

# **SURVEILLANCE SANITAIRE DES AMPHIBIENS DANS LES PARCS NATIONAUX FRANÇAIS ET ÉPIDÉMIOLOGIE DES ÉVÈNEMENTS DE MORTALITÉ DUS À DES RANAVIRUS DANS CES ESPACES PROTÉGÉS**

---

THESE

pour obtenir le titre de  
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

DIPLOME D'ÉTAT

*présentée et soutenue publiquement  
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

*par*

**PALUMBO Loïc**  
Né le 20/02/1995 à TOULOUSE (31)

**Directeur de thèse : M. Guillaume LE LOC'H**

---

## **JURY**

PRESIDENT :

**M. Christophe PASQUIER**

Professeur à l'Université Paul Sabatier de TOULOUSE

ASSEESSEURS :

**M. Guillaume LE LOC'H**

**M. Timothée VERGNE**

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MEMBRES INVITES :

**M. Claude MIAUD**

Directeur d'étude EPHE, Dynamique et conservation de la biodiversité,  
UMR5175 CEFE

**M. Sylvain LARRAT**

Pôle EVAAS, VetAgroSup





# **SURVEILLANCE SANITAIRE DES AMPHIBIENS DANS LES PARCS NATIONAUX FRANÇAIS ET ÉPIDÉMIOLOGIE DES ÉVÈNEMENTS DE MORTALITÉ DUS À DES RANAVIRUS DANS CES ESPACES PROTÉGÉS**

---

THESE

pour obtenir le titre de  
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

DIPLOME D'ÉTAT

*présentée et soutenue publiquement  
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

*par*

**PALUMBO Loïc**  
Né le 20/02/1995 à TOULOUSE (31)

**Directeur de thèse : M. Guillaume LE LOC'H**

---

## **JURY**

PRESIDENT :

**M. Christophe PASQUIER**

Professeur à l'Université Paul Sabatier de TOULOUSE

ASSEESSEURS :

**M. Guillaume LE LOC'H**

**M. Timothée VERGNE**

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MEMBRES INVITES :

**M. Claude MIAUD**

Directeur d'étude EPHE, Dynamique et conservation de la biodiversité,  
UMR5175 CEFE

**M. Sylvain LARRAT**

Pôle EVAAS, VetAgroSup

**Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation  
ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE**

**Liste des directeurs/assesseurs de thèse de doctorat vétérinaire**

**Directeur : Professeur Pierre SANS**

**PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE**

- M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
- M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Pharmacologie, thérapeutique*
- M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et industrie des aliments d'origine animale*
- Mme **CHASTANT-MAILLARD Sylvie**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, statistiques, modélisation*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie pathologique*
- M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
- Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la reproduction, endocrinologie*
- Mme **HAGEN-PICARD Nicole**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **SCHELCHER François**, *Pathologie médicale du bétail et des animaux de basse-cour*
- Mme **TRUMEL Catherine**, *Biologie médicale animale et comparée*

**PROFESSEURS 1<sup>ère</sup> CLASSE**

- M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et industrie des aliments*
- Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, anatomie pathologique*
- Mme **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie vétérinaire*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootecnie*
- M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **GUERIN Jean-Luc**, *Aviculture et pathologie aviaire*
- M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
- Mme **LACROUX Caroline**, *Anatomie pathologique, animaux d'élevage*
- Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et thérapeutique*
- M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des ruminants*

**PROFESSEURS 2<sup>ème</sup> CLASSE**

- Mme **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
- M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des équidés et des carnivores*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et toxicologie*
- Mme **MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation animale*
- M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, imagerie médicale*
- Mme **PAUL Mathilde**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles*
- M. **RABOISSON Didier**, *Médecine de population et économie de la santé animale*

## MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE

- M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la reproduction*
- Mme **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et industrie des denrées alimentaires d'origine animale*
- Mme **CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
- M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et toxicologie*
- M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et mathématiques*
- M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
- Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*
- M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et infectiologie*

## MAITRES DE CONFERENCES CLASSE NORMALE

- M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **BRET Lydie**, *Physique et chimie biologiques et médicales*
- Mme **BOUHSIRA Emilie**, *Parasitologie, maladies parasitaires*
- M. **CARTIAUX Benjamin**, *Anatomie, imagerie médicale*
- M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*
- Mme **DANIELS Hélène**, *Immunologie, bactériologie, pathologie infectieuse*
- Mme **DAVID Laure**, *Hygiène et industrie des aliments*
- M. **DIDIMO IMAZAKI Pedro**, *Hygiène et industrie des aliments*
- M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophthalmologie vétérinaire et comparée*
- Mme **FERRAN Aude**, *Physiologie*
- Mme **GRANAT Fanny**, *Biologie médicale animale*
- Mme **JOURDAN Géraldine**, *Anesthésie, analgésie*
- M. **JOUSSERAND Nicolas**, *Médecine interne des animaux de compagnie*
- Mme **LALLEMAND Elodie**, *Chirurgie des équidés*
- Mme **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*
- M. **LE LOC'H Guillaume**, *Médecine zoologique et santé de la faune sauvage*
- M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
- Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **MILA Hanna**, *Elevage des carnivores domestiques*
- M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **VERGNE Timothée**, *Santé publique vétérinaire, maladies animales réglementées*
- Mme **WASET-SZKUTA Agnès**, *Production et pathologie porcine*

## INGENIEURS DE RECHERCHE

- M. **AUMANN Marcel**, *Urgences, soins intensifs*
- M. **AUVRAY Frédéric**, *Santé digestive, pathogénie et commensalisme des entérobactéries*
- M. **CASSARD Hervé**, *Pathologie des ruminants*
- M. **CROVILLE Guillaume**, *Virologie et génomique cliniques*
- Mme **DEBREUQUE Maud**, *Médecine interne des animaux de compagnie*
- Mme **DIDIER Caroline**, *Anesthésie, analgésie*
- Mme **DUPOUY GUIRAUTE Véronique**, *Innovations thérapeutiques et résistances*
- Mme **GAILLARD Elodie**, *Urgences, soins intensifs*
- Mme **GEFFRE Anne**, *Biologie médicale animale et comparée*
- Mme **GRISEZ Christelle**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
- Mme **JEUNESSE Elisabeth**, *Bonnes pratiques de laboratoire*
- Mme **PRESSANTI Charline**, *Dermatologie vétérinaire*
- M. **RAMON PORTUGAL Félipe**, *Innovations thérapeutiques et résistances*
- M. **REYNOLDS Brice**, *Médecine interne des animaux de compagnie*
- Mme **ROUCH BUCK Pétra**, *Médecine préventive*

## Remerciements

A Monsieur le Professeur Christophe Pasquier, Professeur des Universités, *Doyen de la faculté des sciences pharmaceutiques*, merci d'avoir accepté de présider ce jury.

A Monsieur le Docteur Guillaume Le Loc'h, Maître de conférences de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, *médecine zoologique et santé de la faune sauvage*, merci d'avoir accepté d'encadrer cette thèse.

A Monsieur le Docteur Timothée Vergne, Maître de conférences de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, *épidémiologie et maladies réglementées*, merci d'avoir accepté d'être assesseur.

A Monsieur le Docteur Claude Miaud, *Directeur d'étude EPHE, Dynamique et conservation de la biodiversité, UMR5175 CEFÉ*, merci pour l'encadrement durant mon stage.

A Monsieur le Docteur Sylvain Larrat, *pôle EVAAS, VetAgro Sup*, merci pour l'encadrement tout au long de ces travaux.

Aux responsables des thématiques amphibiens des parcs nationaux (Yoann Bunz, Jérôme Cavailhes, Benoit Deffrennes, Jérôme Lafite et Marie-France Leccia) ainsi qu'à l'ensemble des agents et membres des structures partenaires qui ont pris part aux entretiens, merci de votre implication.

A Madame la Professeure des Universités Emmanuelle Gilot Fromont, A Monsieur le Docteur Pascal Hendrikx et à Monsieur le Docteur Dirk Schmeller (membres du panel de validation de l'évaluation), merci d'avoir accepté de mettre votre expertise au service de ce travail.

## Table des matières

Sigles et acronymes .....	8
Résumé .....	9
Abstract .....	9
Introduction .....	10
I. Etude bibliographique .....	12
A. <i>Ranavirus et amphibiens : de 1965 à nos jours</i> .....	12
B. <i>Les chytrides et autres agents pathogènes des amphibiens</i> .....	25
1. <i>Les chytrides</i> .....	25
2. <i>Les maladies des amphibiens : un domaine en évolution</i> .....	27
C. <i>Parcs nationaux français métropolitains et surveillance sanitaire des amphibiens</i> .....	29
II. Analyse des facteurs de risque d'infection de grenouilles rouges ( <i>Rana temporaria</i> ) par un ranavirus, Parc National du Mercantour .....	32
A. <i>Contexte</i> .....	32
B. <i>Matériels et méthodes</i> .....	33
1. <i>Les données</i> .....	33
2. <i>Analyses statistiques</i> .....	37
C. <i>Résultats</i> .....	38
D. <i>Discussion</i> .....	42
1. <i>Qualité des données</i> .....	42
2. <i>Biais pré-analytiques</i> .....	42
3. <i>Facteurs de risque d'infection par des ranavirus</i> .....	43
E. <i>Conclusion</i> .....	45
III. Evaluation OASIS du réseau de surveillance des mortalités d'amphibiens dans les parcs nationaux de montagne.....	46
A. <i>Contexte</i> .....	46
B. <i>Outils et déroulement de l'évaluation</i> .....	47
1. <i>La méthode OASIS</i> .....	47
2. <i>Détermination des parcs &amp; acteurs à inclure</i> .....	48
3. <i>Déroulement des entretiens</i> .....	48
C. <i>Résultats</i> .....	49
D. <i>Recommandations</i> .....	54
1. <i>Recommandation structurelle générale</i> .....	54
2. <i>Recommandations spécifiques par section</i> .....	56
3. <i>Les pratiques à généraliser</i> .....	58
E. <i>Discussion</i> .....	59
1. <i>La méthode OASIS appliquée à un réseau complexe de surveillance de faune sauvage</i> .....	59
2. <i>Les résultats</i> .....	61
F. <i>Conclusion</i> .....	61
Conclusion générale .....	62
Agrément de thèse signé .....	63
Bibliographie .....	64
Annexes.....	71

