative Immunology*. 29(7), 589-598.
- ROLLINS-SMITH L.A., RAMSEY J.P., PASK J.D., REINERT L.K., WOODHAMS D.C. (2011) Amphibian immune defenses against chytridiomycosis: impacts of changing environments. *Integrative and Comparative Biology* 51(4), 552-562.
- SALTERS INSTITUTE (2021) Nitrogen Cycle. In *Salters Chemistry* [<http://www.4college.co.uk/a/aa/nitrogen.php>] (consulté le 04/02/2021).

- SANTIANI M. (2002) Amphibiens et Reptiles. Saint-Armand-Montrond. Éditions Artémis.
- SATOH A., GRAHAM G.M.C., BRYANT S.V., GARDINER D.M. (2008) Neurotrophic regulation of epidermal dedifferentiation during wound healing and limb regeneration in the axolotl (*Ambystoma mexicanum*). *Developmental Biology*. 319(2), 321-335.
- SCHIESARI L., GORDO M., HODL W., LANNOO M. (2003) Treeholes as Calling, Breeding, and Developmental Sites for the Amazonian Canopy Frog, *Phrynohyas resinifictrix* (Hylidae). *Copeia* 2, 263-272.
- SEIFERT A.W., MONAGHAN J.R., VOSS S.R., MADEN M. (2012) Skin Regeneration in Adult Axolotls: A Blueprint for Scar-Free Healing in Vertebrates. *PLoS One* 7(4), e32875.
- SLAUGHTER D.M., PATTON T.G., SIEVERT G., SOBIESKI R.J., CRUPPER S.S. (2001) Antibiotic resistance in coagulase-negative staphylococci isolated from Cope's gray treefrogs (*Hyla chrysoscelis*). *FEMS Microbiology Letters* 205(2), 265-270.
- SMITH H.K., PASMANS F., DHAENENS M., *et al.* (2018) Skin mucosome activity as an indicator of *Batrachochytrium salamandrivorans* susceptibility in salamanders. *Plos One* 13(7), e0199295.
- SPEARE R., BERGER L., O'SHEA P., LADDS P.W., THOMAS A.D. (1997) Pathology of Mucormycosis of Cane Toads in Australia. *Journal of Wildlife Diseases* 33(1), 105-111.
- STABILE J., SANTIAGO L.A., JOGLAR R.L. (2014) Reproductive biology of the mono coqui (*Eleutherodactylus monensis*) in captivity. *Herpetological Review* 45 (2), 248-250.
- SVOBODOVA Z., LLOYD R., MACHOVA J., VYKUSOVA B. (1993) Water quality and fish health. *EIFAC Technical Paper* 54, Rome, Food and Agriculture Organisation, pp 59.
- TAPLEY B., BRADFIELD K.S. (2007) *Trachycephalus resinifictrix* Husbandry Guidelines. Jersey (UK), *Durrell Wildlife Conservation Trust*.
- TAPLEY B., RENDLE M., BAINES F.M., *et al.* (2015) Meeting ultraviolet B radiation requirements of amphibians in captivity: A case study with mountain chicken frogs (*Leptodactylus fallax*) and general recommendations for pre-release health screening: UV-B Requirements of Captive Amphibians. *Zoo Biology* 34(1), 46-52.
- TAWK M., VRIZ S. (2003) La régénération des appendices chez les vertébrés : un modèle expérimental ancien pour étudier les cellules souches chez l'adulte. *Médecine/sciences* 19(4), 465-471.
- TAYLOR S. (2001) 14 - Mycoses. *In Amphibian Medicine and Captive Husbandry*, Eds Wright, K. M., Whitaker, B. R., Malabar (Florida), Krieger Publishing Company, pp 181-192.
- TAYLOR S., GREEN D., *et al.* (2001) 13 - Bacterial Diseases. *In Amphibian Medicine and Captive Husbandry*, Eds Wright, K. M., Whitaker, B. R., Malabar (Florida), Krieger Publishing Company, pp 159-180.
- TAYLOR S.K., WILLIAMS E.S., PIER A.C., MILLS K.W., BOCK M.D. (1999) Mucormycotic Dermatitis in Captive Adult Wyoming Toads. *Journal of Wildlife Diseases* 35(1), 70-74.
- 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.
- VARGA J.F.A., BUI-MARINOS M.P., KATZENBACK B.A. (2019) Frog Skin Innate Immune Defenses: Sensing and Surviving Pathogens. *Frontiers in Immunology* 9, 3128.

