
Une autre pandémie, la chytridiomycose

Auteur : Guillaume, Céline

Promoteur(s) : Jauniaux, Thierry

Faculté : Faculté de Médecine Vétérinaire

Diplôme : Master en médecine vétérinaire

Année académique : 2019-2020

URI/URL : <http://hdl.handle.net/2268.2/9615>

Avertissement à l'attention des usagers :

Tous les documents placés en accès ouvert sur le site le site MatheO sont protégés par le droit d'auteur. Conformément aux principes énoncés par la "Budapest Open Access Initiative"(BOAI, 2002), l'utilisateur du site peut lire, télécharger, copier, transmettre, imprimer, chercher ou faire un lien vers le texte intégral de ces documents, les disséquer pour les indexer, s'en servir de données pour un logiciel, ou s'en servir à toute autre fin légale (ou prévue par la réglementation relative au droit d'auteur). Toute utilisation du document à des fins commerciales est strictement interdite.

Par ailleurs, l'utilisateur s'engage à respecter les droits moraux de l'auteur, principalement le droit à l'intégrité de l'oeuvre et le droit de paternité et ce dans toute utilisation que l'utilisateur entreprend. Ainsi, à titre d'exemple, lorsqu'il reproduira un document par extrait ou dans son intégralité, l'utilisateur citera de manière complète les sources telles que mentionnées ci-dessus. Toute utilisation non explicitement autorisée ci-avant (telle que par exemple, la modification du document ou son résumé) nécessite l'autorisation préalable et expresse des auteurs ou de leurs ayants droit.

Défis liés au contrôle d'une panzootie, la chytridiomycose

Management challenges of a panzootic, chytridiomycosis

Introduction

1. Historique

Les premiers déclin exceptionnels de populations d'amphibiens ont eu lieu dès les années 1970 aux Etats-Unis, à Porto Rico ou en Australie. Ces déclin sont sévères au point de provoquer, par exemple, la disparition de 40% des amphibiens **sur une courte période (peu précis)** à la fin des années 1980, dans **un site (idem)** au Costa Rica (voir 5, Pounds 1997).

Le premier congrès d'herpétologie n'a pourtant lieu qu'en 1989, quand les scientifiques prennent conscience de l'ampleur du phénomène. Ces populations ayant toujours eu une forte tendance à la fluctuation, il a fallu du temps pour se rendre compte (montrer statistiquement) que les déclin devenaient plus généralisés et sévères que les variations de démographie habituelles (Stuart et al. 2004).

Les populations ont alors été divisées en trois groupes en fonction de la cause de leur déclin : perte de leur habitat, surexploitation et « déclin énigmatiques ». (Stuart et al. 2004). La plupart de ces déclin énigmatiques ont plus tard été reliés à la découverte d'un champignon chytride hautement pathogène pour les amphibiens, appelé *Batrachochytrium dendrobatidis* et agent causal d'une maladie létale, la chytridiomycose. (Stuart *et al.* 2004). Le pic des déclin attribués à la chytridiomycose a eu lieu autour des années 1980 mais la cause n'a pu être établie que rétrospectivement, la mise en évidence du champignon datant de 1999 (Scheele et al. 2019). La chytridiomycose a été reconnue comme cause majeure de déclin à différents endroits et à différents moments en fonction de l'arrivée du pathogène, par exemple en Australie (1970-1990), en Amérique Centrale (1970), en Amérique du Sud (1970-1980), dans les îles Caraïbes (2000), dans la Sierra Nevada californienne (1980-1990) ou dans la péninsule ibérique (1990). (O'Hanlon *et al.* 2018)

2. Emergence ou endémicité ?

Deux scénarios théoriques se sont affrontés pour expliquer comment ce pathogène infectieux a pu commencer à provoquer de sévères chutes de population et à mener les espèces à l'extinction. La première hypothèse est appelée « novel pathogen hypothesis » ou « spreading pathogen hypothesis ». Il s'agit de la dissémination d'un pathogène, qui serait capable d'induire des mortalités élevées et un échec de recrutement de la génération suivante dans une population naïve (Skerratt 2007). La seconde, « emerging endemic hypothesis », suggère qu'un événement environnemental hors du commun puisse modifier un pathogène déjà largement répandu pour le rendre hautement virulent, pathogène et transmissible, entraînant des mortalités élevées et un échec de recrutement de la génération suivante. Le pathogène peut déjà posséder certaines caractéristiques, mais pas toutes avant le changement (Skerratt 2007).

Les postulats pour le premier scénario sont les suivants : l'agent est hautement pathogène, virulent et transmissible car capable de causer le déclin et l'extinction d'une population, il se répand via un schéma spatio-temporel de dissémination et est hautement conservé génétiquement. Pour le second scénario, l'agent devient pathogénique, virulent et transmissible quand des changements environnementaux se produisent. Il y a des changements environnementaux juste avant et pendant les événements. Comme le pathogène est endémique et subit un changement, on remarque un drift génétique. (Skerratt 2007)

Bd est effectivement hautement pathogène et hautement transmissible. En effet, il possède un stade aquatique via lequel il se répand facilement. De plus, il peut infecter certaines espèces capables de lui résister et d'agir comme réservoirs de l'infection, comme la grenouille taureau (*Lithobates catesbeianus*) ou le xénope lisse (*Xenopus laevis*) (Skerratt 2007). L'émergence de *Bd* à différents endroits, à différents moments suggère plutôt une dissémination géographique. Dans une étude bien documentée, il a été démontré comme étant absent de populations tropicales d'amphibiens juste avant une épidémie qui a causé l'extinction locale de nombreuses espèces (Lips et al 2006 cité par Harris et al 2009). On rejette donc l'hypothèse que *Bd* était présent avant le début des déclin (Skerratt 2007). *Bd* est plutôt conservé génétiquement et l'analyse génétique d'isolats séparés géographiquement met en évidence un ancêtre commun, dont il a été séparé récemment. Aujourd'hui, l'hypothèse considérant que *Bd* est un pathogène introduit est largement acceptée. (Skerratt 2007)

3. *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*)

3.1. Taxonomie et souches

En 1999, Longcore et al. décrivent un nouveau genre et une nouvelle espèce de chytride, qu'ils nomment *Batrachochytrium dendrobatidis*. Les chytrides sont des champignons hétérotrophes, ubiquistes et cosmopolites, saprophytes ou parasites, mais *Batrachochytrium* est, à ce jour, le seul chytride connu pour parasiter des vertébrés (Dejean et al. 2013).