## Table des figures

Figure 1 : Répartition mondiale des espèces d'amphibiens basée sur la richesse spécifique. ....	10
Figure 2 : Mécanismes de pénétration cellulaire et de réplication virale des ranavirus.....	13
Figure 3 : Phylogénie des ranavirus affectant les amphibiens.....	15
Figure 4 : Sources de contamination des amphibiens par des ranavirus .....	19
Figure 5 : Distribution des ranavirus en Europe.....	22
Figure 6 : Lésions résultantes de l'infection d'amphibiens par des ranavirus.....	24
Figure 7 : Cycle de vie des chytrides du genre Batrachochytrium.....	26
Figure 8 : Lésions résultantes de l'infection d'amphibiens par différents pathogènes.....	28
Figure 9 : Répartition des parcs nationaux en France métropolitaine. ....	29
Figure 10 : Arbre causal hypothétique des infections d'amphibiens par des ranavirus, PNM.....	33
Figure 11 : Protocole d'analyse PCR de recherche de ranavirus à partir d'échantillons de grenouilles rousses. ....	35
Figure 12 : Structure des données pour les variables d'intérêt.....	39
Figure 13 : Variation du taux d'infection des grenouilles rousses par des ranavirus dans le PNM en fonction de la température.....	41
Figure 14 : Organisation actuelle de la surveillance sanitaire des amphibiens dans les PN de France. .....	46
Figure 15 : Sortie 1 de l'outil OASIS – notes par sections de l'évaluation de la surveillance sanitaire des amphibiens dans les parcs nationaux métropolitains de montagne.....	51
Figure 16 : Sortie 2 de l'outil OASIS – notes de l'évaluation par points critiques de la surveillance sanitaire des amphibiens dans les parcs nationaux métropolitains de montagne. ....	52
Figure 17 : Sortie 3 de l'outil OASIS – Diagramme en toile d'araignée de l'évaluation de la surveillance sanitaire des amphibiens dans les parcs nationaux métropolitains de montagne. ....	54
Figure 18 : Organisation de la surveillance sanitaire des amphibiens dans les Parcs nationaux métropolitains français et recommandations pour améliorer le fonctionnement et la pérennité du réseau.....	55

## Table des tableaux

Tableau 1 : Principales caractéristiques épidémiolo-cliniques des syndromes causés par des ranavirus chez les amphibiens adultes .....	17
Tableau 2 : Principales caractéristiques des protocoles de collecte utilisés pour la détection de ranavirus chez des grenouilles rousses ( <i>Rana temporaria</i> ) dans le PN du Mercantour .....	34
Tableau 3 : Variables recensées comme potentiels facteurs de risque d'infection de grenouilles rousses par des ranavirus dans le PNM. ....	36
Tableau 4 : Constitution de l'équipe d'évaluation.....	47
Tableau 5 : Recommandations pour l'amélioration du réseau de surveillance des amphibiens dans les parcs nationaux de France métropolitaine. ....	56

## Table des annexes

Annexe 1 : Évolution spatio-temporelle des analyses de mortalité d'amphibiens en fonction du statut infectieux ranavirus dans le PNM .....	71
Annexe 2 : Exemple de fiche d'accompagnement de prélèvements d'amphibiens dans le PNM .....	73
Annexe 3 : Résultats des tests de colinéarité entre variables.....	74
Annexe 4 : Définition des différentes unités du réseau de surveillance.....	75
Annexe 5 : Termes et conditions de l'évaluation, transmis aux responsables du réseau pour validation de la démarche avant mise en application .....	76
Annexe 6 : Questionnaire préliminaire adressé aux 6 parcs nationaux de forêt et de montagne de France métropolitaine, pour la préparation de la phase d'entretien de l'évaluation OASIS .....	77
Annexe 7 : Panel de validation de l'évaluation après attribution des notes et commentaires par l'équipe d'évaluation .....	79
Annexe 8 : Personnes interviewées et modalités de réalisation des entretiens .....	80
Annexe 9 : Détail des critères et notes pris en compte pour le calcul des sorties graphiques .....	81
Annexe 10 : Besoins pour l'amélioration du réseau de surveillance, identifiés lors des entretiens et présentés par section OASIS .....	89

## **Sigles et acronymes**

**ANSES** : Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

**AOA** : Aire Optimale d'Adhésion au PN - **ZC** : zone cœur du PN

**CDD** : Contrat à Durée Déterminée

**CEFE** : Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive, CNRS, Montpellier

**CM** : chargé de missions faune (au sein d'un PN)

**ENSAT** : Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie de Toulouse

**ENVT** : Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

**GM** : Garde moniteur (au sein d'un PN)

**LDA** : Laboratoire Départemental d'Analyses (vétérinaire)

- **LDA39** : Laboratoire départemental d'analyse (vétérinaire) du Jura

**OFB** : Office français de la biodiversité

**(q-RT)PCR** : (quantitative – Real Time) Polymérase Chain Réaction : technique de laboratoire basée sur une chaîne de réaction polymérase (quantitative ou qualitative) et possiblement avec visualisation des résultats en temps réel

**PN** : Parc nationaux, dont :

- **PNC** : Parc national des Cévennes
- **PNE** : Parc national des Ecrins
- **PNF** : Parc national de Forêt en Champagne et Bourgogne
- **PNM** : Parc national du Mercantour
- **PNP** : Parc national des Pyrénées
- **PNV** : Parc national de la Vanoise

**Pôle EVAAS** : Pôle d'Expertise Vétérinaire et Agronomique Animaux Sauvages

**SIG** : Science de l'Information Géographique

**ST** : Service territorial (d'un PN)

**UMR** : Unité Mixte de Recherche

## **Résumé**

Ranavirus et chytrides sont des causes majeures de mortalité massive d'amphibiens. Les Parcs Nationaux (PN) français effectuent donc une surveillance de ces agents pathogènes. Les données en résultant dans le PN du Mercantour ont été étudiées pour déterminer des facteurs de risque de ranavirose chez *Rana temporaria*. Un effet significatif de la température sur le risque d'infection est observé. De plus nous avons montré les limites de ces données, et proposé des variables d'intérêt à collecter systématiquement. Ensuite nous avons évalué le réseau de surveillance des amphibiens dans les PN avec la méthode OASIS. Cela a mis en évidence les principaux points forts, mais aussi les éléments limitant l'efficacité et compliquant le fonctionnement. Des recommandations ont été faites, dont (i) inclure des experts et temps de discussion amphibiens dans les instances de décision, (ii) renforcer les capacités de laboratoire et réaliser des autopsies et analyses histologiques.

**Mots clés** : *Amphibiens, Épidémiologie, Évaluation, Mortalité, Parc national, Ranavirus, Système de surveillance*

## **Abstract**

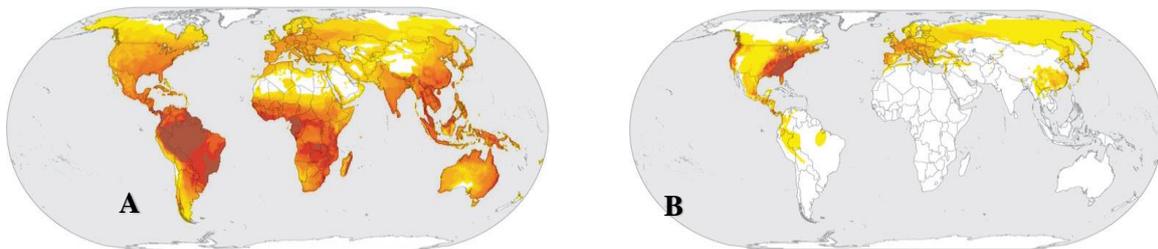
Ranavirus and chytrid fungi are major causes of mass mortality events in amphibians. Consequently, amphibians are monitored in French National Parks (NP) for disease-associated mortality. We studied the resulting data from the Mercantour NP to identify some drivers of ranavirus infections in *Rana temporaria*. Temperature had a significant positive correlation with the risk of infection. We also highlighted the limitation of such data and therefore we proposed relevant variables that should be recorded. Then, we evaluated the surveillance network of amphibian mortality in French NP using the OASIS method. We brought out the main strengths but also, limitations to the efficiency and simplicity of the network. Those observations resulted in recommendations to improve the surveillance, such as (i) inclusion of amphibian discussion and experts to existing steering committees, (ii) reinforcement of laboratory capacity and the setting-up of necropsies and pathology analysis.

**Keywords** : *Amphibians, Epidemiology, Evaluation, Mortality, National park, Ranavirus, Surveillance network*

## Introduction

La classe des Amphibiens comprend trois ordres, *Gymnophiona*, *Anura* et *Caudata*. Les deux derniers sont proches et relativement éloignés du premier. Dans la suite de ce rapport, pour la facilitation du discours, le terme « amphibiens » fera référence uniquement aux ordres des *Caudates* (ou « urodèles ») et des *Anoures*.

Les amphibiens sont distribués sur l'ensemble du globe, à l'exception des zones les plus désertiques. On observe cependant une forte hétérogénéité dans cette distribution mondiale (fig. 1) (Stuart et al. 2008; Wake et al. 2008)



**Figure 1** : Répartition mondiale des espèces d'amphibiens basée sur la richesse spécifique.

Répartition par classes de 10%, les zones rouges représentant les zones de plus grande richesse

A) Répartition des Anoures (environ 5600 espèces, richesse spécifique maximale = 142 espèces)

B) Répartition des Caudates (environ 570 espèces, richesse spécifique maximale = 23 espèces)

(D'après Stuart et al., 2008 – p. 2)

La connaissance des espèces d'amphibiens et de leur écologie a fait d'importants progrès en trois décennies, avec 50% des espèces connues référencées seulement depuis 1985. Cette évolution des connaissances est le reflet d'un intérêt croissant pour ces espèces, mais la vitesse d'acquisition des connaissances est le pendant d'une prise de conscience d'un déclin rapide des populations. Bien qu'ils aient survécu aux quatre extinctions de masse survenues depuis leur apparition, ils représentent aujourd'hui la classe de vertébrés la plus en danger (Wake et al. 2008). Ces déclin massifs concernent près de la moitié des populations d'amphibiens et se produisent à un rythme alarmant (Miller et al. 2011). Ils concernent de nombreuses espèces figurant sur la liste rouge de l'UICN (Union Internationale pour la Conservation de la Nature). Un certain nombre de cas surviennent dans des espaces protégés et relativement préservés des causes habituelles de déclin (e.g. pollution, fragmentation de l'habitat, perturbations anthropiques) (Carey et al. 1999; Gascon et al. 2007; Stuart et al. 2008)

Le rôle des maladies infectieuses émergentes, présenté comme une autre cause de déclin depuis les années 1990 et d'abord débattu (Laurance et al. 1996; Alford et al. 1997; Laurance et al. 1997), est aujourd'hui communément accepté (Daszak et al.