- VERSCHOOREN E., BROWN R.K., VERCAMMEN F., PEREBOOM J. (2011) Ultraviolet B radiation (UV-B) and the growth and skeletal development of the Amazonian milk frog (*Trachycephalus resinifictrix*) from metamorphosis. *Journal of Physiology and Pathophysiology* 2, 34-42.
- VETOSTORE (2021) SOFCANIS ADULTE. In *Vetostore*. [<https://www.vetostore.com/sofcanis-adulte>] (consulté le 09/03/2021).
- VITT L.J., CALDWELL J.P. (2013a) 2 - Anatomy of Amphibians and Reptiles. In *Herpetology: An Introductory Biology of Amphibians and Reptiles*, 4th ed., Amsterdam, Academic Press, pp 35-82.
- VITT L.J., CALDWELL J.P. (2013b) 4 - Reproduction and Life Histories. In *Herpetology: An Introductory Biology of Amphibians and Reptiles*, 4th ed., Amsterdam, Academic Press, pp 117-155.
- VITT L.J., CALDWELL J.P. (2013c) 5 - Reproductive Modes. In *Herpetology: An Introductory Biology of Amphibians and Reptiles*, 4th ed., Amsterdam, Academic Press, pp 157-178.
- VITT L.J., CALDWELL J.P. (2013d) 6 - Water Balance and Gas Exchange. In *Herpetology: An Introductory Biology of Amphibians and Reptiles*, 4th ed., Amsterdam, Academic Press, pp 181-202.
- VITT L.J., CALDWELL J.P. (2013e) 7 - Thermoregulation, Performance, and Energetics. In *Herpetology: An Introductory Biology of Amphibians and Reptiles*, 4th ed., Amsterdam, Academic Press, pp 203-227.
- VITT L.J., CALDWELL J.P. (2013f) 16 - Salamanders. In *Herpetology: An Introductory Biology of Amphibians and Reptiles*, 4th ed., Amsterdam, Academic Press, pp 457-469.
- VITT L.J., CALDWELL J.P. (2013g) 17 - Frogs. In *Herpetology: An Introductory Biology of Amphibians and Reptiles*, 4th ed., Amsterdam, Academic Press, pp 471-522.
- WERNER S., GROSE R. (2003) Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiological Reviews* 83(3), 835-870.
- WHITAKER B.R. (2001) 12 - Water Quality. In *Amphibian Medicine and Captive Husbandry*, Eds Wright, K. M., Whitaker, B. R., Malabar (Florida), Krieger Publishing Company, pp 147-158.
- WHITAKER B.R., WRIGHT K.M. (2019) 89 - Amphibian Medicine. In *Mader's Reptile and Amphibian Medicine and Surgery*, Eds Divers S., Stahl S, 3^e ed., St. Louis (MO), W.B. Saunders, pp 992-1013.
- WHITEAR M. (1989) Merkel cells in lower vertebrates. *Archives of Histology and Cytology* 52(Suppl), 415-422.
- WILLAERT B., BIJU S.D. (2016) A unique mating strategy without physical contact during fertilization in Bombay Night Frogs (*Nyctibatrachus humayuni*) with the description of a new form of amplexus and female call. *PeerJ* 4: e2117.
- WOODHAMS D.C., BRANDT H., BAUMGARTNER S., *et al.* (2014) Interacting Symbionts and Immunity in the Amphibian Skin Mucosome Predict Disease Risk and Probiotic Effectiveness. *Plos One* 9(4): e96375.
- WOODHAMS D.C., VREDENBURG V.T., SIMON M.-A., *et al.* (2007) Symbiotic bacteria contribute to innate immune defenses of the threatened mountain yellow-legged frog, *Biological Conservation* 138, 390-398.
- WRIGHT K.M. (2001a) 3 - Anatomy for the Clinician. In *Amphibian Medicine and Captive Husbandry*, Eds Wright, K. M., Whitaker, B. R., Malabar (Florida), Krieger Publishing Company, pp 15-30.
- WRIGHT K.M. (2001b) 6 - Diets for Captive Amphibians. In *Amphibian Medicine and Captive Husbandry*, Eds Wright, K. M., Whitaker, B. R., Malabar (Florida), Krieger Publishing Company, pp 63-72.
- WRIGHT K.M. (2001c) 7- Nutritional Disorders. In *Amphibian Medicine and Captive Husbandry*, Eds Wright, K. M., Whitaker, B. R., Malabar (Florida), Krieger Publishing Company, pp 73-88.