Sa classification actuelle est la suivante : règne Fungi, sous-règne Chytridiomycota, division Chytridiomycota (Chytridiomycètes), sous-division Chytridiomycotina, classe Rhizophyidiomycetes, ordre Rhizophydiales, genre *Batrachochytrium*, espèce *dendrobatidis* (MycoBank database, 2020). Cet organisme infectieux tient son nom d'espèce d'avoir été isolé à partir de dendrobates bleus (*Dendrobates azureus*) morts au National Zoologic Park de Washington. Des dendrobates bleus ont été ré-inoculés avec ces isolats pour remplir les postulats de Koch et montrer que ce champignon pouvait être l'agent causal d'une maladie émergente provoquant une grande partie des déclinés énigmatiques observés dans les populations d'amphibiens. (Longcore et al. 1999)

Dans les années qui ont suivi, des analyses génétiques ont permis de définir des lignées, différant au niveau de leur répartition géographique et de leur virulence. La panzootie globale est attribuée à une souche appelée *BdGPL* (global panzootic lineage). Les autres lignées connues avant 2018 étaient *BdCAPE*, souche africaine endémique d'Afrique du Sud, *BdCH*, souche européenne considérée comme endémique de Suisse et *BdBRAZIL*, souche brésilienne endémique de la forêt atlantique. (O'Hanlon et al. 2018)

La découverte en 2018 d'une nouvelle lignée originaire de la péninsule coréenne (*BdASIA-1*) a redéfini ces lignées et leurs relations. La lignée *BdCH*, qu'on pensait enzootique en Suisse, est désormais attachée à la lignée *BdASIA-1*. Une seconde lignée asiatique, *BdASIA-2*, issue de grenouilles taureaux invasives en Corée est étroitement liée à *BdBRAZIL*. Comme il n'est pas possible de déterminer le sens de la dissémination, on l'appelle *BdASIA-2/BdBRAZIL*. (O'Hanlon et al. 2018). Plus récemment encore, l'existence d'une nouvelle souche endémique répandue dans tout le Sud-Est asiatique, *BdASIA-3* a été rapportée (Samarasinghe *et al.*, 2020)

Des comparaisons entre les isolats montrent que la diversité de nucléotides de *BdASIA-1* est plus importante d'un facteur 2 à 4 que celle de toutes les autres lignées. La péninsule coréenne est donc un foyer central de diversité génétique, ce qui signifie qu'elle pourrait être

le berceau d'origine de *Bd*. De cet endémisme en Asie auraient émergé les lignées panzootiques incluant *BdGPL*, qui s'est répandu dans le monde au cours du 20^e siècle. (O'Hanlon et al. 2018).

3.2. Cycle de vie

Bd est présent sous deux formes, typiques des chytrides: la zoospore, phase mobile de l'infection, et le zoosporange, stade multiplicateur du champignon.

La phase mobile uniflagellée, la zoospore, est capable de progresser dans l'eau de 2 centimètres en 24 heures (Kilpatrick et al. 2009). L'infection est transmise par cette phase mobile. Les zoospores s'enkystent dans la peau des amphibiens : elles arrêtent leur mouvement, s'établissent et résorbent leur flagelle. Elles deviennent alors des thalli, l'étape qui mènera à la formation de zoosporanges. (Berger et al. 2005)

Le zoosporange vit à l'intérieur des cellules du stratum granulosum et du stratum corneum de l'épiderme superficiel, d'abord dans les couches plus profondes où se situent les cellules les plus viables, puis dans les couches kératinisées les plus superficielles à mesure qu'il se développe. Au bout de quelques jours, le zoosporange contient de nombreuses zoospores qui sont libérées via une ouverture appelée tube de décharge. Il existe deux cas de figure : la croissance peut être monocentrique (un zoosporange en croissance produit un autre zoosporange) ou coloniale (un zoosporange en croissance produit plusieurs autres zoosporanges car certains jeunes thalli peuvent se diviser en fins septa et chaque compartiment séparé devient un zoosporange avec son propre tube de décharge). Les zoospores matures qui sont libérées dans l'eau peuvent réinfecter le même animal ou contaminer d'autres hôtes. (Berger et al. 2005)

3.3. Hôtes et répartition géographique

C'est la plus grande diminution de biodiversité documentée attribuée à un pathogène.

4. *Batrachochytrium salamandrivorans* (Bsal)

4.1. Taxonomie

A partir de 2010, des mortalités de masse apparaissent dans les populations de salamandres tachetées (*Salamandra salamandra*) aux Pays-Bas. Les efforts pour mettre en évidence des pathogènes connus, y compris *Bd* se révèlent infructueux. En 2013, un nouveau chytride

hautement pathogène est isolé par Martel et al. Sa distance génétique avec *Bd* étant nettement plus importante que celle qu'on observe généralement entre les lignées de *Bd*, il est placé dans une nouvelle espèce et nommé *Batrachochytrium salamandrivorans* (Martel et al. 2013).

Sa classification actuelle est la suivante : règne Fungi, phylum Chytridiomycota, **ordre** Rhizophydiales, famille Incertae sedis, genre *Batrachochytrium*, espèce *salamandrivorans*. (Mycobank Database 2020)

4.2. Cycle de vie

Bsal a le même cycle que *Bd* mais quelques différences existent entre les deux. In vitro, *Bsal* produit des tubes germinaux, ce qui n'a pas été observé chez *Bd*. Pour *Bd* et *Bsal*, c'est la production de thalli monocentriques qui est la principale, mais les thalli coloniaux sont plus abondants avec *Bsal* (Martel et al. 2013).

Bsal produit 2 types de spores : une zoospore mobile et flagellée, comme *Bd*, et un autre type de spore non mobile, capable de flotter à la surface de l'eau. Elles sont infectieuses et capables de s'attacher à la peau des amphibiens. Ces spores survivent et continuent à être infectieuses pendant 30 jours dans de l'eau d'étang filtrée. Ces spores sont également capables de survivre dans les sols jusqu'à 48 heures (Yap *et al.*, 2017).

4.3. Hôtes et répartition géographique

Le spectre d'espèce de *Bsal* n'est pas encore entièrement connu, mais 14 espèces d'amphibiens sont déjà connues pour être susceptibles à *Bsal* (OIE). *Bsal* a d'abord été détecté dans les populations sauvages des Pays-Bas en 2013 et en moins de 6 ans, il s'est répandu en Belgique et en Allemagne. Sa distribution continue de s'étendre en Europe, avec 5 cas identifiés dans des populations sauvages en Espagne en 2019 (González et al. 2019). Des déclin ont été observés dans des populations sauvages de salamandres tachetées (*Salamandra salamandra*) et le crapaud accoucheur (*Alytes obstetricans*) et le triton alpestre (*Ichtyosaura alpestris*), largement répandus en Europe, sont des réservoirs potentiels de *Bsal*.

De fortes preuves suggèrent que *Bsal* est endémique d'Asie. Il a été identifié au Japon, en Thaïlande, au Vietnam et plus récemment en Chine et des espèces de cette région pourraient agir comme réservoirs. En effet, l'infection à *Bsal* est connue chez des espèces de tritons natives d'Asie, mais ne semble pas provoquer de maladie ou de mortalités significatives dans ces espèces, contrairement à ce qu'on observe en Europe.