1999; 2003; De Castro et al. 2005), notamment le rôle des virus du genre *Ranavirus* (Allain et al. 2019) et des chytrides, un groupe de champignons dont deux espèces (*Batrachochytrium dendrobatidis* & *B. salamandrivorans*) parasitent les amphibiens (Duffus et al. 2010; Martel et al. 2013). Du fait de l'importance que semblent avoir ces agents pathogènes dans le déclin des populations, l'OIE a classé les trois maladies qu'ils causent au sein de la liste des maladies des amphibiens à déclaration obligatoire (Schloegel et al. 2010) (Liste des maladies notifiables OIE, 2020).

En France les ranavirus provoquent des évènements de mortalité massive d'amphibiens, notamment dans des espaces préservés et protégés tels que les Parcs nationaux (PN) (Miaud et al. 2016). Cette mortalité due à des ranavirus semble dans certains cas associée à des déclin de populations, parfois très importants (Teacher et al. 2010) et pouvant affecter des espèces déjà menacées (Sutton et al. 2014). Outre l'effet direct de la mortalité sur le maintien des populations, la persistance d'infections par des ranavirus dans une population entraîne des modifications démographiques (e.g. pyramide des âges tronquée) rendant les populations plus sensibles aux changements environnementaux (Campbell et al. 2018), ce qui favorise le risque de déclin voire d'extinction. Il semble alors pertinent que, dans une dynamique générale de préservation des amphibiens, les structures œuvrant dans des zones protégées soient considérées comme des acteurs majeurs. En effet, elles jouent un rôle tant dans la compréhension de la dynamique de ces virus (encore lacunaires sur de nombreux aspects, Campbell et al. 2020), notamment via la possibilité d'étude à long terme, que dans la lutte contre ces agents pathogènes.

Partant de ce constat, l'objectif de cette étude est double. Dans un premier temps nous nous intéressons à l'apport que peuvent fournir les PN dans la connaissance des infections à ranavirus via la réalisation d'études sur le long terme, en utilisant les données de surveillance du PN du Mercantour sur la mortalité de grenouilles rousses (*Rana temporaria*) de 2011 à 2018. L'objectif est de déterminer les facteurs biotiques et abiotiques locaux impactant la distribution et la dynamique des infections à ranavirus dans le parc. L'hypothèse initiale est que ces derniers (caractéristiques de l'hôte, activité humaine, température, caractéristique du site et composition de l'écosystème local) sont semblables à ceux identifiés au Royaume-Uni (North et al. 2015) mais avec des particularités propres au contexte d'espace protégé. Ensuite, nous procédons à l'évaluation du réseau de surveillance sanitaire des populations d'amphibiens dans les

PN français, en réalisant une évaluation semi-quantitative du dispositif à l'échelle métropolitaine avec la méthode OASIS (Hendrikx et al. 2011). Cela permet de mettre en lumière les points forts du réseau et des pistes pour améliorer l'efficacité des dispositifs de chaque PN, et du réseau national qu'ils composent.

## **I. Etude bibliographique**

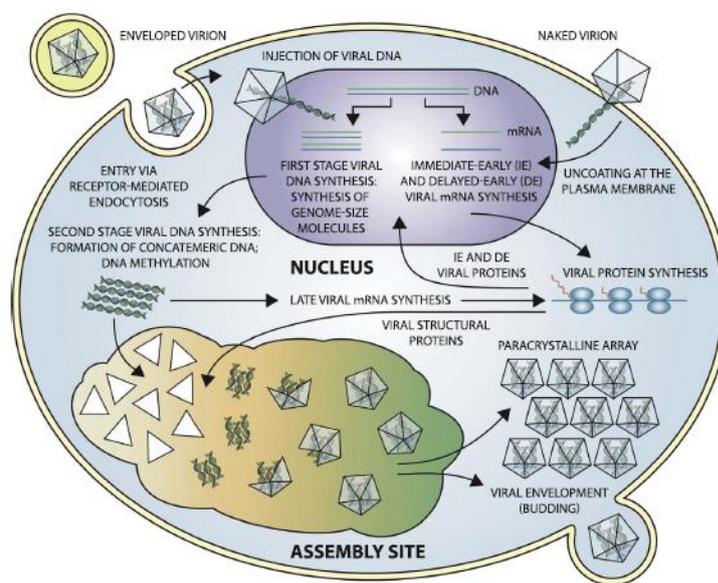
### **A. *Ranavirus et amphibiens : de 1965 à nos jours.***

Lucké décrit pour la première fois en 1934 la présence d'adénocarcinome rénaux chez des grenouilles léopards (*Rana pipiens*), et leur étiologie est confirmée comme étant virale en 1938. En 1965 Allan Granoff publie une étude (Granoff et al. 1965) où il décrit trois virus potentiellement impliqués dans l'étiologie des tumeurs de Lucké (FV1, FV2 et FV3), et il distingue FV3, qui contrairement aux deux autres, n'est pas retrouvé chez des grenouilles saines et est donc présumé être à l'origine des tumeurs. L'équipe entreprend alors la caractérisation de FV3, qui est le premier virus de la famille *Iridovirus* décrit chez des vertébrés. Il est classé au sein du genre *Ranavirus*, étant considéré par la suite comme le virus type du genre. Quelques années plus tard, Ken Wolf et son équipe isolent un nouveau virus apparenté au genre *Ranavirus*, cette fois-ci chez des têtards de *Rana catesbeianus* en Virginie occidentale. Ce virus polyédrique cytoplasmique est baptisé *Tadpole Edema Virus* (TEV) en raison des œdèmes qu'il provoque chez les têtards développant une forme clinique, soit environ 50% des têtards infectés (Wolf et al. 1968). En 1968 et 1969, Clark et son équipe (Clark et al. 1968; 1969) précisent la morphologie des deux ranavirus et en décrivent un troisième affectant les tritons juvéniles et adultes (*Triturus viridescens*), qu'ils baptisent *Lucké triturus virus* (LTV).

Une série d'études menées entre 1966 et 1977, intitulée «*Viruses and renal carcinoma of Rana pipiens* (I to XV)» a permis de mettre en évidence que FV3 n'est pas responsable des tumeurs de Lucké, et que ces dernières sont causées par des virus oncogènes du genre *Herpesvirus*. Les postulats de Koch permettent de confirmer cette étiologie en 1974 (Naegele et al. 1974).

Les trois premiers ranavirus sont similaires, ce sont des virus à ADN double brins linéaires et symétriques, avec des virions icosaédriques d'une taille de 120 à 200nm. Ils présentent la particularité (partagée avec quelques autres virus tel les *Asfaviridae*) de pouvoir être infectieux sous deux formes, enveloppés ou non (Jancovich et al. 1997; Chinchar et al. 2017). Les virus sont localisés dans le cytoplasme des cellules

infectées, où ils provoquent de nombreuses inclusions virales (Chinchar 2002). Ces trois virus entraînent des réactions antigéniques croisées et présentent plus de 90% d'homologies au niveau de leur génome (Essani et al. 1989), alors qu'ils sont seulement homologues à 25% avec un autre ranavirus affectant les poissons, le *Goldfish Virus* (GFV). Cependant ces quatre ranavirus présentent tous un cycle de réplication virale qui fait intervenir une phase de méthylation de l'ADN et des ARNm viraux à expression séquencée (immédiat, précoce et tardif) (Chinchar et al. 2017). Par ailleurs ce cycle de réplication virale est thermosensible (Tripier et al. 1977), avec une inhibition au-dessus de 37°C pour FV3 et un optimum à 29°C (fig. 2). Ces différentes caractéristiques sont fortement conservées chez les différents *Ranavirus*.



**Figure 2 :** Mécanismes de pénétration cellulaire et de réplication virale des ranavirus  
 (Basé sur les connaissances pour l'espèce type FV3 ;  
 d'après Chinchar et al., 2017 – p. 4/13)

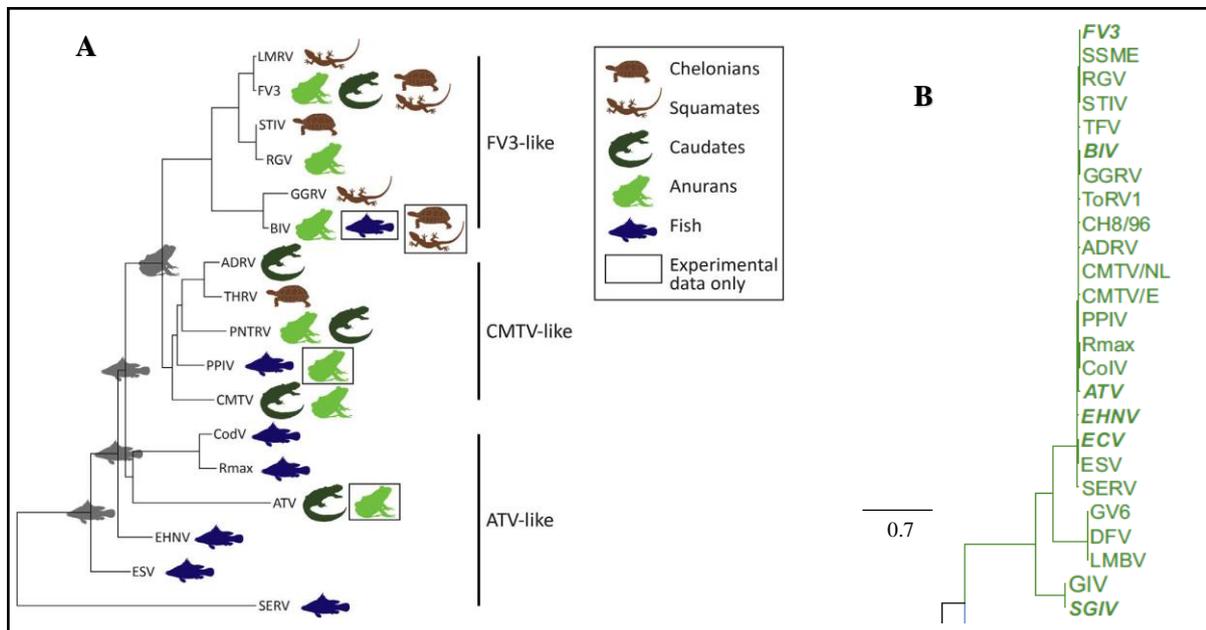
Au cours des années 1980 et 1990, de nombreux virus d'amphibiens apparentés à la famille *Iridoviridae* et au genre *Ranavirus* ont été identifiés. Certains de ces virus, comme le *Bohle Iridovirus* (BIV) décrit pour la première fois en 1992 chez des juvéniles de *Limnodynastes ornatus* en Australie (Speare et al. 1992) se sont avérés être de nouveaux ranavirus distincts des précédents, bien qu'apparentés. Le BIV a récemment été rattaché à l'espèce virale FV3 comme souche virale d'après les critères ICTV. D'autres, comme le *RedwoodCreek Virus* (RCV), sont en fait des souches de virus déjà décrit, tel que le FV3 (Mao et al. 1999; Hemingway et al. 2009). Enfin certains, à l'image du *Frog Erythrocytic virus* (Gruia-Gray et al. 1989; 1992) (R. Speare et

al.1991), proches des ranavirus appartiennent en réalité à un autre genre (Zupanovic et al. 1998b).