- WRIGHT K.M. (2001d) 9 - Restraint Techniques and Euthanasia. *In Amphibian Medicine and Captive Husbandry*, Eds Wright, K. M., Whitaker, B. R., Malabar (Florida), Krieger Publishing Company, pp 111-122.
- WRIGHT K.M. (2001e) 17 - Trauma. *In Amphibian Medicine and Captive Husbandry*, Eds Wright, K. M., Whitaker, B. R., Malabar (Florida), Krieger Publishing Company, pp 233-238.
- WRIGHT K.M. (2001f) 24 - Pharmacotherapeutics. *In Amphibian Medicine and Captive Husbandry*, Eds Wright, K. M., Whitaker, B. R., Malabar (Florida), Krieger Publishing Company, pp 309-330
- YOKOYAMA H., MARUOKA T., ARUGA A., *et al.* (2011) Prx-1 expression in *Xenopus laevis* scarless skin-wound healing and its resemblance to epimorphic regeneration. *Journal of Investigative Dermatology* 131(12), 2477-2485.
- ZAMUDIO K.R., BELL R.C., NALI R.C., HADDAD C.F.B., PRADO C.P.A. (2016) Polyandry, Predation, and the Evolution of Frog Reproductive Modes. *The American Naturalist* 188(S1), S41-S61.
- ZIPPEL K., JOHNSON K., GAGLIARDO R., *et al.* (2011) The Amphibian Ark: A Global Community for The Ex-Situ Conservation of Amphibians. *Herpetological Conservation and Biology* 6, 340-352.

ANNEXES :

Annexe 1 : Tableau récapitulatif des modifications anatomiques observées lors de la métamorphose. (ACEMAV *et al.*, 2003).

La bouche et le crâne	Élargissement de la bouche par allongement des mâchoires ; Disparition des dents labiales et du bec corné, apparition des dents véritables ; Apparition d'une langue musculaire (sauf pour les xénopes) ; Remodelage du crâne modifiant la forme de la tête.
La région pharyngienne	Régression partielle du pharynx, en relation avec les changements de mode respiratoire et de régime alimentaire ; Disparition des branchies et du spiracle ;
Les membres	Saillie puis émergence.
La cavité générale	Achèvement du développement des poumons ; Apparition d'un estomac ; Raccourcissement et dé-spiralisation de l'intestin.
La queue	Régression puis disparition.
La peau	Augmentation du nombre de couches cellulaires épidermiques ; Modification de la pigmentation.
Les organes des sens	Transformation des yeux qui se rapprochent et deviennent proéminents ; Épaississement de la cornée ; Croissance et changement de la forme du cristallin qui, de sphérique, devient lenticulaire ; Développement des paupières, de la membrane nictitante et des différentes glandes liées à l'œil ; Croissance des muscles moteurs de l'œil ; Apparition de la columelle tympanique dans la cavité de l'oreille moyenne ; Disparition de la ligne latérale (sauf chez les xénopes et les sonneurs).

Annexe 2 : Détermination de la fraction de NH₃ non ionisé dans l'eau selon la température et le pH (Pramuk et Gagliardo, 2012) adapté de Emerson *et al.*, 1975.

Température (°C)	pH						
	Acide		Neutre	Basique			
	6,0	6,5	7,0	7,5	8,0	8,5	9,0
5	0,0125	0,0395	0,125	0,395	1,23	3,80	11,1
10	0,0186	0,0589	0,186	0,586	1,83	5,56	15,7
15	0,0274	0,0865	0,273	0,859	2,67	7,97	21,5
20	0,0397	0,125	0,369	1,24	3,82	11,2	28,4
25	0,0569	0,18	0,566	1,77	5,38	15,3	36,3
30	0,0805	0,254	0,799	2,48	7,46	20,3	44,6

Annexe 3 : Paramètres de la qualité de l'eau pour le maintien des amphibiens en captivité (National Research Council (US) Subcommittee on Amphibian Standards, 1974 ; Odum et Zippel, 2008 ; Pasmans et Martel, 2019b).