5. Chytridiomycose

Batrachochytridium dendrobatidis et *salamandrivorans* sont les agents de la chytridiomycose. Ils figurent parmi les rares champignons hautement virulents pour des vertébrés et en général, les infections fongiques leur sont rarement fatales sans facteurs prédisposants concomitants. Avant la découverte de *Batrachochytrium*, les chytrides n'étaient pas connus pour infecter des vertébrés. Le mécanisme entraînant la mort est difficile à établir car le champignon s'attaque spécifiquement aux cellules épidermiques kératinisées des amphibiens et par conséquent, l'infection se trouve confinée aux couches superficielles de l'épiderme, avec une réaction minimale de l'hôte à l'infection et sans modification majeure dans les organes internes. (Voyles et al. 2009)

La pathogénicité dépend du stade de développement des individus infectés. Le têtard possède des pièces kératinisées uniquement au niveau du disque buccal, l'infection n'est donc pas mortelle pour lui. En revanche, les individus nouvellement métamorphosés sont hautement sensibles car c'est le moment de leur développement où se produit la kératinisation de la peau. (Dejean et al. 2013)

Bd provoque chez les individus sensibles 2 lésions principales: décoloration des pièces buccales chez les têtards, prolifération des cellules kératinisées (hyperplasie) et fusion des couches de kératine (hyperkératose) chez les individus post-métamorphose (Kilpatrick et al. 2009). Cela peut se traduire visuellement par un assombrissement ou une décoloration de la peau, des desquamations, des érosions et plus rarement, des ulcérations. (Nielsen et al 2018)

L'infection par *Bsal* mène à des érosions multifocales superficielles et des ulcérations profondes sur tout le corps. Histologiquement, on retrouve des kératinocytes avec une nécrose éosinophilique et un noyau marginal à la périphérie des érosions. Chacun de ces kératinocytes contient un thallus central, souvent colonial. Les ulcères sont colonisés par des bactéries en superficie (Martel et al. 2013). Les lésions liées à *Bsal* sont donc caractérisées par des ulcérations cutanées, alors que *Bd* provoque plutôt de l'hyperplasie et hyperkératose au niveau de l'épiderme. (OIE, 2017)

En dehors des lésions cutanées, qui ne sont d'ailleurs pas systématiquement observées, les signes cliniques liés à *Bd* sont des changements de comportement (léthargie, manque

d'appétit), des troubles neurologiques (perte de réflexes), avant la mort (Dejean et al. 2013). Les signes cliniques de l'infection à *Bsal* comprennent de la léthargie, de l'anorexie, de l'ataxie et des anomalies posturales précédant la mort. (Yap et al. 2017). Ces signes cliniques ne sont absolument pas pathognomoniques de l'infection à *Bd* ou à *Bsal* et ne peuvent donc pas mener à un diagnostic fiable sans analyse moléculaire ou histologique. (Dejean et al. 2013). D'autres études suggèrent que l'exposition à *Bd* peut avoir des effets sub-létaux, même quand les mortalités sont basses. **L'explication de la différence de condition corporelle : inappétence, coût métabolique de la réponse immunitaire contre *Bd*.** (Sonn *et al.*, 2017)

La peau des amphibiens possède des fonctions particulières, car elle est activement impliquée dans des échanges gazeux, d'eau et d'électrolytes(**cela vient peut-être un peu tard et pourrait être un peu plus développé ?**). Voyles et al. (2009) ont obtenu des résultats soutenant l'hypothèse que *Bd* empêche les fonctions cutanées d'osmorégulation, pouvant mener à des déséquilibres électrolytiques, à l'asystolie cardiaque et à la mort. (Voyles et al. 2009) ///

6. Quelques facteurs influençant la prévalence et le développement de la maladie

Le développement d'une maladie peut être vue comme une interaction entre les caractéristiques de l'hôte, du pathogène et de l'environnement, c'est ce qu'on appelle le « triangle épidémiologique » (Nielsen et al. 2019). De ce fait, aucun des paramètres suivants n'est à considérer seul mais comme faisant partie d'un ensemble. Les points qui suivent sont interdépendants et sont plutôt des exemples qu'une liste exhaustive de paramètres pouvant influencer la maladie. Ils peuvent aider à comprendre certaines pistes explorées dans le contrôle de la maladie.

6.1. Exemple de facteur lié au pathogène : la virulence

La pathogénicité désigne le pouvoir pathogène, la capacité d'un organisme à provoquer une maladie chez un hôte susceptible, alors que la virulence est l'intensité, la mesure quantitative du pouvoir pathogène. La manifestation de la maladie dépend de l'hôte alors que la pathogénicité et la virulence concernent plutôt le pathogène (Nielsen *et al.*, 2019). Les facteurs de virulence de *Bd* incluent la libération de molécules solubles capables d'inhiber la prolifération des lymphocytes et d'induire leur apoptose. Cette capacité de *Bd* à inhiber les fonctions immunitaires de son hôte aide à expliquer pourquoi il a un effet léthal sur des espèces qui manquent de défenses innées efficaces et comment au contraire, d'autres qui possèdent de

bonnes défenses innées peuvent résister et agir comme réservoirs de l'infection, comme c'est le cas pour le xénope lisse (*Xenopus laevis*) par exemple (Fites *et al.*, 2013).

Fischer 2016 Langhammer 2013 Fischer 2009 Piovia-Scott 2015

La virulence de *Bd* varie selon les souches. Ainsi, la panzootie globale subie par les amphibiens est attribuée à la souche hypervirulente *BdGPL*, le génotype le plus répandu et le mieux documenté. Les autres lignées sont putativement considérées comme moins virulentes (Samarasinghe *et al.*, 2020 mmh citer autre source).

La capacité des lignées de *Bd* à s'hybrider(lien ?) a été montrée pour la première fois au Brésil (Lips, 2016). Les preuves génétiques existent, mais le processus d'hybridation chez ce champignon à reproduction asexuelle et qui ne produit pas de gamètes n'a jamais été observé et reste inconnu. Un mécanisme proposé est celui de cycle parasexuel, qui consiste en la fusion de cellules diploïdes sans méiose. Les caractéristiques phénotypiques de ces hybridations ne sont pas encore bien connues. La seule étude sur le sujet, menée par Greenspan *et al.* montre toutefois que les génotypes hybrides montrent un certain degré d'hétérosis ou vigueur hybride dans leurs caractéristiques de virulence et de pathogénicité, en fonction de l'espèce et du contexte de l'hôte infecté (Samarasinghe *et al.*, 2020).

6.2. Exemple de facteur lié à l'environnement : la température

La température a une influence majeure sur la croissance des champignons. Même si les études *in vitro* ont établi les conditions optimales de température pour la croissance de *Bd* (17°-25°) (Longcore *et al.* 1999), le pic d'infection et de mortalité chez l'hôte peut se produire dans un autre intervalle de température (Sonn *et al.* 2017).