Face à la multitude de virus décrits, différentes équipes ont entrepris, depuis les années 2000, de revoir et clarifier la classification du genre *Ranavirus* en se basant sur différents éléments (Hyatt et al. 2000; Chinchar 2002; Williams et al. 2005; Gascon et al. 2007; Hemingway et al. 2009; Chinchar et al. 2009; 2017; Duffus et al. 2010; Duffus et Andrews 2013; Jancovich et al. 2015; Price et al. 2017). De nombreux arbres phylogénétiques existent pour le genre *Ranavirus*, et plus généralement pour la famille *Iridoviridae*, sous famille *Alphavirinae* (comprenant les 3 genres : *Lymphocystivirus*, *Megalocytivirus* et *Ranavirus*). Deux arbres phylogénétiques, récents et semblant faire consensus, sont présentés dans la figure 3. Du fait des différentes méthodes utilisées et de leur évolution, la classification des ranavirus a beaucoup évolué et les premières études de classification sont à interpréter avec précaution, d'autant qu'elles se basent souvent sur une analyse de séquence partielle du gène codant pour la protéine majeure de capsid (MCP), ce qui s'est révélé insuffisant pour avoir une bonne résolution de discrimination entre isolats (Duffus et Andrews 2013). L'évolution de la classification des isolats, a conduit à identifier trois espèces (avec différentes souches) de ranavirus affectant les amphibiens (sept espèces tous hôtes confondus) reconnues par l'*International Committee on Taxonomy of Viruses* (2020) : **FV3** (*Frog virus 3*), **ATV** (*Ambystoma tigrinum virus*) & **CMTV** (*Common midwife toad virus*).

Cependant, la phylogénie des ranavirus reste encore fluctuante, du fait de la grande diversité de virus décrits récemment et de l'absence de consensus sur des critères simples à employer pour cette classification à l'échelle internationale. Aussi, selon les critères utilisés, les espèces de *Ranavirus* peuvent être vues comme distinctes ou comme des souches d'un même virus, voire reclassées hors du genre *Ranavirus* (e.g. *Singapor Grouper Iridovirus*) (Chinchar et al. 2017). Par ailleurs, les différents virus semblent capables de recombinaisons entre eux, générant des virus chimères parfois extrêmement virulents, comme cela peut être le cas entre les souches co-cirulantes de CMTV-like et de FV3-like en Europe (Campbell et al. 2020). Par ailleurs, certains des critères retenus par l'ICTV sont coûteux et fastidieux à mettre en

œuvre, et sont de fait peu utilisés par les équipes travaillant sur le terrain, expliquant le manque d'acuité des filiations de certains isolats.



**Figure 3 :** Phylogénie des ranavirus affectant les amphibiens.

La liste des isolats n'est pas exhaustive. Correspondance des abréviations : publications d'origine.

**A)** Arbre phylogénétique, simplifié d'après Stöhr et al. 2015, faisant apparaître le spectre d'hôtes supposé. Les ATV-like sont groupés avec les ranavirus de poissons (groupe paraphylétique).

**B)** Phylogramme par Maximum de Vraisemblance pour le genre *Ranavirus* basé sur les alignements de séquence de 13 gènes (14373 aa). La distance de branche représente le nombre de substitutions (*cf.* échelle).

(D'après Price et al, 2017 – p. 2/8 [A] et Chinchar et al, 2017 – p.8/13 [B])

Toutes espèces virales confondues, les ranavirus affectent les vertébrés poïkilothermes parmi lesquels on retrouve les amphibiens, mais aussi les poissons et les reptiles (Lesbarrères et al. 2012; Price et al. 2017; Allain et al. 2019). Certains ranavirus affectent un seul taxon et d'autres, comme le BIV, peuvent infecter différents taxons (Moody et al. 1994; Cullen et al. 1995). Par ailleurs, bien que de l'ADN de ranavirus ai été détecté en 2015 chez des moustiques (Kimble et al. 2015), des études plus récentes n'ont pas mis en évidence la présence du virus chez les insectes (Miaud et al. 2019; Vargas et al. 2020) et il n'existe pas de données sur la viabilité des ranavirus chez ces derniers, ni sur leur possible rôle de vecteur.

Au sein des amphibiens, les ranavirus peuvent affecter un large panel d'espèces, avec plus de 91 espèces appartenant à différents genres répartis dans 14 familles d'anoures et urodèles (<https://www.ranavirus.org/ranavirus-info>). Toutefois les

espèces virales présentent des tropismes différents. L'ATV, décrit suite à une mortalité massive et répétée de salamandres *Ambystoma tigrinum*, aux Etats-Unis entre 1985 et 1995 (Jancovich et al. 1997), n'affecte cliniquement que des urodèles et ne provoque apparemment pas d'atteinte clinique chez les anoures (Jancovich et al. 2001). A l'inverse, les virus FV3-like semblent affecter préférentiellement les anoures, bien que retrouvés chez des caudates (Clark et al. 1968). Enfin, les virus CMTV-like semblent quant à eux infecter aussi bien des espèces d'urodèles que d'anoures (Balseiro et al. 2009; 2010).

De plus, toutes les espèces d'amphibiens ne présentent pas la même susceptibilité aux différents virus (Price et al. 2017) et le stade de développement de l'amphibien semble également jouer un rôle déterminant dans la sensibilité au virus. Certains virus causent des atteintes cliniques préférentiellement chez les têtards, comme le FV3 - *Redwood Creek virus* (Mao et al. 1999). Certains comme le BIV atteignent à l'inverse plutôt les adultes (Cullen et al. 1995). D'autres encore atteignent tous les stades de développement comme l'ATV (Jancovich et al. 2001). Cependant, le tropisme préférentiel semble variable pour une espèce virale donnée en fonction des conditions environnementales et de l'espèce hôte considérée. Par exemple, le FV3 touche préférentiellement les têtards de différentes espèces aux USA et quasi-exclusivement les individus en phase terrestre de *Rana temporaria* au Royaume-Uni (Cunningham et al. 1996; Mao et al. 1999; Teacher et al. 2010; Duffus, Nichols, et al. 2013).

Par ailleurs, les manifestations cliniques des infections à ranavirus chez les amphibiens sont aussi conditionnées par les conditions environnementales et la densité des populations (Chinchar et al. 2014; Price et al. 2017). De plus, pour une espèce virale donnée, les différentes souches semblent provoquer des expressions cliniques d'intensités variables. On retrouve des souches importées plus pathogènes que des souches endémiques pour l'ATV (Storfer et al. 2007), ou encore des souches européennes de CMTV de pathogénicité variable (Campbell et al. 2020).

Bien que l'infection par un ranavirus provoque souvent une mortalité massive, on observe également des infections asymptomatiques (Wolf et al. 1968; Brunner et al. 2004). Cette grande variabilité est, entre-autres, le reflet des différences de réponse immunitaire antivirale de l'hôte (Lesbarrères et al. 2012; Chinchar et al. 2014). De plus, bien que le mécanisme n'en soit pas complètement compris, la diversité du microbiome cutané (et intestinal) des amphibiens joue un rôle dans la susceptibilité au

virus (Harrison et al. 2019), les individus possédant un microbiome peu diversifié ayant une plus grande probabilité de décès.

Toutefois, lorsque un individu développe une atteinte clinique, quel que soit le virus (Duffus et al. 2010) on retrouve essentiellement deux tableaux cliniques, la forme ulcérate -U- et la forme hémorragique -H- (Cunningham et al. 1996) (lésions illustrées sur la figure 6). Les principales caractéristiques de ces tableaux chez l'adulte sont reprises dans le tableau 1. Ces deux syndromes peuvent survenir isolément ou simultanément au sein d'une population, voire chez un même individu (Cunningham et al. 2007; Duffus et al. 2010). De plus de très nombreux animaux présentent des œdèmes, et ce quel que soit leur stade de développement ou le syndrome développé (Bollinger et al. 1999; Greer et al. 2007). Enfin, chez les urodèles atteints par l'ATV, on retrouve, en plus, des polypes cutanés blancs, précédant l'apparition d'atteintes internes (Jancovich et al. 1997). Le tableau clinique correspond à celui de la « red-leg disease », maladie des amphibiens longtemps attribuée à des bactéries du genre *Aeromonas*, notamment *A. hydrophila*. Aujourd'hui ces bactéries sont retrouvées sur des amphibiens morts de ranavirose, et sont considérées comme à l'origine d'infections secondaires voire post-mortem (Cunningham et al. 2007; Balseiro et al. 2009).

**Tableau 1** : Principales caractéristiques épidémiocliniques des syndromes causés par des ranavirus chez les amphibiens adultes.