Paramètres de qualité de l'eau	Effet sur les amphibiens	Seuils acceptables	Méthodes de résolution
Dioxyde de carbone	Variations brusques délétères. Dérégulation acido-basique.	< 5 mg/L. Survie durant de longues périodes des poissons, et possiblement des larves d'amphibiens, à une concentration de 12 mg/L douteuse.	Dans un système bien ventilé et ouvert, il est rare d'atteindre des niveaux toxiques en CO ₂ . Une augmentation de CO ₂ peut diminuer le pH.
Dioxygène dissous	Le dioxygène est indispensable pour la respiration et les processus aérobie.	> 80 % de saturation. > 5 mg/L ou ppm.	Aération.
Sursaturation en gaz dissous	« Maladie des bulles » (embolie gazeuse), notamment chez les espèces aquatiques.	Les gaz dissous doivent être en équilibre avec les gaz atmosphériques.	Aération jusqu'à atteinte de l'équilibre. Usage d'une pierre poreuse et d'une pompe à aquarium pour favoriser la circulation de l'air. Placer un tuyau au-dessus de la surface de l'eau lors du remplissage du réservoir d'eau, laisser mûrir l'eau et en la ramenant à température ambiante avant de l'utiliser.
Dureté de l'eau (sels de Ca et Mg dissous)	Une eau dure peut poser des problèmes cutanés chez certaines espèces en dérégulant la régulation osmotique de l'individu. Une eau douce est souvent préférable mais cela reste espèce-dépendante.	< 75 mg/L (ppm) de CaCO ₃ pour les animaux nécessitant une eau douce. Une eau avec une concentration de CaCO ₃ > 100 mg/L doit être considérée comme dure. Ne pas dépasser 150 mg/L de CaCO ₃ .	Diluer l'eau dure avec de l'eau osmosée, déminéralisée ou distillée. Il est possible de rendre l'eau plus dure en y ajoutant des sels de Ca ou de Mg à de l'eau déminéralisée ou distillée.
Ammoniaque et ammonium	Très toxique.	< 0,2 mg/L d'azote > 0,2 mg/L délétère pour les poissons et peut aussi l'être chez les amphibiens. Niveau d'ammoniaque non ionisé > 0,02 ppm sont problématiques. (Densmore et Green, 2007)	Filtration biologique, chimique ou changements d'eau.
Nitrites NO₂⁻	Toxique	< 1,0 mg/L, idéalement nul.	Filtration biologique, chimique ou changements d'eau.

Paramètres de qualité de l'eau	Effet sur les amphibiens	Seuils acceptables	Méthodes de résolution
Nitrates NO ₃ ⁻	Légèrement toxique. Déléteres pour les larves et les adultes.	< 50 mg/L. Nitrites et nitrates ne doivent pas excéder 0,3 mg/L pour ne pas favoriser la croissance d'algues.	Élimination par action photosynthétique des plantes ou par changements d'eau.
pH	Peut poser des problèmes métaboliques et altérer les échanges ioniques.	Espèce-dépendante mais généralement, il faut un pH neutre.	Changer la source d'approvisionnement ou ajouter des tampons appropriés.
Dichlore Cl ₂	Très toxique. Délétere voire létal, peut causer des hémorragies et des lésions cutanées ulcératives (Densmore et Green, 2007).	0	Aérer pour 24h ou ajouter un déchlorinateur chimique (thiosulfate de sodium).
Chloramines (ClNH ₂ , ClN ₂ H, ClN ₃)	Très toxiques	< 0,01 mg/L de chlore	Utiliser un déchloramineur spécifique.
Phosphates	Toxique pour de nombreux animaux en interférant dans le métabolisme calcique.	Toxicité espèce-dépendante. < 10 mg/L recommandé.	Les éponges et filtres à phosphates peuvent être utilisés.
Microorganismes	Infections.	Densité des coliformes fécaux < 2 000/100 mL. Densité des coliformes totaux < 20 000/100mL.	Hygiène du terrarium et changement régulier d'eau.
Cuivre	Toxique. Inhibiteur de croissance des têtards.	< 0,05 mg/L.	Ajout d'EDTA à la dose de 50 mg/L. Filtration du cuivre avec du charbon ou le faire précipiter avec du carbonate, éviter les canalisations en cuivre.
Biphényles polychlorés	Toxiques.		Usage de tuyaux en polypropylène haute densité, propylène ou nylon. Usage de plastiques rigides, avec moins de plastifiants.

Annexe 4 : Présentation des autres sources d'eau disponibles en élevage (Odum et Zippel, 2008 ; Pramuk et Gagliardo, 2012).

Source	Avantages	Précautions
Eau de pluie	<p>Eau douce.</p> <p>Alternative à l'eau du réseau municipal si ni acide ni contaminée par la pollution, et pour les structures isolées qui ne sont pas en mesure d'avoir accès à d'autres sources d'approvisionnement en eau.</p> <p>Particulière intéressante pour les amphibiens se reproduisant au niveau des aisselles des plantes comme <i>Dendrobates</i>.</p>	<p>Contamination possible en métaux et autres substances chimiques par les surfaces en cuivre, galvanisées ou en bardeau d'asphalte.</p> <p>Contamination possible des barils de collectes par des amphibiens sauvages.</p> <p>Le pH doit être testé si une pollution de l'air existe.</p>
Eau de puits	<p>Source acceptable et régulière d'eau.</p>	<p>Dans les régions calcaires, l'eau peut être trop dure et trop basique.</p> <p>Dans les zones agricoles, l'eau peut être riche en phosphates et nitrates à cause des engrais qui ont pu infiltrer les nappes phréatiques.</p> <p>Elle peut aussi être sursaturée en azote et dioxyde de carbone, être dépourvue d'oxygène, voire contenir des doses létales de sulfure d'hydrogène.</p>
Bassins naturels : étangs, ruisseaux et lacs.	<p>Sources d'eau convenables.</p> <p>Diversité inégalable pour les animaux, notamment au niveau nutritionnel,</p>	<p>Provenance de l'eau à vérifier afin d'éviter toute contamination (champs agricoles en amont par exemple).</p> <p>Contamination possible par des agents pathogènes provenant des animaux sauvages.</p> <p>Rechercher <i>Batrachochytrium dendrobatidis</i> si circulation dans la région.</p> <p>Traitement au préalable pour éviter toute introduction d'agents pathogènes.</p>