Comment les différences de température affectent-elles la charge pathogène, la probabilité d'infection et de survie *in vivo* et en quoi ce pattern diffère-t-il du pattern observé *in vitro* ? C'est la question posée par par Sonn *et al.* dans une étude menée en 2017. Deux groupes d'une espèce de grenouille sensible à la chytridiomycose, la rainette grillon boréale (*Acris crepitans*) ont été formés, un groupe exposé à *Bd* et un groupe témoin. Ces deux groupes ont été divisés en sous-groupes et exposés à des températures de 11° à 26°, auxquelles cette espèce peut être confrontée naturellement. La charge pathogène se révèle être la plus élevée pour le groupe exposé à 11° et la plus faible pour le groupe exposé à 23°. La survie était la plus faible à 11°. Avec l'augmentation des températures, une plus grande proportion des grenouilles exposées à *Bd* ont survécu, la seule exception étant le groupe exposé à 23° qui a montré plus de mortalités que le groupe exposé à 20°. Il est à souligner que la survie a

dépendu de la température également pour les groupes témoins, non exposés à *Bd*, montrant que la température affecte la santé de ces animaux ectothermes indépendamment des pathogènes. Dans cette étude, la charge pathogène et la survie se sont révélées être inversement proportionnelles à la température. La température optimale de croissance de *Bd* se situe autour de 20°, mais tous les indicateurs de maladie chez l'hôte se sont révélés plus sévères à des températures plus basses (11°, 14° et 17°). Cette différence montre que certaines températures permettent à l'hôte de mieux s'adapter à l'infection que d'autres. Peut-être que même si les températures élevées sont optimales pour la croissance de *Bd*, ces mêmes températures permettent au système immunitaire de la grenouille de mieux fonctionner, la rendant moins susceptible au pathogène (Sonn *et al.*, 2017). autres espèces adaptées différemment ? et là, parler de fièvre comportementale.

6.3. Exemple de facteur lié à l'hôte: les peptides antimicrobiens

Les espèces d'amphibiens susceptibles à la maladie sont caractérisées par des défenses immunitaires innées et constitutives inefficaces. Parmi ces défenses constitutives se trouvent les peptides antimicrobiens (PAM). Ce sont de petits peptides produits par les glandes séreuses, qui apportent une défense non spécifique contre les pathogènes. In vitro, de nombreux PAM parviennent à inhiber la croissance de nombreux pathogènes, y compris des champignons parmi lesquels *Bd*. Une déplétion expérimentale en PAM chez une espèce résistante, le xénope lisse (*Xenopus laevis*) augmente sa susceptibilité à l'infection, ce qui supporterait l'hypothèse que les PAM sont des composants importants dans l'immunité innée de la peau chez les amphibiens (Rollins-Smith *et al.*, 2011). Parmi les vertébrés, les amphibiens sont remarquables par la quantité et la large gamme de peptides anti-microbiens qu'ils produisent (Grogan *et al.*, 2018). Beaucoup d'espèces en synthétisent mais d'autres en manquent (Rollins-Smith *et al.*, 2011). Les PAM produits par une espèce pourraient prédire sa survie face à *Bd* dans la nature. En effet, les espèces exprimant des PAM capables d'inhiber *Bd* in vitro semblent les plus résistantes (Rollins-Smith *et al.*, 2011). En comparant l'expression des PAM chez des *Litoria serrata* sauvages infectées ou non, Woodhams *et al.* ont effectivement découvert que l'expression des PAM était réduite chez les individus infectés, mais sans toutefois pouvoir déterminer s'il s'agissait d'une cause ou d'une conséquence (Grogan *et al.*, 2018). Les PAM produites montrent de grandes variations entre espèces, et selon de nombreux facteurs comme leur efficacité contre *Bd*, leur concentration, le nombre et le type de protéines produites, leur localisation à la surface de la peau et la présence de protéases capables de les dégrader à la surface de la peau de l'hôte, ce qui peut limiter leur

intérêt dans la prédiction et le contrôle de la chytridiomycose (Grogan et al., 2018). Lire Voyles et al.

7. Tentatives de contrôle de la panzootie

Blabla :)

7.1. Prévenir une seconde panzootie ? Le risque posé par *Bsal*

Les préoccupations liées à la dissémination de *Bsal* sont liées à la propagation ininterrompue de *Bd*, qui a contribué à de nombreux déclin de populations dans le monde. Vu ses étroites relations phylogénétiques avec *Bd*, son large spectre d'hôtes et sa haute pathogénicité, l'introduction de *Bsal* dans de nouveaux environnements constitue vraisemblablement une menace pour leur biodiversité (Richgels et al., 2016).

En Europe, *Bsal* s'est répandu dans les populations sauvages de salamandres des Pays-Bas vers l'Allemagne et la Belgique en moins de 6 ans et sa répartition pourrait être encore plus importante que celle qu'on connaît actuellement. Schmidt et al. prédisent que *Bsal* pourrait se répandre à une vitesse de 11 km par an environ, même à travers des zones de basse densité (1 hôte par hectare), mettant presque toutes les populations sauvages en danger une fois introduit (Schmidt et al., 2017, cité par Yap et al., 2017). Comme *Bsal* est déjà présent en Europe, le risque de dissémination à travers les populations de salamandres est élevé et d'ici 2110, *Bsal* pourrait être présent dans toute l'Europe (Yap et al., 2017)

Comprendre la distribution de *Bsal* et son introduction dans des populations naïves est essentiel pour en évaluer les conséquences potentielles. *Bsal* n'a pas encore été détecté en Amérique du Nord, où se concentre 50% de la diversité mondiale de salamandres. (Richgels et al., 2016). Selon l'OIE, le risque total posé par *Bsal* sur les populations est la combinaison de deux événements : où les introductions sont susceptibles de se produire (évaluation de l'introduction) et où les milieux propices et la haute diversité d'espèces se chevauchent (évaluation des conséquences). Une analyse de risque réalisée aux Etats-Unis en suivant ces recommandations identifie la côte Pacifique des Etats-Unis, le Mid Atlantic, le sud des Appalaches comme à plus haut risque d'introduction et de dissémination (Richgels et al., 2016). Deux des espèces nord-américaines les plus répandues, le triton rugueux (*Taricha granulosa*) et le triton vert à points rouges (*Notophthalmus viridescens*) sont hautement susceptibles à *Bsal*, comme le démontrent des études expérimentales. Cela constitue un risque pour ces deux espèces et pour d'autres car la répartition géographique de ces deux espèces

comprend des zones à haut risque d'introduction et chevauche celle de nombreuses autres espèces de salamandres et de tritons. Après avoir été introduit, *Bsal* pourrait se répandre dans la zone comprenant toute la distribution des espèces de salamandres connues en Amérique du Nord en un siècle. L'introduction de *Bsal* est potentiellement dévastatrice pour les espèces d'Amérique du Nord (Yap et al., 2017).

Les maladies infectieuses émergentes demandent que des décisions soient prises face à l'incertitude, et c'est particulièrement important pour les maladies touchant la faune sauvage car elles sont difficiles à contrôler et à éradiquer une fois introduites. L'utilité d'un outil comme l'analyse de risque est de permettre de prendre la mesure de certaines prédictions au moment de prendre des décisions concernant le contrôle et la surveillance de certains pathogènes (Richgels et al., 2016).