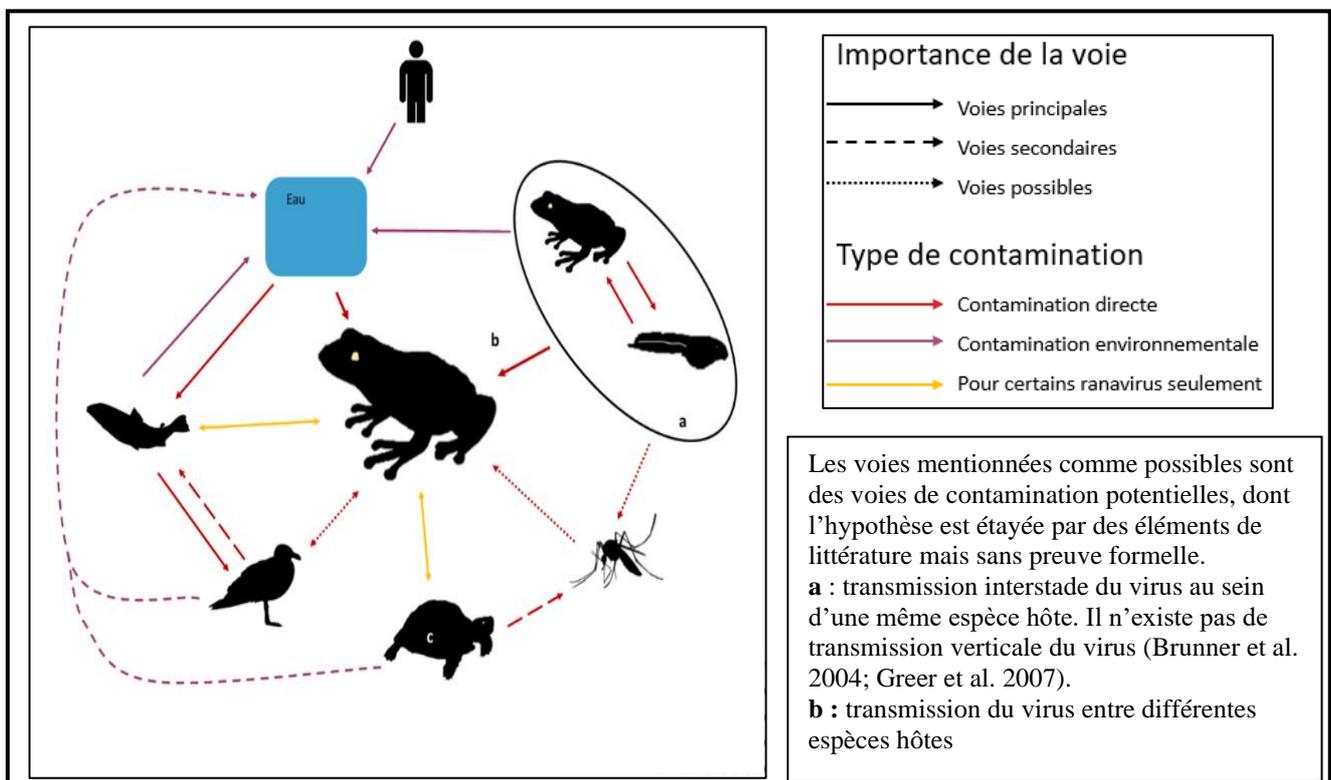
D'autres stades peuvent être atteints avec des tableaux cliniques généraux similaires non détaillés ici. Les amphibiens atteints de ranavirose peuvent présenter tout ou partie des signes décrits. Ils peuvent aussi ne présenter aucune atteinte clinique. Le pourcentage d'individus atteints est issu d'une approximation d'après Cunningham et al 1996. Si non mentionné : >90%.

Les trois syndromes : Syndrome **Hémorragique**, Syndrome **Ulcératif** et Syndrome mixte (**U+H**)  
**GNN** : Granulocytes Neutrophiles ; **GNA** : GN acidophiles ; **GNB** : GN basophiles ; **L** : lymphocytes

	<b>Syndrome (H)</b>	<b>Syndrome (U)</b>	<b>Syndrome (U+H)</b>
<b>Létalité</b>	Elevée et mortalité massive	<25%, atteinte chronique	Elevée et massive
<b>Epidémiologie</b>	40-50% des cas de ranavirose	40-50% des cas de ranavirose	Syndrome rare (<10-15%)
	Fortes doses virales Développement aigu	Doses virales faibles Subaiguë, évolution lente	
Modes de transmission : contact, ingestion (cannibalisme) ou bain dans eau contaminée			

	<b>Syndrome (H)</b>	<b>Syndrome (U)</b>	<b>Syndrome (U+H)</b>
<b>Lésions externes</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Hémorragie généralisée</li> <li>➤ Œdèmes sous-cutanés (25%)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Ulcérations du derme</li> <li>➤ Nécroses postérieures (stade avancé, 50%) +/- perte de phalanges</li> <li>➤ Amyotrophie (30%)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Ulcérations épidermiques et dermiques</li> <li>➤ Œdèmes sous-cutanés (30%)</li> </ul>
Perte d'état, possibles érythèmes cutanés (50%) et linguaux, rougeurs de peau (50%)			
<b>Lésions internes systémiques</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Hémorragie interne généralisée</li> <li>➤ Pétéchies systémiques</li> <li>➤ Ecchymoses hémorragiques musculaires (85%)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Possibles saignements localisés (25%)</li> <li>➤ Absence d'hémorragie ou d'érythème systémique</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Hémorragie interne généralisée</li> <li>➤ Pétéchies systémiques</li> </ul>
<b>Atteinte des organes internes</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Pancréas : hémorragies et nécroses (5%)</li> <li>➤ Foie : congestion (25%)</li> <li>➤ Rate : congestion +/- nécroses (15%)</li> <li>➤ Gastro-entérite sévère +/- hémorragique (GESH)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Gastro-entérite légère (15%)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Pancréas : hémorragies et nécroses (30%)</li> <li>➤ Foie : congestion (40%)</li> <li>➤ Vessie : congestion et hémorragies (40%)</li> <li>➤ Rate : congestion +/- nécroses (30%)</li> <li>➤ GESH</li> </ul>
Congestion pulmonaire (30%), congestion rénale (10% U, 25 %HS, 30% U+HS), pétéchies et/ou érythème testiculaires / sur les oviductes (10% U, 75%HS, 95% U+HS)			
<b>Histologie</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Nécrose extensive épidermique</li> <li>➤ Foie : inclusions cytoplasmiques (GNN + GNA)</li> <li>➤ Nécroses rénales</li> <li>➤ Gastro-entérite hémorragique (GEH) et nécroses (75%)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Zones d'ulcération dermique avec nécrose. Invasion (GNN + L)</li> <li>➤ Rares nécroses rénales interstitielles (20%)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Nécrose extensive épidermique</li> <li>➤ Ulcération dermique avec nécrose. Invasion (GNN + L)</li> <li>➤ Foie : inclusions cytoplasmiques</li> <li>➤ Nécroses rénales</li> <li>➤ GEH et nécroses</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Nécroses focales : <i>stratum basale et s. spinosum</i></li> <li>➤ Poumons : congestion (70%), hémorragie +/- nécrose (1/2 des 70%) <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Foie : mélano-macrophages (25%), nécrose focale aigue (25%)</li> <li>➤ Lésions cardiaques (20%)</li> </ul> </li> <li>➤ Rate : nécrose focale aigue (40%), congestion (50%), déplétion lymphoïde (50%) <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Reins : infiltration granulocytaire interstitielle et sous-capsulaire</li> <li>➤ Congestion vésicale</li> </ul> </li> <li>➤ Langue : nécrose, inflammation granulocytaire, congestion, hémorragies</li> </ul>			

Le fait que le virus rencontré provienne d'un animal présentant l'un ou l'autre des syndromes peut conditionner l'apparition d'une forme clinique chez l'amphibien (Cunningham et al. 2007). Selon le mode de transmission (fig. 4), les animaux infectés à partir de virus issus de forme U ou H peuvent développer une forme H ou une forme mixte, mais seuls les virus issus de forme U peuvent causer une forme U chez un nouvel hôte. Les différentes modalités de transmission, directes ou indirectes, comprennent majoritairement une contamination par contact direct ou l'ingestion d'amphibien infecté, et un bain dans de l'eau contaminée (Lesbarrères et al. 2012). D'autres voies de contamination existent, comme le portage mécanique par des vertébrés (e.g. oiseaux (Whittington et al. 1996) ou possiblement la transmission vectorielle mécanique par des moustiques (Gruia-Gray et al. 1992; Kimble et al. 2015), bien que cela semble limité à l'état sauvage (Vargas et al. 2020). L'importance relative de ces différents modes de transmission dépend, une fois encore, de l'espèce et du stade de développement de l'hôte (Hoverman et al. 2010).



**Figure 4** : Sources de contamination des amphibiens par des ranavirus.

Les anoures et urodèles sont représentés à tous les stades par la grenouille centrale.

(c) représente tous les reptiles pouvant être infectés par les ranavirus (chélonien, squamates et ophidiens).

En outre, le fait que les infections par des ranavirus puissent causer des déclin massifs de populations d'amphibiens, s'explique notamment par la possibilité d'un réservoir intraspécifique interstade du pathogène, en effet les différents stades de développement des amphibiens occupant des habitats communs de façon asynchrone dans le temps et avec des taux de létalité différents, un stade peut servir de réservoir pour les autres (Brunner et al. 2004). De plus, la persistance longue du virus dans les eaux et sédiments favorise le maintien de l'infection dans des populations de faible effectif (Hall et al. 2016; Miaud et al. 2019). Ces deux phénomènes, couplés à une transmission possiblement fréquence-dépendante (Brunner et al. 2007; Miaud et al. 2016), sont autant d'éléments qui permettent d'expliquer le maintien de l'infection, y compris dans de petites populations isolées, pouvant vraisemblablement les conduire à l'extinction (De Castro et al. 2005; Earl et al. 2014). Les petites populations semblent par ailleurs plus susceptibles aux ranavirus (Hoverman et al. 2011).

Du fait de la diversité des modes de transmission, du large spectre d'hôtes et de la persistance dans l'environnement jusqu'à plusieurs semaines (Hall et al. 2016), les ranavirus se sont répandus mondialement. Actuellement ils circulent sur tous les continents abritant des amphibiens, à l'exception de l'Afrique, et ce depuis la fin du vingtième siècle (Granoff et al. 1965; Wolf et al. 1968; Speare et al. 1992; Drury et al. 1995; Zupanovic et al. 1998a; Zhang et al. 2001). Pour ce qui est du continent Africain, la présence de ranavirus a été détectée chez une grenouille *Xenopus longipes* par PCR sur une section de doigt au Cameroun en 2010 (Doherty-Bone et al. 2013), mais il s'agit de l'unique description sur le continent. Les 47 autres grenouilles testées lors de la même étude (10 doigts et 37 organes internes) étaient négatives en PCR, et la recherche histologique de lésions évocatrices n'a pas permis d'identifier ces lésions pour les 48 grenouilles. Un faux positif est donc largement envisageable et l'Afrique est actuellement considérée comme n'ayant pas rapporté la présence de ranavirus. Cette absence de détection peut venir d'une absence réelle, ou plus probablement d'une trop faible détection et investigation de la mortalité d'amphibiens.