Source	Avantages	Précautions
Eau en bouteille	Alternative si l'eau du réseau ne convient pas et qu'une source externe fiable n'est pas disponible.	Test préalable du pH, la dureté et du taux de chlore car selon la provenance, elle peut être dure et basique. Les critères de pureté pour les eaux en bouteilles ne sont pas aussi stricts que pour l'eau du réseau.
Eau osmosée	Source constante et sûre d'eau pure. Peut être utilisée pour les espèces vivant dans de l'eau de pluie pure comme <i>Dendrobates</i> et autres habitants de phytotelmes (microhabitats aquatiques contenus dans une plante terrestre).	Eau à pureté élevée : déséquilibre osmotique engendrant un gonflement et un dysfonctionnement rénal Pour la majorité des autres espèces, d'autres constituants doivent être ajoutés comme des sels et des éléments traces. <u>Exemple</u> : Ajout dans 100L d'eau osmosée de : 4 g de chlorure de calcium, 4,6 g de sulfate de magnésium, 3,6 g de bicarbonate de potassium, 3 g de bicarbonate de sodium et 0,13 g de mélange d'éléments traces du commerce ↔ résultat obtenu similaire à de l'eau de rivière avec une dureté de 3°, une dureté carbonatée de 2°, des ratios Ca/Mg et Na/Ca+Mg+K idéaux, et un pH autour de 7,4 dépendant du niveau d'aération.

Annexe 5 : Diagnostic différentiel des maladies cutanées des amphibiens associées à un érythème cutané ou une décoloration. (Pessier, 2002).

Maladie	Espèces affectées	Commentaires et principaux signes cliniques associés
Hyperhémie causée des irritants chimiques	Toutes espèces	Ammoniaque, chlore, désinfectants etc.
« Red Leg Syndrome » ou sepsis	Toutes espèces	Érythème ventral, œdème, épanchement, pétéchies.
Chlamydophilose	<i>Xenopus spp.</i> , <i>Ceratobatrachus guentheri</i> , <i>Mixophyes iteratus</i>	Peut ressembler au « Red Leg Syndrome » mais signes cutanés inconstants.
Infections par Iridovirus	Toutes espèces	Ressemble au « Red Leg Syndrome » ; érythème, pétéchies, ulcération, œdème.
Chytridiomycose	Toutes espèces	Décoloration marron, érythème et mue excessive.
Capillariose cutanée	<i>Xenopus spp.</i>	Décoloration grise à marron, augmentation de la desquamation cutanée peau d'apparence rugueuse.
Parasitose à protozoaires	Espèces aquatiques et stades de vie aquatiques	Décoloration, ulcérations, branchies hyperémies.
Nématodes rhabditiformes	Espèces terrestres	Érythème inconstant, décoloration.
Décoloration épidermique bactérienne	Toutes espèces	Plages de pigmentation grises, marrons ou noires répondant aux antibiotiques.

Annexe 6 : Reconstitution d'un Ringer Lactate pour amphibiens (Whitaker et Wright, 2019).

Fluide isotonique d'environ 230 mOsm/L :

6,6 g de chlorure de sodium NaCl
0,15 g de chlorure de calcium CaCl ₂
0,2 g de bicarbonate de sodium NaHCO ₃

Dans 1 L d'eau distillée

Annexe 7 : Diagnostic différentiel des maladies cutanées nodulaires chez les amphibiens. (Pessier, 2002).

Maladie	Espèces affectées	Particularités cliniques
Mycobactériose	Toutes espèces	Nodules unique ou multiples, pouvant s'ulcérer et être associés à des abcès ou de la cellulite.
Chromomycose	Toutes espèces	Nodules unique ou multiples pouvant s'ulcérer ou être accompagnés de pigmentations gris-noires.
Infection à zygomycètes	Toutes espèces	
Néoplasie	Toutes espèces	
Abcès	Toutes espèces	
Trombiculose	Espèces terrestres	Nodules ou vésicules oranges à rouges de petites tailles (1 mm).
Parasites métazoaires enkystés (dont filaires, spirures, nématodes, trématodes)	Toutes espèces	
Infection par Herpesvirus	<i>Rana dalmatina</i>	Vésicules épidermiques blanches à noires.