7.2. Contrôler l'introduction et la dissémination de *Bd* et *Bsal*

Après des années de recherche, la chronologie de l'émergence de *Bd* reste assez peu comprise, mais de grands efforts sont fournis pour comprendre ses mécanismes de dispersion actuels, dans le but d'essayer de les contrôler. Le pathogène a de nombreuses voies de dissémination, qui diffèrent en probabilité et conséquences attendues (Kolby et Daszak, 2016). *Bsal*

7.2.1. Commerce international d'espèces vivantes et globalisation

La voie principale de dissémination de *Bd* est le commerce international d'amphibiens. (Kolby et Daszak, 2016). Même si le commerce de plantes et d'animaux existe depuis des millénaires, provoquant des invasions occasionnelles, les taux d'invasions recensés ces dernières années sont les plus importants jamais enregistrés. L'Homme est entré dans l'ère de la globalisation, caractérisée entre autres par une augmentation des revenus et du commerce, et de l'efficacité des transports (Hulme 2009). Le commerce d'amphibiens vivants est devenu notable à partir des années 1940, avec l'utilisation massive du xénope lisse (*Xenopus laevis*) comme test de grossesse. Il s'est intensifié ces dernières décennies, dans les domaines de l'alimentation, de la recherche ou des animaux de compagnie et concerne aujourd'hui des millions d'amphibiens par an. (Kolby et Daszak, 2016).

Mais ce commerce international intensif d'amphibiens facilite l'introduction, par libération intentionnelle ou accidentelle d'espèces qui peuvent devenir invasives et répandre des

pathogènes parmi les populations autochtones (Ribeiro et al. 2019). L'exemple développé par la suite est celui de l'élevage des grenouilles taureaux au Brésil. Ces grenouilles sont originaires d'Amérique du Nord et leur élevage comme source d'alimentation est pratiqué à large échelle en Asie, en Amérique Centrale et en Amérique du Sud. Les deux producteurs principaux de cette espèce sont le Brésil et Taïwan (FAO, 2006). Cette pratique commerciale contribue à la crise de biodiversité que traversent les amphibiens en facilitant les invasions. (Ribeiro *et al.*, 2019). Avantagées par leur grande taille et leur haute fécondité, les grenouilles taureaux peuvent se comporter comme compétiteurs pour l'accès aux ressources, comme nouveaux prédateurs et interférer avec la communication et la reproduction des espèces autochtones (Kaefer *et al.*, 2007). Et comme « une espèce exotique n'arrive jamais vraiment seule » (Cunningham, 1996), les grenouilles taureaux jouent également un rôle dans la dissémination de *Bd*. Les grenouilles taureaux sont tolérantes à *Bd*, ce qui signifie qu'elles peuvent être porteuses du pathogène sans pour autant développer la chytridiomycose. La haute prévalence de ce pathogène observée dans les élevages peut être expliquée par les hautes densités d'occupation qui permettent sa transmission par contact direct entre individus. Le stress engendré par les hautes densités en captivité peut également diminuer le système immunitaire et augmenter les concentrations en pathogène. Ces élevages de grenouilles-taureaux jouent donc un rôle prépondérant, par une dissémination facilitée d'abord au sein des élevages à cause de leur structure (hautes densités de population notamment) et ensuite dans les populations locales d'amphibiens, via par exemple l'évasion de grenouilles taureaux porteuses ou le déversement d'eaux usées non traitées qui libèrent des quantités significatives de zoospores dans l'environnement. (Ribeiro et al., 2019).

La problématique ne se limite pas au commerce d'amphibiens. En effet, d'autres hôtes, non amphibiens, ont été mis en évidence dans des conditions de laboratoire : deux espèces d'écrevisses (*Procambarus* spp. et *Orconectes virilis*) et une espèce de nématode (*Caenorhabditis elegans*). Les écrevisses sont commercialisées vivantes, destinées à la consommation directe ou à l'établissement de nouvelles fermes d'aquaculture. Le nématode terricole *C. elegans* pourrait facilement se disséminer via les substrats utilisés pour le commerce international de plantes ornementales. Ce fait illustre la complexité d'essayer de contrôler la diffusion d'un pathogène, qu'on sait désormais capable d'infecter au moins 3 classes d'organismes vivants : Amphibia, Malacostraca et Chromadorea (Kolby et Daszak, 2016).

Selon Scheele et al., (des mesures de biosécurité efficaces) et une réduction immédiate du commerce des espèces sauvages sont nécessaires d'urgence pour réduire le risque de dissémination du pathogène (Scheele et al., 2019), ce qui constitue un immense défi écologique, économique et sociétal pour notre monde globalisé (Crowl et al. 2008).

7.2.2. Objets inanimés et faune sauvage

Le pathogène peut être répandu par l'homme après exposition à une région affectée car il peut survivre s'il est protégé de la dessiccation et des températures élevées. Les objets inanimés qui peuvent transporter des pathogènes peuvent être accidentellement disséminés par l'activité humaine. Les chercheurs, notamment herpétologues et les éco-touristes représentent une opportunité de translocation de pathogènes entre des habitats déconnectés. Ce mode de dispersion n'a pas encore été formellement évalué, mais comme il est hautement probable, des protocoles d'hygiène ont été mis au point pour éviter la dissémination accidentelle de Bd après le contact avec une zone positive (Kolby et Daszak, 2016).

Biosécurité

En l'absence d'influence humaine, le pathogène peut se disséminer par le mouvement autonome des animaux infectés. Il peut être transmis par contact cutané entre individus lors d'échanges territoriaux ou lors de la reproduction. Les animaux infectés peuvent libérer des zoospores dans un environnement terrestre, souvent partagé avec d'autres espèces. Ce phénomène pourrait expliquer comment ce pathogène aquatique touche tellement d'espèces terrestre, qui ne rentrent jamais dans l'eau. Une dissémination sur une plus longue distance peut également se produire, via un transport passif sur les oiseaux aquatiques (Kolby et Daszak, 2016).

7.3. Limiter l'impact de la répartition mondiale de *Bd*

La conservation a de nombreux points communs avec la médecine (trouver la source). Brown et al. identifient 4 leçons fondamentales pour la mise en place d'actions de conservation. Premièrement, la mise en place de priorités demande des objectifs clairs et explicites. Deuxièmement, les plans de conservation devraient prioriser des actions, pas des espèces ou des emplacements. En effet, prioriser des espèces ne définit pas quelles actions doivent être entreprises pour éviter leur déclin. Troisièmement les contraintes économiques, sociales et politiques des actions de conservation doivent être prises en compte. Finalement, un principe central est que les décisions soient prises pour l'ensemble des espèces qui composent un site,

ce qui assure que la protection ne soit pas dirigée uniquement vers celles localisées dans certains hotspots de biodiversité (Brown et al., 2015).