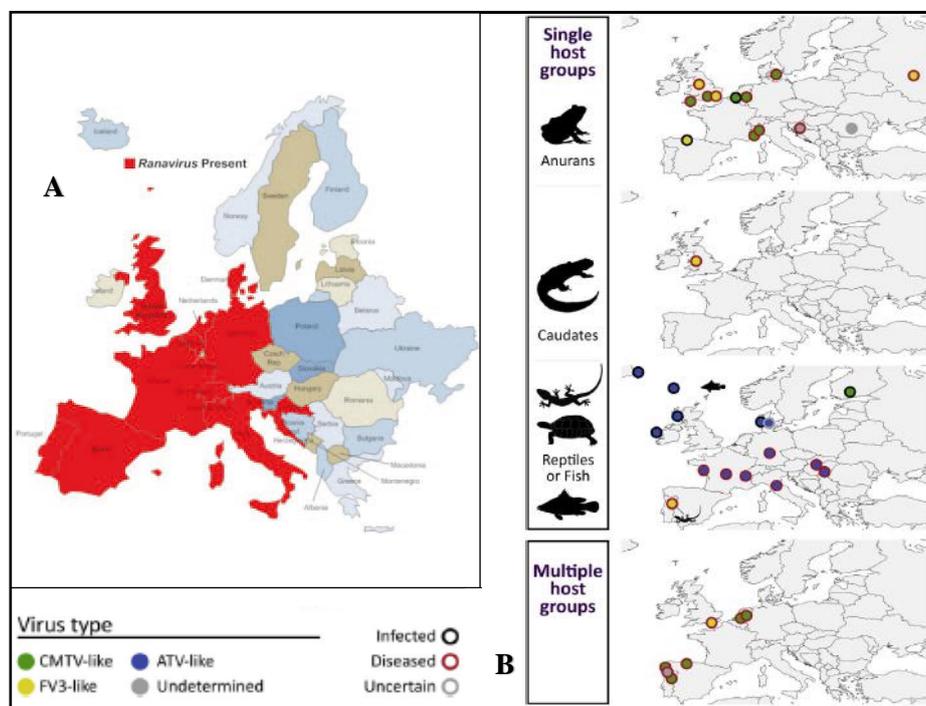
La dispersion mondiale des ranavirus a été, et continue d'être, largement facilitée par les activités humaines (Hoverman et al. 2010; Price et al. 2017; von Essen et al. 2020), notamment l'élevage et le commerce d'amphibiens pour l'alimentation ou comme appât de pêche (Schloegel et al. 2009; 2010). L'homme a également joué un rôle par l'introduction (volontaire ou non) d'espèces exotiques réservoir du virus,

comme par exemple *Bufo marinus* en Australie (Speare 1990; Speare et al. 1992; Lampo et al. 1998) ou *Rana catesbeianus* en Europe (Sharifian et al. 2011).

En Europe, le premier cas de mortalité lié à des ranavirus a été documenté chez des poissons de l'espèce *Gadhus morhua* en 1979 par Jensen et son équipe (Campbell et al. 2020). Depuis, des ranavirus ont été décrits chez des amphibiens européens (fig. 5) et sont à l'origine d'un nombre important d'évènements de mortalité massive (Allain et al. 2019). En 1991, une première description de cas de mortalité massive d'amphibien « Ranavirus-like » est rapportée en Croatie, mais le virus identifié comme « Iridovirus-like » n'a pas formellement été rattaché au genre *Ranavirus* (Fijan et al. 1991). Il faut attendre quelques années de plus pour la première description avérée de ranavirus d'amphibiens en Europe, bien que des événements de mortalité soient décrits depuis les années 1980. Cette description a été faite au Royaume-Uni, suite à la mortalité de crapauds communs (*Bufo bufo*) (Drury et al. 1995) et de grenouilles rousses (*Rana temporaria*) (Cunningham et al. 1996). Puis, ce n'est qu'à partir du milieu des années 2000 que des ranavirus ont été trouvés chez des amphibiens dans différents pays d'Europe continentale (Allain et al. 2019), comme en Espagne (Balseiro et al. 2009), au Pays-Bas (Kik et al. 2011), en Belgique (Sharifian-Fard et al. 2011), au Portugal (Alves de Matos et al. 2008), en Hongrie (Vörös et al. 2020). Dans les pays européens, on retrouve essentiellement une espèce virale, le *Common Midwife Toad Virus* (CMTV), touchant un large spectre d'hôtes à différents stades, à la fois chez les anoues et les urodèles (Balseiro et al. 2010; Kik et al. 2011; Price et al. 2017). On retrouve également une circulation de ranavirus FV3-like sur les îles européennes, comme au Royaume-Uni chez les grenouilles *Rana temporaria* (Campbell et al. 2020).

La détection des ranavirus chez les amphibiens peut être réalisée par de nombreuses techniques diagnostiques. Historiquement, les premières descriptions d'infection à ranavirus chez des amphibiens se sont faites sur la base de critères cliniques : mortalité massive et rapide, expression clinique évocatrice (cf. tableau 1), possiblement récurrents sur plusieurs années. Cependant cette détection clinique, associée à une confirmation de laboratoire par isolement viral et caractérisation morphologique du virus, connaît deux limites majeures : le manque de détectabilité précoce et l'impossibilité de déterminer l'espèce virale impliquée. Pour pallier à ces défauts, la méthode diagnostique la plus largement utilisée depuis la fin des années

1990 est l'amplification d'ADN par PCR, comme décrite par Mao et al. (1999). Désormais, la révélation par électrophorèse est largement remplacée par une lecture quantitative via l'utilisation de qPCR (Miller et al. 2015). La séquence la plus largement utilisée pour la détection des ranavirus est une séquence de 530 paires de base (pb) du gène codant pour la protéine majeure de capsid (MCP), qui présente l'intérêt d'être très largement conservée au sein du genre, ce qui permet un screening large des ranavirus (Lesbarrères et al. 2012; Duffus et al. n.d). Cependant, cette séquence ne permet toujours pas la discrimination des espèces et souches virales, ce qui a conduit à l'utilisation d'analyses RFLP (Chinchar 2002) et immuno-histo-chimiques (Balseiro et al. 2010), entre-autres techniques, pour les études nécessitant l'identification précise du ranavirus en cause.



**Figure 5 :** Distribution des ranavirus en Europe.

**A)** Pays Européens ayant déclaré des cas de ranavirose sur des amphibiens sauvages en **2019**.

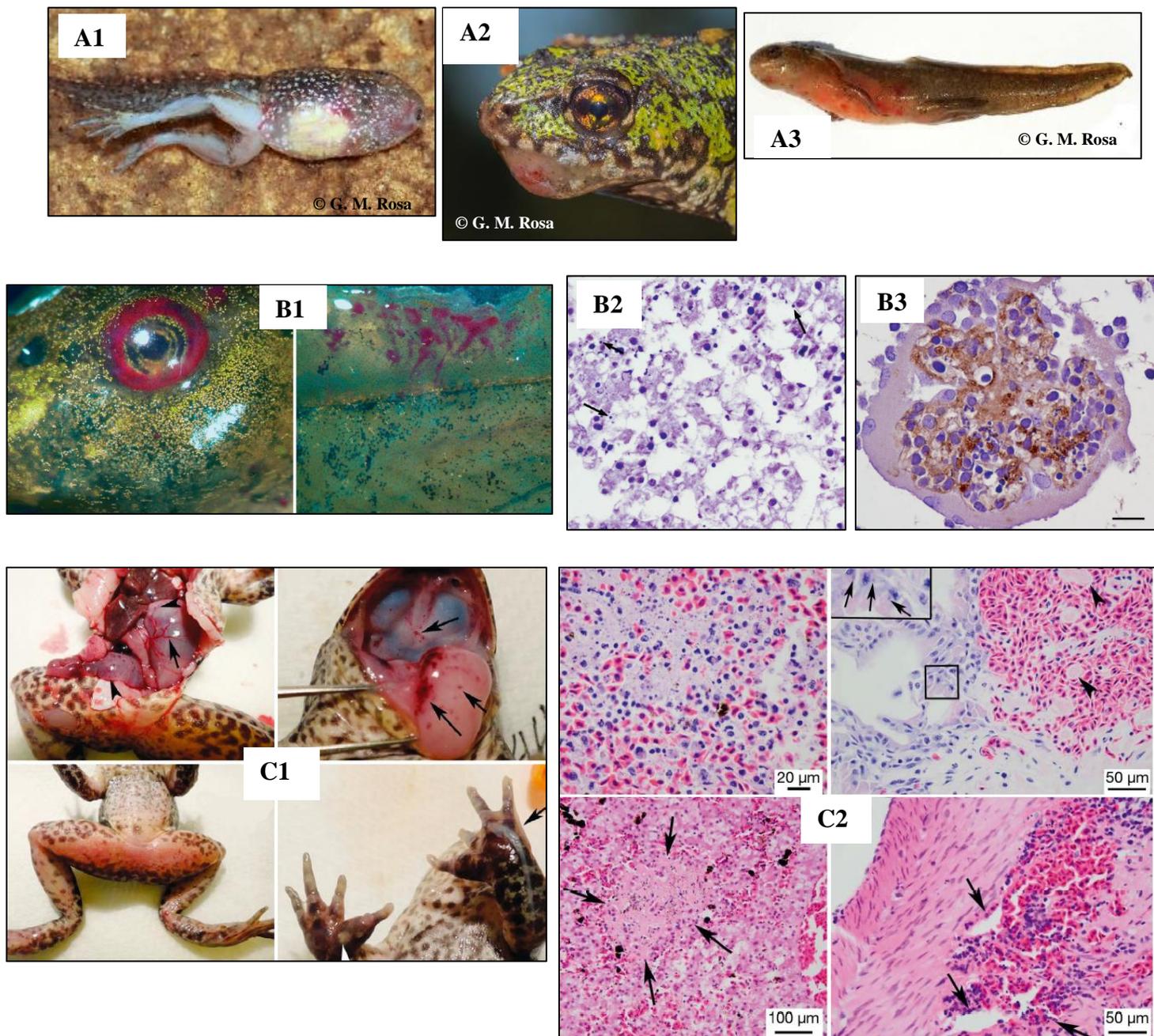
**B)** Discrimination des cas de ranavirose par le groupe atteint et l'espèce virale (données de **2017**)

(D'après Allain et Duffus, 2019 [A] & Price et al, 2017 – p. 3/8 [B])

Toutefois, la qPCR amplifiant les 530pb du gène MCP reste la technique de référence pour un diagnostic de ranavirose, notamment pour les acteurs de terrain, de par son caractère universel et son coût limité. Le protocole tenant lieu de référence se base sur l'analyse d'échantillon de foie d'amphibien (Miller et al. 2010; 2015). Bien que parfaitement adapté dans le cas d'animaux morts, ce protocole s'est révélé inadéquat pour des recherches de virus sur animaux vivants, par exemple dans le cadre d'une

surveillance de terrain ou pour des vérifications initiales du statut infectieux pour des études de laboratoire. C'est pour ces raisons que des protocoles de qPCR se basant sur des échantillons pouvant être prélevés sur animaux vivants ont été développés. Contrairement à la recherche de chytrides, les écouvillons cutanés se sont avérés non satisfaisants pour la recherche de ranavirus (Gray et al. 2012). Les seuls prélèvements ante-mortem offrant une bonne sensibilité et spécificité pour le diagnostic PCR de ranavirus sont les sections de doigt (adultes) ou de queue (têtards ou urodèles), avec des protocoles de prélèvement standardisés, sans effet sur le développement et la survie des individus (Othman et al. 2020). Dès 1996, la preuve de la détectabilité d'ADN avec de tels échantillons est faite (Gonser et al. 1996). Des études plus spécifiques aux ranavirus ont mis en évidence une sensibilité et une spécificité diagnostiques largement satisfaisantes (St-Amour et al. 2007; Greer et al. 2007; Gray et al. 2012), très proches des valeurs obtenues lors d'analyses de foie, sauf pour les infections récentes et/ou les animaux présentant une très faible charge virale (St-Amour et al. 2007; Greer et al. 2007).