Annexe 8 : Diagnostic différentiel des maladies cutanées ulcérées chez les amphibiens. (Pessier, 2002).

Maladie	Espèces affectées	Signes cliniques
Abrasions/traumatismes cutanés	Toutes espèces	
Irritants chimiques	Espèces aquatiques ou stades de vie aquatiques	
Mycobactériose	Toutes espèces	Ulcères fréquemment associés à des lésions nodulaires.
Saprolégniose	Espèces aquatiques ou stades de vie aquatiques	Ulcères fréquemment associés à des placards duveteux de mycellium.
Chromomycose	Toutes espèces	Ulcères fréquemment associés à des lésions nodulaires, possible pigmentation gris ou noire des lésions.
Infection par zygomycète	Toutes espèces	
Infection par Iridovirus	Toutes espèces	Érythème, pétéchies, ulcération, œdème sous-cutané ; ressemble au « Red Leg Syndrome ».

Annexe 9 : Traitements pouvant être utilisés de la saprolégniose. (Taylor, 2001).

Sels de mer	10-25 g/L pendant 5-30 min en balnéation
Chlorure de benzalkonium	2 mg/L pendant 1 h en balnéation, toutes les 24 h. 0,25 mg/L en balnéation, renouvelé toutes les 72 h.
Bleu de méthylène	2-4 mg/L en bain continu (ne pas excéder 2 mg/L pour les têtards).
Permanganate de potassium	200 mg/L pendant 5 min en balnéation toutes les 24 h.
Vert de alachite	0,2 mg/L pendant 1 h en balnéation toutes les 24 h.

Annexe 10 : Fiche identification *Trachycephalus resinifictrix* (photographies personnelles).

N°	Vue rostrale	Vue dorsale	Vue latérale gauche	Vue latérale droite	Taille (cm)	Poids (g)	Sexe
1					10	42,6	Femelle
2					9,1	55,6	Mâle

3



10,4

55,6

Mâle

4



10

51

Mâle

5



9,3

55,7

Mâle

6



9,6

54,2

Mâle

7



10,6

70,7

Femelle

8



8,8

40,2

Mâle

9



9,4

57,2

Mâle

Annexe 11 : Variations de température enregistrées au sein du terrarium d'exposition entre le 29 septembre et le 9 octobre 2020.

Sonde	Extérieur (°C)		Feuillage (°C)		Sol (°C)		Différence max-min (°C)		
	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Extérieur	Feuillage	Sol
29-sept	18,7	26,5	22,6	27,2	19,5	28,0	7,8	4,6	8,5
30-sept	-	-	19,5	23,7	18,7	23,2	0,0	4,2	4,5
01-oct	18,7	27,0	23,3	29,0	19,5	28,0	8,3	5,7	8,5
02-oct	18,5	27,0	21,6	29,0	19,5	28,0	8,5	7,4	8,5
03-oct	21,0	24,7	21,5	23,3	21,3	22,3	3,7	1,8	1,0
04-oct	20,6	24,5	20,2	22,7	20,8	22,1	3,9	2,5	1,3
05-oct	20,1	24,5	19,6	22,4	20,1	22,1	4,4	2,8	2,0
06-oct	20,6	23,6	21,1	22,3	20,8	21,6	3,0	1,2	0,8
07-oct	21,2	24,3	21,5	23,0	20,8	22,4	3,1	1,5	1,6
08-oct	21,2	25,1	21,2	23,4	20,8	22,7	3,9	2,2	1,9
09-oct	21,2	25,8	21,2	24,2	20,8	23,7	4,6	3,0	2,9

Annexe 12 : Différences entre les températures enregistrées au sein du terrarium d'exposition et la température extérieure entre le 29 septembre et le 9 octobre 2020.

Date	Min Feuillage – Ext (°C)	Max Feuillage – Ext (°C)	Min Sol – Ext (°C)	Max Sol – Ext (°C)
29-sept	3,9	0,7	0,8	1,5
01-oct	4,6	2,0	0,8	1,0
02-oct	3,1	2,0	1,0	1,0
03-oct	0,5	-1,4	0,3	-2,4
04-oct	-0,4	-1,8	0,2	-2,4
05-oct	-0,5	-2,1	0,0	-2,4
06-oct	0,5	-1,3	0,2	-2,0
07-oct	0,3	-1,3	-0,4	-1,9
08-oct	0,0	-1,7	-0,4	-2,4
09-oct	0,0	-1,6	-0,4	-2,1

Annexe 13 : Variations de l'hygrométrie enregistrée au sein du terrarium d'exposition entre le 29 septembre et le 9 octobre 2020.