7.3.1. Antifongiques

Le traitement le plus commun pour les amphibiens en captivité est l'immersion dans une solution aqueuse d'itraconazole dosé à 0,01% pendant 5 minutes, une fois par jour pendant 10 jours. Ce protocole a également été testé expérimentalement avec des dosages réduits (0,0025% au lieu de 0,01%) et un temps d'application réduit (6 jours au lieu de 10 jours) dans le but de diminuer les effets secondaires néfastes et il s'est également révélé efficace. Un autre agent antifongique, la nikkomycine Z ou certains antibiotiques comme le chloramphénicol peuvent aussi être efficaces. Toutefois, ils peuvent ne pas être tolérés par les amphibiens et le traitement à base d'itraconazole reste un traitement de choix pour les animaux en captivité. (Kolby et Daszak, 2016 autre please).

Une étude montre qu'un traitement *in situ* des animaux par capture et immersion individuelle dans une solution aqueuse d'itraconazole est efficace chez l'espèce *Litoria fallax* sur le court terme. Ce traitement lors d'une épidémie de chytridiomycose diminue la mortalité des animaux infectés et augmente leur taux de perte d'infection durant la période de traitement, mais dès l'arrêt du traitement, les bénéfices se perdent. Selon les auteurs, cette solution demanderait le développement de nouvelles méthodes pour délivrer l'antifongique et des produits à plus longue rémanence pour traiter de plus grands nombres d'animaux en moins de temps (Hudson et al., 2016).

Cette solution reste difficilement applicable à la faune sauvage et doit être mise en perspective par-rapport à ses potentiels impacts négatifs sur la biodiversité, l'environnement, la santé humaine et de la possibilité pour les chytrides de développer des résistances. Aucun produit chimique connu à ce jour n'est spécifique des chytrides. L'application d'antifongiques pourrait avoir des répercussions sur des champignons et des plantes non-cibles et de là, sur des écosystèmes entiers. L'utilisation d'antifongiques et pesticides de façon régulière et à grande échelle est connue dans le monde de l'agriculture et leur utilisation est aujourd'hui largement débattue (Garner et al., 2016).

7.3.2. Vaccination

L'histoire nous montre que le contrôle des épizooties est bien souvent passé par la vaccination, pour des espèces sauvages comme domestiques. C'est le cas de la peste bovine, éradiquée en 2011 (OIE) ou de la rage, dont la faune sauvage de Belgique est indemne depuis 2001 (AFSCA). Vu ces succès, il pourrait être pertinent d'orienter les recherches dans cette direction pour tenter de contrôler la chytridiomycose. Le vaccin idéal contre la chytridiomycose devrait conférer une protection forte pour tous les stades de vie, de toutes les espèces, contre un spectre large mais ciblé de génotypes de chytrides. Il devrait être sûr, facile à produire et à administrer à des espèces sauvages (Garner et al., 2016).

Premièrement, le pathogène est un champignon et les vaccins ciblant des champignons se montrent bien plus difficiles à développer que pour les virus et bactéries. A ce jour, seuls quelques vaccins vétérinaires efficaces sont disponibles (contre les dermatophytoses par exemple) et la plupart des vaccins potentiels contre des pathogènes fongiques humains en sont toujours au stade pré-clinique de développement (Garner et al., 2016).

Deuxièmement, il y a aujourd'hui peu de preuves supportant la mise en place d'une réponse immunitaire adaptative protectrice et efficace après exposition à *Bd*. Théoriquement, l'immunité de troupeau devrait arriver si plus de 80% des grenouilles sont immunisées (ou résistantes, grâce aux bactéries symbiotiques). Les seuils menant à l'immunité de troupeau sont peu susceptibles d'arriver si l'intensité de l'infection n'est pas affectée par la présence d'individus résistants, or l'impact de *Bd* dans le temps semble davantage régulé par les saisons et les températures que par la mise en place d'une immunité adaptative. Les quelques études réalisées en laboratoire sur le sujet suggèrent l'activation limitée d'une réponse immunitaire adaptative pour la chytridiomycose.

Une étude réalisée en Australie a montré que la vaccination (sous la forme d'une infection préalable à *Bd*), le traitement à l'itraconazole puis la ré-exposition n'avait aucun effet sur l'intensité de l'infection ou la mortalité chez la grenouille de Booroolong (*Dryopsophus booroolongensis*) (Cashins et al., cité par Garner et al. 2016) **étude où ça fonctionne chez le xénope** Les résultats variables obtenus peuvent être expliqués par les différents moyens d'inoculation et doses utilisés pour l'exposition à *Bd*. Mais même si le système immunitaire adaptatif peut être activé chez certaines espèces, la capacité à développer une réponse immunitaire protectrice semble limitée, ce qui peut être causé par l'immunosuppression associée à *Bd* (Grogan et al., 2018).

Le manque d'efficacité de la réponse immunitaire peut être le résultat de l'incapacité de l'hôte à reconnaître *Bd* comme un pathogène (via l'immunoévasion, le masquage d'antigènes ou sa faible antigénicité, sans doute liée à sa localisation intra-cellulaire,) ou de l'immunosuppression induite par *Bd*, car le champignon possède des facteurs de virulence capables de supprimer la réponse lymphocytaire. Ces deux mécanismes pourraient exister en parallèle dans la chytridiomycose. Que ce soit lié à l'incompétence du système immunitaire de l'hôte ou aux facteurs de virulence du pathogène, les preuves actuelles montrent que les amphibiens semblent manquer d'une immunité adaptative protectrice pouvant mener à une immunité de troupeau contre la chytridiomycose (Grogan *et al.*, 2018)

Troisièmement, le système immunitaire des amphibiens se développe en 2 phases. La première se déroule lors du stade têtard et consiste en une expansion rapide du pool de lymphocytes. Elle est suivie d'une perte de lymphocytes au cours de la métamorphose, puis d'une seconde expansion de la population de lymphocytes au stade adulte. Si les pièces buccales kératinisées du têtard sont infectées par *Bd*, elles peuvent infecter toute la peau kératinisée de l'adulte et cette involution lors du passage d'un stade à l'autre représente une bonne opportunité pour le pathogène (Rollins-Smith *et al.*, 2011). L'amplification de l'infection est généralement associée aux stades têtard et les hauts taux de mortalité associés à la période de métamorphose. A ce jour, toutes les études d'immunisation ont porté sur des animaux post-métamorphose, mais contrôler l'infection chez les amphibiens au stade têtard serait un facteur essentiel, car le taux de croissance des populations est très sensible au taux de survie des juvéniles post-métamorphose (Garner *et al.*, 2016).