Ces techniques d'analyse non létales permettent la surveillance de populations vis-à-vis du risque *Ranavirus* sans rajouter de poids aux effets de l'agent pathogène sur les populations. Néanmoins la capture et le prélèvement d'individus sauvages en nombre suffisant pour assurer une bonne représentativité de la surveillance est une limite majeure à la mise en place de réseaux de surveillance à grande échelle. Une alternative à ces méthodes pourrait être la détermination de points d'eau sentinelles (e.g. représentativité des espèces, regroupement des facteurs de risque) et l'analyse régulière de l'environnement à la recherche de contamination par le virus, en se basant sur l'analyse (q)PCR de l'ADN environnemental (e-DNA). En effet, cela constitue une alternative fiable à l'analyse individuelle (Hall et al. 2016; Miaud et al. 2019), à la fois en termes de précocité, de sensibilité et de spécificité diagnostiques. Toutefois ces techniques ne permettent pas une détermination de la prévalence de l'infection, ni une discrimination des espèces atteintes en cas d'assemblage multi-spécifique (Hall et al. 2016), mais elles restent un bon outil de dépistage pour la présence de ranavirus ainsi que d'autres agents pathogènes tels que les chytrides (Brannelly et al. 2020). Ces différents outils rendent la surveillance des populations d'amphibiens vis-à-vis des agents pathogènes possible à grande échelle, malgré des moyens humains et financiers limités.



**Figure 6 : Lésions résultantes de l'infection d'amphibiens par des ranavirus**

**A.** Ranavirose chez trois espèces, Serra da Estrela (Portugal), d'après Rosa et al. 2017.

**A1-** Larve d'*Alytes obstetricans* morte avec hémorragies et œdème généralisé / **A2-** Adulte vivant de *Triturus marmoratus* présentant des ulcérations cutanées / **A3-** Larve de *Lissotriton boscai* avec des hémorragies et des ulcérations cutanées

**B.** Lésions de ranavirose chez un individu *A. obstetricans*, d'après (Balseiro et al. 2009).

**B1-** Lésions macroscopiques : hémorragies périoculaire et cutanées / **B2-** Lésions macroscopiques : nécrose focale d'hépatocytes avec inclusions virales (flèches noires). Echelle = 50 µm / **B3-** glomérule rénale positif antigènes ranavirus. Echelle = 20 µm

**C.** Lésions chez un adulte *Lithobates sevosus* infecté, d'après (Sutton et al. 2014).

**C1-** Lésions macroscopiques : congestion vasculaire, pétéchies, hémorragies, érythème et œdème / **C2-** Lésions macroscopiques : nécrose splénique diffuse (haut gauche), hémorragies musculaires (haut droit), rares nécroses hépatiques (bas gauche), nécroses (péri-)vasculaires (bas droit)

## **B. Les chytrides et autres agents pathogènes des amphibiens**

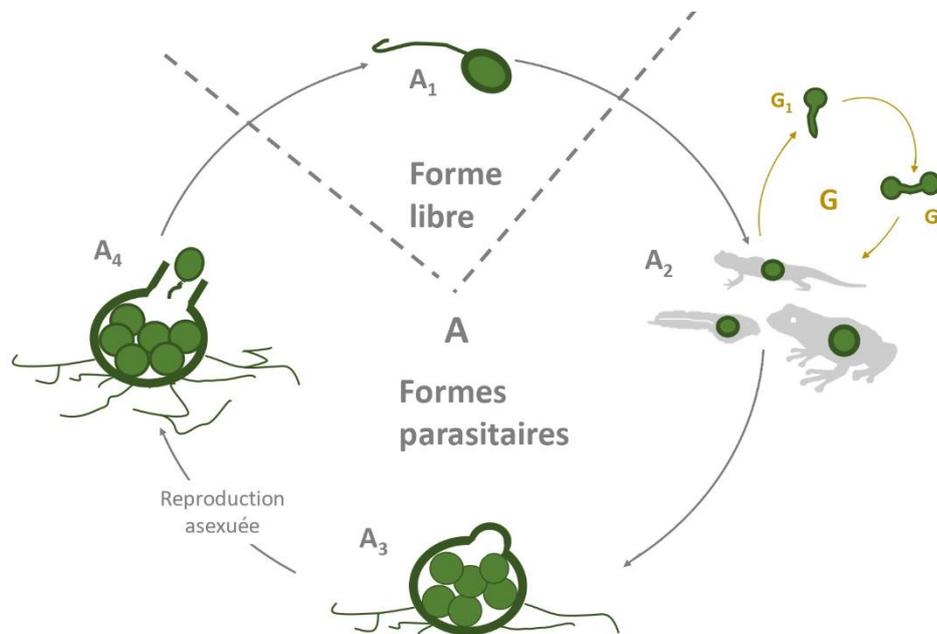
### **1. Les chytrides**

Les ranavirus ne sont pas les seuls agents de maladies infectieuses émergentes en cause dans le déclin des amphibiens. Deux autres agents pathogènes, des champignons de la classe des *Chytridiomycetes* et de la famille des chytrides, *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd) et *B. salamandrivorans* (Bsal) sont considérés comme des menaces majeurs pour les populations d'amphibiens (fig. 8). Depuis le début des années 2000 pour le premier (Rachowicz et al. 2006) et depuis sa description en 2013 pour le second (Martel et al. 2013). *Bd* est l'agent pathogène responsable du plus grand déclin de vertébrés identifié à nos jours (Skerratt et al. 2007; Scheele et al. 2019).

En effet, bien que décrit plus récemment que les ranavirus (Berger et al. 1998; Longcore et al. 1999), *Bd* a rapidement été mis en cause dans des événements de mortalité massive et de déclin des amphibiens (Collins et al. 2003) et a été étudié largement depuis plus de vingt ans (Cunningham 2018). De par son affiliation à *Bd* et les événements de mortalité dont il était responsable sur des salamandres (*Salamandra salamandra*) (Martel et al. 2013). *Bsal* a quant à lui immédiatement été considéré comme une cause possible de déclin à venir des urodèles (Catenazzi 2015). De nombreuses études, ainsi que des campagnes internationales de détection dans les populations sauvages ont été menées afin de déterminer au mieux les distributions et les prévalences de cet agent pathogène (e.g. le programme « Mitigating *Batrachochytrium salamandrivorans* in Europe », <http://bsaleurope.com/> ).

Bien que décrit au cours des dernières décennies, les chytrides sont apparus il y a des milliers d'années, vraisemblablement en Asie (Scheele et al. 2019), où on les retrouve encore aujourd'hui sans qu'ils ne soient associées à de la mortalité massive ni à des déclins de population (Catenazzi 2015). Leur description a fait suite à des événements de mortalité massive en Australie (Berger et al. 1998), probablement suite à leur introduction dans des populations naïves, dans une zone où ils étaient jusque-là absents (Scheele et al. 2019). Toutefois de nombreux éléments de la dispersion de *Bd* sont encore inconnus.

*Bd* et *Bsal* sont les seuls représentants du genre *Batrachochytrium* et présente un cycle de reproduction asexuée (Catenazzi 2015) similaire (fig. 7), comprenant une forme libre infectieuse (zoospore flagellé) qui s'enkyste dans la peau d'un amphibien et produit un sporangium qui, par reproduction asexuée, va produire et libérer des zoospores dans l'environnement. Il est également intéressant de noter que *Bsal* est capable de reproduction plus rapide via des tubes de germination.



**Figure 7** : Cycle de vie des chytrides du genre *Batrachochytrium*.

Le cycle **A** représente le cycle de reproduction asexuée, commun à *Bsal* et *Bd* : **A1** zoospore flagellé libre dans le milieu et infectieux ; **A2** Zoospore enkystée dans la peau d'un amphibien ; **A3** zoosporangium immature ; **A4** zoosporangium mature libérant les zoospores dans l'environnement.

Le cycle G représente un cycle secondaire spécifique de *Bsal*, de multiplication à l'aide de tubes de germination.