Sonde	Feuillage (%)		Sol (%)	
	Min	Max	Min	Max
29-sept	59,0	59,0	77,0	99,0
30-sept	56,0	81,0	82,0	99,0
01-oct	-	-	65,0	99,0
02-oct	56,0	91,0	68,0	99,0
03-oct	57,0	86,0	78,0	99,0
04-oct	56,0	99,0	78,0	99,0
05-oct	62,0	99,0	78,0	99,0
06-oct	72,0	86,0	83,0	99,0
07-oct	61,0	88,0	71,0	99,0
08-oct	61,0	99,0	77,0	99,0
09-oct	71,0	99,0	77,0	99,0

Annexe 14 : Variations de température enregistrées au sein du terrarium d'exposition entre le 12 octobre 2020 et le 11 janvier 2021.

Sonde	Extérieur (°C)		Feuillage (°C)		Sol (°C)	
Date	Min	Max	Min	Max	Min	Max
12-oct.	21,2	26,3	20,3	26	20,7	24,2
13-oct.	20,6	26,3	20,3	26	19,1	24,2
14-oct.	20,5	26,3	19,8	26	19,1	24,2
15-oct.	20,5	26,3	19,8	26	19,1	19,1
16-oct.	20,6	24,5	19,7	22	20,2	22
20-oct.	20,5	26,3	19,8	26	19,1	24,2
21-oct.	20,6	24,4	-	-	21	21,8
22-oct.	20,6	25,7	22,1	23	21	23,4
23-oct.	22,1	24,3	22,6	23	22	24,1
24-oct.	23,1	25,5	26,1	29	20,6	21
27-oct.	19,1	26,1	21	26	20,2	24,2
7-déc.	16,1	25,9	18,6	26	17,5	23,4
8-déc.	20	21,5	19,1	23	17,1	18,2
10-déc.	17	21,6	18,8	24	17,1	18,3
11-déc.	16	21,2	18,8	23	17,1	18,2
15-déc.	18,1	22,7	17,6	24	18,2	19,5
16-déc.	18,7	23,1	16,7	19	18,7	19,8
17-déc.	19,1	23,1	17,2	19	19,1	20,2
28-déc.	16,7	24,2	16	21	17,3	21,1
29-déc.	16,7	21,2	16,7	20	17,1	18,3
30-déc.	17,3	21	15,7	17	16,7	18,1
31-déc.	17,5	21,2	15,5	18	17,3	18,2
4-janv.	16,5	21,6	15,1	18	15,6	17
5-janv.	17,3	21,2	-	-	17,5	18,3
6-janv.	17,2	21,1	15,5	20	17,3	18,2
8-janv.	17,2	21,2	15,4	18	16,7	18,2
11-janv.	16	21,3	-	-	16,3	18,2



PROTOCOLES DE NETTOYAGE DES BACS ET RECIPIENTS A AMPHIBIENS AU VIVARIUM

Ces protocoles sont établis pour éviter la propagation de germes entre chaque terrarium.

Nettoyage et désinfection des bacs

- Bac des crapauds : capacité 15 L
- Bacs des *Trachycephalus* : de droite 2 L - de gauche 3L

Tous les jours : nettoyer chaque bac avec une brosse dédiée (une brosse par bac)

Chaque Vendredi : (! retirer les crapauds pour cette manipulation)

Vider les bacs et les nettoyer à **l'eau et au détergent** (=savon) avec la brosse dédiée (une brosse par bac).

Une fois bien propres, remplir les bacs avec du **Virkon dilué à 10 g/Litre** (**Couvrir les bacs des Trachycephalus**) et laisser agir pendant **30 min**.

Rincer à l'eau claire, 3 fois, puis remplir les bacs.



Nettoyage et désinfection des récipients amovibles des autres terrariums d'amphibiens

Tous les jours :

- Retirer tous les récipients et les nettoyer à **l'eau et au détergent** (=savon) avec une brosse prévue pour cet usage
- une fois bien propres, les laisser tremper pendant **30 minutes** dans la baignoire de 25 L remplie **d'eau + 1 pastille de javel** (pastilles à 1,5g de chlore actif)
- Après un rinçage rigoureux, chaque récipient est remis dans son terrarium d'origine

Chaque Vendredi : même protocole mais la baignoire sera remplie avec du **Virkon dilué à 10 g/L** à la place de la Javel.

Remarque :

Les **brosses** seront maintenues dans des récipients fermés contenant une **solution de javel** (dilution : 1 pastille pour 4 L d'eau). A renouveler 1 fois / semaine, le vendredi.