Finalement, personne ne veut payer

7.3.3. Probiotiques

Le rôle du microbiote cutané dans la défense contre les pathogènes représente une opportunité de contrôler la chytridiomycose en utilisant une approche écologique. Quand une zoospore vient au contact de la peau d'un amphibien, elle rencontre un certain microbiote, qui peut être considéré comme faisant partie du système immunitaire inné. Certains profils de microbiotes peuvent être considérés comme associés à de la résistance aux pathogènes. Les résultats indiquent que la composition bactérienne a un effet direct sur la morbidité causée par la chytridiomycose. (Harris *et al.*, 2009). Cette stratégie relativement nouvelle propose d'utiliser

les ennemis naturels des pathogènes fongiques, qui résident sur la peau des amphibiens comme microbiote symbiotique et sont capables d'inhiber sa colonisation et son établissement. Cette approche est une nouvelle application de probiotiques ou bactéries bénéfiques qui donne une défense contre les pathogènes à l'hôte. Certaines de ces bactéries sont testées en coculture contre Bd et certaines ont été utilisées avec succès pour aider à la résistance contre la maladie appliquées sur la peau des grenouilles et salamandres (Woodhams et al., 2016).

7.3.4. Modification de l'habitat

Pour moi, va à l'encontre du principe de conservation des espèces et des écosystèmes

Pour le professeur G. Evelyn Hutchinson, considéré comme le père de l'écologie moderne, l'écologie de la conservation vise à conserver à la fois « les acteurs de la pièce évolutive et le décor écologique dans lequel elle est jouée » (source ?). Les amphibiens sont considérés comme de bons indicateurs de la santé des écosystèmes, à cause de leur peau perméable et de leur sensibilité aux changements environnementaux (Yap *et al.*, 2017). Du coup protéger les amphibiens

Les amphibiens sont importants au sein de nombreux écosystèmes car ils jouent des rôles clé dans les réseaux trophiques et dans le cycle du carbone.

Une exposition continue à une température de 27 degrés ou plus permet également de traiter l'infection à Bd chez des amphibiens en captivité, car *Bd* est sensible à ces températures élevées. Ce traitement présente l'avantage d'être facile à mettre en place et peu coûteux. Il pourrait aussi permettre d'éviter les effets secondaires toxiques que peuvent avoir les antifongiques et antibactériens. Mais malheureusement, de nombreuses espèces ne sont pas adaptées aux températures nécessaires pour éliminer le champignon et le traitement thermique présente dans ce cas un risque léthal pour l'amphibien infecté. L'efficacité de ce traitement est donc espèce dépendant (Kolby et Daszak, 2016) et impossible à mettre en pratique dans des conditions autres qu'en captivité.

Conclusion

Ressources

- 1) Berger L., Hyatt A.D., Speare R., Longcore J.E., 2005. Life cycle stages of the amphibian chytrid *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Dis. Aquat. Org.* Vol.60 : 51-63
- 2) Carvalho T., Guilherme Becker C., Toledo L.F., 2017. Historical amphibian declines and extinctions in Brazil linked to chytridiomycosis. *Proc. R. Soc. B.* 284 : 20162254
- 3) Catenazzi A., Flechas S.V., Burkart D., Hooven N.D., Townsend J., Vredenburg V.T., 2018. Widespread Elevational Occurrence of Antifungal Bacteria in Andean Amphibians Decimated by Disease: A Complex Role for Skin Symbionts in Defense Against Chytridiomycosis. *Front. Microbiol.* 9:465.
- 4) Crowl T.A., Crist T.O., Parmenter R.R., Belovsky G., Lugo A.E., 2008. The spread of invasive species and infectious disease as drivers of ecosystem change. *Front. Ecol. Environ.* 6(5) : 238-246.
- 5) Dejean T., Miaud C., Ouellet M., 2010. La chytridiomycose : une maladie émergente des amphibiens. *Bull. Soc. Herp. Fr.* 134, 27-46.
- 6) Fites J.S., Ramsey J.P., Holden W.M., Collier S.P., Sutherland D.M., Reinert L.K., Gayek A.S., Dermody T.S., Aune T.M., Oswald-Richter K., Rollins-Smith L.A., 2013. The Invasive Chytrid Fungus of Amphibians Paralyzes Lymphocyte Response. *Science*, 42 : 366-369
- 7) Global Invasive Species Database (GISD) 2015. Species profile *Batrachochytrium dendrobatidis*. <http://www.iucngisd.org/gisd/species.php?sc=123>. Consulté le 25 janvier 2019.
- 8) González D.L., Baláž V., Solský M., Thumsová B., Kolenda K., Najbar A., Najbar B., Kautman M., Chajma P., Balogová M., Vojar J., 2019. Recent Findings of Potentially Lethal Salamander Fungus *Batrachochytrium salamandrivorans*. *Emerging Infectious Disease*. Vol. 25, No. 7.
- 9) Harris R.N., Lauer A., Simon M.A., Banning J.L., Alford R.A., 2009. Addition of antifungal skin bacteria to salamanders ameliorates the effects of chytridiomycosis. *Dis. Aquat. Org.* 83 : 11-16
- 10) Hudson M.A., Young R.P., Lopez J., Martin L., Fenton C., McCrea R., Griffith R.A., Adams S., Gray G., Garcia G., Cunningham A.A., 2016. In-situ itraconazole treatment improves survival rate during an amphibian chytridiomycosis epidemic. *Biological Conservation* 195:37-45
- 11) Hulme P.E., 2009. Trade, transport and trouble: managing invasive species pathways in an era of globalization. *Journal of Applied Ecology*, 46 : 10-18.
- 12) Kaefer I.L., Boelter R.A., Cechin S.Z., 2007. Reproductive biology of the invasive bullfrog *Lithobates catesbeianus* in southern Brazil, *Ann. Zool. Fennici* 44: 435-444
- 13) Keller R.P., Geist J., Jescke J., Kühn I., 2011. Invasive species in Europe: ecology, status and policy. *Environmental Sciences Europe*, 23:23
- 14) Kilpatrick A., Briggs C.J., Daszak P., 2009. The ecology and impact of chytridiomycosis: an emerging disease of amphibians. *Trends in Ecology and Evolution*. Vol 25, No 2.
- 15) Kolby J.E., Daszak P., 2016. The emerging amphibian fungal disease, chytridiomycosis: a key example of the global phenomenon of wildlife emerging infectious diseases. *Microbiol. Spectrum*. 4 (3) EI10-0004