Manipulation du Virkon et de l'eau de javel : porter des équipements de protection individuelle :



ÉTUDE DE L'INFLUENCE DES PARAMÈTRES ENVIRONNEMENTAUX SUR L'APPARITION ET L'ÉVOLUTION DES LÉSIONS CUTANÉES RETROUVÉES CHEZ LES AMPHIBIENS DU GENRE *TRACHYCEPHALUS* MAINTENUS EN CAPTIVITÉ, AVEC L'EXEMPLE DU VIVARIUM DE LA MÉNAGERIE DU JARDIN DES PLANTES

AUTEUR : Typhanie TAN

RÉSUMÉ :

Les amphibiens sont des animaux ectothermes dont le métabolisme et le bien-être dépendent grandement de l'environnement dans lequel ils vivent. Une mauvaise gestion des conditions d'élevage peut se révéler délétère pour ces animaux et elle constitue d'ailleurs une problématique majeure de la captivité. Les amphibiens possèdent une peau particulièrement perméable qui joue un rôle fondamental dans plusieurs fonctions vitales dont le maintien de l'homéostasie, en plus de son rôle de barrière physique. Ces caractéristiques la rendent toutefois vulnérable à de nombreuses affections. La constatation de lésions cutanées rostrales ne répondant pas aux traitements médicaux chez des spécimens de *Trachycephalus resinifictrix* du Vivarium de la Ménagerie du Jardin des Plantes (Paris) a motivé l'étude des paramètres d'ambiance du terrarium où ils vivent, afin d'établir un état des lieux et de déceler un éventuel impact de l'environnement sur le développement et l'évolution des lésions objectivées. Nous avons pu mettre en évidence des valeurs de température et hygrométrie situées dans les limites basses des intervalles de référence publiés. Les tests de qualité de l'eau sont relativement satisfaisants mais suggèrent une exposition chronique effective à de faibles concentrations de métabolites azotés et de dichlore. Quant aux lésions rostrales, l'ensemble des investigations suggère une origine traumatique et une modulation de l'environnement pourrait éventuellement permettre la prévention de lésions futures. Une caractérisation plus précise des lésions dès leur pic d'apparition associée à un suivi similaire des paramètres d'ambiance combinés à une étude du comportement des individus au sein du terrarium à l'aide d'enregistrement vidéo constituerait une étude enrichissante en cas de récurrence.

MOTS CLÉS :

RAINETTE KUNAWALU / *TRACHYCEPHALUS RESINIFICTRIX* / AMPHIBIEN / ELEVAGE / ZOOTECHNIE / TERRARIUM / TEMPERATURE / HYGROMETRIE / QUALITE DE L'EAU / PEAU / ANATOMIE

JURY :

Président : Dr Matthias KOHLHAUER
Directeur : Dr Pascal ARNÉ
Examineur 1 : Pr Jacques GUILLOT

THE INFLUENCE OF ENVIRONMENT PARAMETERS ON THE EMERGENCE AND THE DEVELOPMENT OF SKIN WOUND IN AMPHIBIANS OF THE GENUS *TRACHYCEPHALUS* KEPT IN CAPTIVITY, WITH THE EXAMPLE OF THE VIVARIUM OF LA MENAGERIE DU JARDIN DES PLANTES

AUTHOR: Typhanie TAN

SUMMARY:

Amphibians are ectothermic vertebrates which means that their metabolism and welfare are heavily reliant to their environment. Husbandry management is a key issue of captive amphibians as poor husbandry conditions lead to health issues. Their highly permeable skin serves a variety of essential biological functions and the maintenance of homeostasis, in addition to its role as a physical barrier towards the surrounding environment. However, this feature results in an increased susceptibility to affections. This study was justified by the existence of multiples non-healing rostral skin wounds in *Trachycephalus resinifctrix* maintained by the Vivarium of La Ménagerie du Jardin des Plantes (Paris). Its purpose is to define the current state of the terrarium's environment parameters and to detect any effect that those parameters might give rise to skin wound. Values of temperature and humidity ranging in the lowest limit of reported references ranges were brought to light. Water quality tests results were acceptable. However, they indicate a basal chronic exposure of the individuals to nitrogenous wastes and chlorine. As for the rostral skin wounds, the overall investigation suggests that they were traumatic injuries and that environment parameters adjustments may help to prevent future rostral wounds. If a recurrence of the skin wounds were to occur, a study including a more precise characterization of the wounds at their utmost, a similar monitoring of the environment parameters and a video footage analysis of individuals dynamics in the terrarium may prove instructive.

KEYWORDS:

MISSION GOLDEN-EYED TREE FROG / TRACHYCEPHALUS RESINIFICTRIX / AMPHIBIAN / HUSBANDRY / ZOOTECHNICS / TERRARIUM / TEMPERATURE / HYGROMETRY / WATER QUALITY / SKIN / ANATOMY

JURY:

Chairperson: Dr Matthias KOHLHAUER

Director : Dr Pascal ARNÉ

Examinator : Pr Jacques GUILLOT