- 16) McCoy K.A., Peralta A.L., 2018. Pesticides Could Alter Amphibian Skin Microbiomes and the Effects of *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Front. Microbiol.* 9:748
- 17) Martel A., Spitzen-van der Sluijs A., Blooi M., Bert W., Ducatelle R., Fischer M.C., Woeltjes A. Bosman W., Chiers K., Bossuyt F., Pasmans F., 2013. *Batrachochytrium salamandrivorans* sp. nov. causes lethal chytridiomycosis in amphibians. *PNAS*. Vol 110, no 38, 15325-15329.
- 18) Miaud C., 2013. Un champignon menace les amphibiens, qu'avons-nous appris de la chytridiomycose ? *Le Courrier de la Nature*. 277 : 30-36
- 19) Nielsen A., Dolmen D., Höglund J., Kausrud K., Malmstrøm M., Taugbøl A., Vrålstad T., Ytrehus B., de Boer H., Hindar K., Kirkendall L., Nilsen E.B., Rueness E.K., and Velle, G. 2019. Assessment of the risk to Norwegian biodiversity from the pathogenic fungi *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd) and *Batrachochytrium salamandrivorans* (Bsal). Opinion of the Panel on Alien Organisms and Trade in Endangered Species (CITES) of the Norwegian Scientific Committee for Food and Environment. VKM report 2019:4, ISBN: 978-82-8259-320-5, ISSN: 2535-4019
- 20) Lips K.R., Brem F., Brenes R., Reeve J.D., Alford R.A., Voyles J., Carey C., Livo L., Pessier A.P., Collins J.P., 2006. Emerging infectious disease and the loss of biodiversity in a Neotropical amphibian community. *PNAS*. Vol. 103, 9: 23165-3170
- 21) Lips K.R., Diffendorfer J., Medelson JR., Sears MW., 2008. Riding the Wave: Reconciling the Roles of Disease and Climate Change in Amphibian Declines. *PLoS*. Volume 6, Issue 3.
- 22) Lips K.R., 2016. Overview of chytrid emergence and impact on amphibians. *Phil. Trans. R. Soc. B* 371 : 20150465
- 23) Longcore J.E., Pessier A.P., Nichols D.K., 1999. *Batrachochytrium dendrobatidis* gen. et sp. nov., a chytrid pathogenic to amphibians. *Mycologia*. 91 (2) : 219-227.
- 24) O'Hanlon S.J., Rieux A., Farrer R.A., Rosa G.M., Waldman B., Bataille A., Kosch T.A., Murray K.A., Brankovics B., Fumagalli M., Martin M.D., Wales N., Alvarado-Rybak M., Bates K.A., Berger L., Böll S., Brookes L., Clare F., Courtois E.A., Cunningham A.A., Doherty-Bone T.M., Ghosh P., Gower DJ., Hintz W.E., Höglund J., Jenkinson T.S., Lin C., Laurila A., Loyau A., Martel A., Meurling S., Miaud C., Minting P., Pasmans F., Schmeller D.S., Schmidt B.R., Shelton J.M.G., Skerratt L.F., Smith F., Soto-Azat C., Spagnoletti M., Tessa G., Toledo L.F., Valenzuela-Sánchez A., Verster R., Vörös J., Webb R.J., Wierzbicki C., Wombwell E., Zamudio K.R., Aanensen D.M., James T.Y., Gilbert T.P., Weldon C., Bosch J., Balloux F., Garner T.W.J., Fischer M.C. 2018. Recent asian origin of chytrid fungi causing global amphibian decline. *Science* 360, 621-627.
- 25) Olson D.H., Aanensen D.M., Ronnenberg K.L., Powell C.I., Walker S.F., Bielby J., Garner T.W., Weaver G., Bd Mapping Group., Fischer M.C., 2013. Mapping the global emergence of *Batrachochytrium dendrobatidis*, the amphibian chytrid fungus. *PLoS One*. Vol 8, Issue 2.
- 26) Ribeiro L.P., Carvalho T., Guilherme Becker C., Jenkinson T.S., da Silva Leite D., James T.Y., Greenspan S.E., Toledo L.F., 2019. Bullfrog farms release virulent zoospores of the frog-killing fungus into the natural environment. *Nature*
- 27) 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*. Vol. 51, 4 : 552-562.
- 28) Salla R.F., Rizzi-Possignolo G.M., Oliveira C.R., Lambertini C., Franco-Belussi L., Leite D.S., Silva-Zacarin E.C.M., Abdalla F.C., Jenkinson T.S., Toledo L.F., Jones-

- Costa M., 2018. Novel findings of the impact of chytridiomycosis on the cardiac function of anurans: sensitive vs. tolerant species. PeerJ 6 :e5891
- 29) Samarasinghe H., You M., Jenkinson T.S., Xu J., James T.Y. 2020. Hybridization Facilitates Adaptive Evolution in Two Major Fungal Pathogens. Genes, 11, 101
- 30) Scheele B.C., Pasmans F., Skerratt L.F., Berger L., Martel A., Beukema W., Acevedo A.A., Burrowes P.A., Carvalho T., Catenazzi A., De La Riva I., Fischer M.C. Flechas S.V., Foster C.N., Frias-Alvaez P., Garner T.W.J., Gratwicke B., Guayasamin J.M., Hirschfeld M., Kolby J.E., Kosci T.A., La Marca E., Lindenmayer D.B., Lips K.R., Longo A.V., Maneyro R., McDonald C.A., Mendelson III J., Palacios-Rodriguez P., Parra-Olea G., Richards-Zawacki C.L., Rödel M., Rovito S.M., Soto-Azat C., Toledo L.F., Voyles J., Weldon C., Whitfield S.M., Wilkinson M., Zaniudio K.R., Canessa S., 2019. Amphibian fungal panzootic causes catastrophic and ongoing loss of biodiversity. Science 363 : 1459-1463.
- 31) Sellés Gasuli E., 2019. Bd vs Bsal: comparison and main differences between two killer fungi. (Poster, diplôme d'études approfondies en Biologie, Faculté de Biosciences) Université autonome de Barcelone : Barcelone
- 32) Skerratt L.F., Berger L., Speare R., Cashins S., Mc Donald K.R., Phillot A.D., Hines H.B., Kenyon N., 2007. Spread of Chytridiomycosis Has Caused The Rapid Global Decline and Extinction of Frogs. EcoHealth 4, 125-134.
- 33) Sonn J.M., Berman S., Richards-Zawacki C.L., 2017. The Influence of Temperature on Chytridiomycosis in Vivo. EcoHealth.
- 34) Stuart S.N., Chanson J.S., Cox N.A., Young B.E., Rodrigues A.S.L., Fischman D.L., Waller R.W., 2004. Status and Trends of Amphibian Declines and Extinctions Worldwide.
- 35) Tobin P.C., 2018. Managing invasive species (version 1; referees: 2 approved), F1000Research 7 - 1686
- 36) Verbrugge E., Van Rooij P., Favoreel H., Martel A., Pasmans F., 2019. In vitro modeling of Batrachochytrium dendrobatidis infection of the amphibian skin. PLoS One.
- 37) Voyles J., Young S., Berger L., Campbell C., Voyles W.F., Dinudom A. Cook D., Webb R., Alford R.A., Skerratt L.F., Speare R., 2009. Pathogenesis of Chytridiomycosis, Cause of Catastrophic Amphibian Decline. Science. Vol 326.
- 38) Woodhams D.C., Bletz M., Kueneman J., McKenzie V., 2016. Managing Amphibian Disease with Skin Microbiota. Trends in Microbiology 24:161-164
- 39) Yap T.A., Nguyen N.T., Serr M., Shepack A., Vredenburg V.T., 2017. *Batrachochytrium salamandrivorans* and the Risk of a Second Amphibian Pandemic. EcoHealth.
- 40) Zipkin E.F., DiRenzo G.V., Ray J.M., Rossman S., Lips K.R., 2020. Tropical snake diversity collapses after widespread amphibian loss. Science 367 : 814-816.