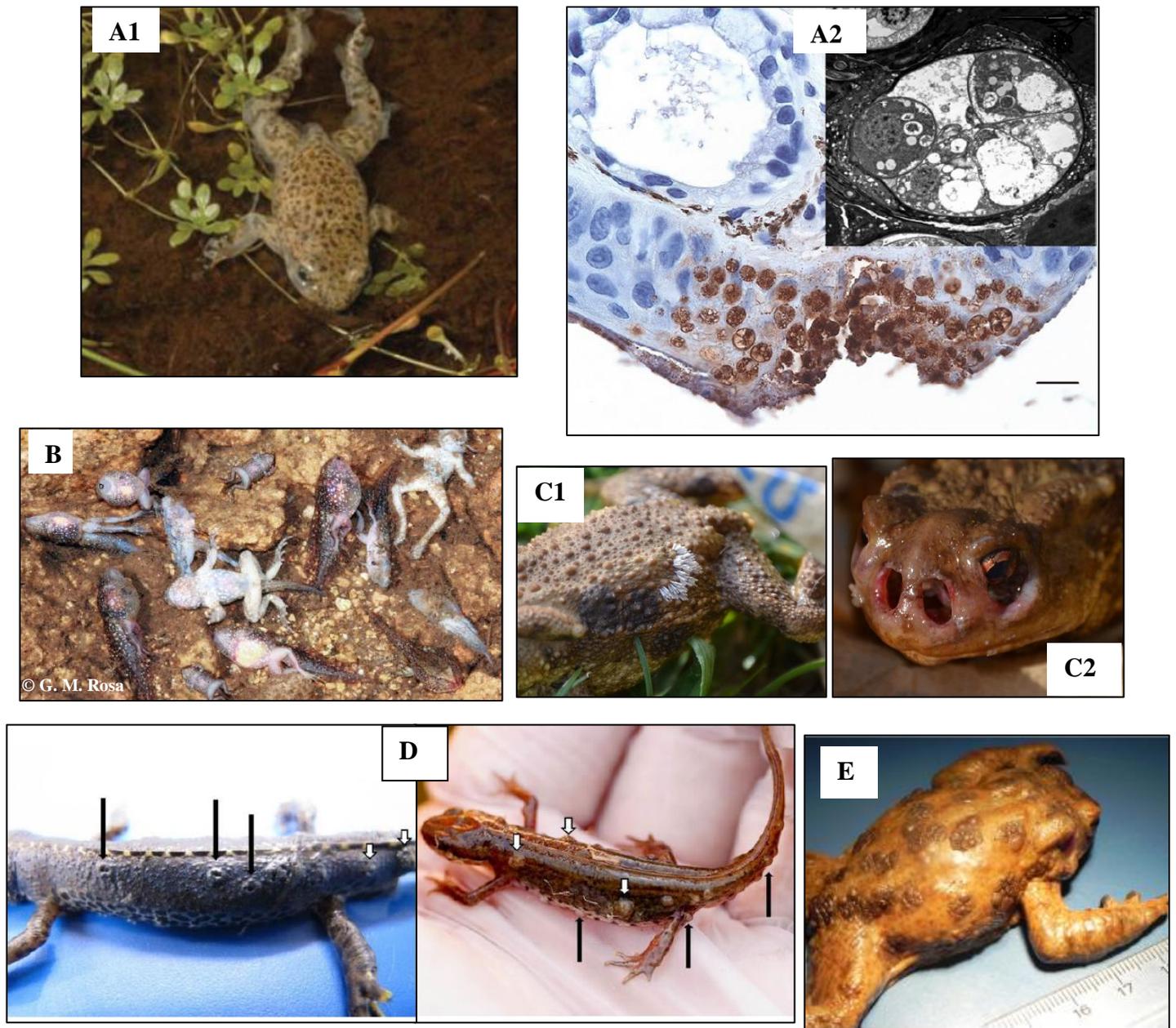
Aujourd'hui *Bd* est présent sur tous les continents abritant des amphibiens et infecte plus d'une centaine d'espèces (Scheele et al. 2019), anoures et urodèles confondus (Vetter et al. 2020). L'expansion mondiale rapide de cet agent pathogène, résulte de l'introduction du champignon dans de nouvelles zones (favorisé par le commerce et les activités anthropiques) couplée à sa capacité à infecter une grande variété d'amphibiens. Certaines espèces peu susceptibles servent de réservoir (Reeder et al. 2012) là où d'autres espèces connaissent des déclin importants voire sont conduites à l'extinction. Le fait que la présence du champignon puisse entraîner l'extinction d'une espèce, est rendu possible par la

persistance du chytride dans l'environnement (notamment dans l'eau) (Mitchell et al. 2008). De plus, bien que le champignon soit confiné à la peau des amphibiens, l'altération et la colonisation de cette dernière entraîne des modifications importantes dans les échanges gazeux et électrolytiques, qui conduisent à une dérégulation homéostatique (Voyles et al. 2009) puis à la mort de l'hôte.

## 2. Les maladies des amphibiens : un domaine en évolution

Il est important de noter que l'investigation des maladies des amphibiens est un champs de recherche relativement récent, et en évolution constante (Wirth et al. 2021). Les ranavirus et les chytrides, continuent de faire l'objet de nombreuses recherches (Campbell et al. 2020; Castro Monzon et al. 2020) et continuent d'être retrouvés chez de nouvelles espèces et dans de nouvelles zones géographiques (Park et al. 2021). Par ailleurs, de nouveaux agents pathogènes des amphibiens sont découverts de nos jours (fig. 8), et il est possible que dans les années à venir, certains soient identifiés comme des causes de déclin des populations, tels que des virus du genre *Batrachovirus* (F/ *Herpesvirus*) par exemple (Licheri et al. 2020), des protistes du groupe des *Perkinsea* (Chambouvet et al. 2015), ou encore des parasites des genre *Amphibiocystidium* et apparentés (Garden Wildlife Health fact sheet, updated 2020, <https://www.gardenwildlifehealth.org/portfolio/dermocystid-parasites-in-amphibians-2/>), ou encore des pontes de *Lucilia bufonivora*.

L'importance des maladies infectieuses émergentes dans le déclin des population d'amphibiens est magnifiée par deux phénomènes : (i) Les agents pathogènes ont été, et continuent d'être, introduits dans des populations naïves et susceptibles, souvent par des actions anthropiques (par exemple via l'introduction d'espèce exotique) (Cunningham et al. 2003; Scheele et al. 2019), (ii) ils agissent en synergie avec d'autres agents pathogènes ou d'autres causes de déclin à l'échelle des populations (Rosa et al. 2017).



**Figure 8 :** Lésions résultantes de l'infection d'amphibiens par différents pathogènes

**A.** Chytridiomycose à Bd et Bsal, d'après Fisher et al. 2009 & Martel et al. 2013

**A1-** Adulte *Alytes obstetricans* mort des suites d'infection par Bd, Pyrénées espagnoles / **A2-** Colonisation du derme par des thalli de Bsal chez un adulte *Salamandra salamandra* (immunohistochimie). Echelle 20µm

**B.** Mortalité massive d'individus *Bufo spinosus* et *Alytes obstetricans* co-infectés par des ranavirus et Bd, Serra de Estrela, Portugal, d'après Rosa et al. 2017

**C.** Lésions provoquées par *Lucilia bufonivora* chez un adulte vivant *B. spinosus*, signalé sur Alerte-amphibien.

**C1-**Présence d'une ponte accrochée sur le flanc de l'animal / **C2-** destruction des tissus des narines et de la face par des larves de Lucilia

**D.** Lésions (vésicules et ulcères) provoquées par *Amphibocystidium* chez des tritons adultes, d'après Garden Wildlife Health fact sheet (2020).

**E.** Lésions d'herpesvirose (Bufonid herpesvirus1) chez un adulte *Bufo bufo*, d'après Origgi et al. 2018

### **C. Parcs nationaux français métropolitains et surveillance sanitaire des amphibiens**



**Figure 9** : Répartition des parcs nationaux en France métropolitaine.

Les 8 PN métropolitains sont représentés. Seuls les PN de montagne sont nommés  
(Adapté d'après la carte disponible sur le portail des parcs nationaux, consulté le 13/08/21,  
<http://www.parcsnationaux.fr/fr/portail-des-parcs-nationaux-de-france/les-parcs-nationaux-de-france-et-loffice-francais-de-la>)

Les différentes structures ayant pour mission la conservation des populations de faune sauvage, tel que les PN français (fig. 9), sont des acteurs pouvant jouer un rôle majeur dans la surveillance des amphibiens. En effet les amphibiens sont des sentinelles de la santé des écosystèmes (Wake et al. 2008) et de ce fait le suivi de leurs populations constitue un outil important du suivi de la santé globale des écosystèmes et des nombreuses menaces auxquelles ils font face (e.g. perte d'habitat, polluant, réchauffement global). De plus, les amphibiens constituent une grande part de la biodiversité mondiale et de ce seul fait leur préservation est un enjeu. Cela passe notamment par la compréhension et la surveillance des agents pathogènes causant leur déclin. Pour améliorer cette compréhension et notre connaissance de ces différents agents pathogènes émergents (e.g. *Ranavirus*, *Bd*, *Bsal*, *Batrachovirus*), il est possible d'utiliser différents modèles épidémiologiques. Cependant ces derniers nécessitent d'être correctement paramétrés, ce qui requiert de nombreuses données (Campbell et al. 2020), collectées idéalement sur le long terme (Teacher et al. 2010). De par leur nature et leurs attributions, les PN occupent théoriquement une place idéale pour fournir de telles données.

Par ailleurs, trois de ces agents pathogènes (*Ranavirus*, *Bd*, *Bsal*) étant sur la liste des maladies notifiables de l'OIE, une surveillance effective et efficace est nécessaire

pour prétendre à un statut indemne vis-à-vis de l'un ou l'autre de ces agents pathogènes (Schloegel et al. 2010). Bien qu'aujourd'hui *Bd* et des ranavirus soient présents en France (Millerioux et al. 2012; Miaud 2013; Miaud et al. 2016), ce n'est pas le cas de *Bsal* (European commission 2021, Miaud *com. pers.*) pour lequel l'existence d'un réseau de surveillance effectif est nécessaire pour une détection précoce en cas d'introduction (Dalibard et al. 2020, p19).

En France, suite à la détection de *Bd* en métropole en 2006 (Miaud 2013) et dès la première détection de ranavirus chez des crapauds communs (*Bufo bufo*) en 2011 (Millerioux et al. 2012), les agents des parcs nationaux ont été sensibilisés vis-à-vis de la mortalité massive d'amphibiens et de la nécessité de surveiller la circulation d'agents pathogènes émergents chez les amphibiens (Miaud et Durand, *com. pers.*). Les premiers cas de ranavirose sont détectés à l'été 2012 dans le parc du Mercantour suite à des épisodes de mortalité massive de grenouilles rousses (*Rana temporaria*), têtards et adultes (Miaud et al. 2016). De l'ADN de ranavirus est de nouveau identifié par PCR chez des adultes *R. temporaria* en mai 2013, mais sans mortalité associée. Dans les deux cas le virus isolé était le CMTV. A l'issue de ces deux phases de détection du virus, une expérience d'infection expérimentale a permis de compléter les postulats de Koch et de relier les évènements de mortalité massive observés à des ranavirus (Miaud et al. 2016). Depuis, des ranavirus ont été identifiés dans différents parcs français (e.g. PN de la Vanoise, PN des Pyrénées, PNR Haut-Jura) ainsi qu'en dehors de zones protégées (Miaud, *com. pers.*).

Pour assurer cette surveillance, les PN possèdent tous une veille sanitaire qui comprend une surveillance et une investigation des évènements de mortalité massive d'amphibiens (Hadibi et al. 2019). Certains parcs ont en plus mis en place des protocoles de surveillance des amphibiens complémentaires comme le PN du Mercantour qui a mis en place, dès 2014 un protocole de surveillance de la mortalité individuelle de grenouilles rousses (Leccia et Miaud, *com. pers.*). Toutefois, bien que la surveillance épidémiologique des populations sauvages soit un facteur clé dans les politiques de préservation de la biodiversité, leur mise en place et leur maintien sur le long terme représentent un coût important. En effet ces coûts (économique, humain, voire social) de la surveillance sont à prendre en compte lors de l'évaluation des conséquences totales des maladies (Osofsky 2019). Il est donc essentiel que cette surveillance soit la plus efficiente possible, ce qui passe par l'évaluation du système

de surveillance et la mise en place de corrections et modifications basées sur les retours des évaluations.

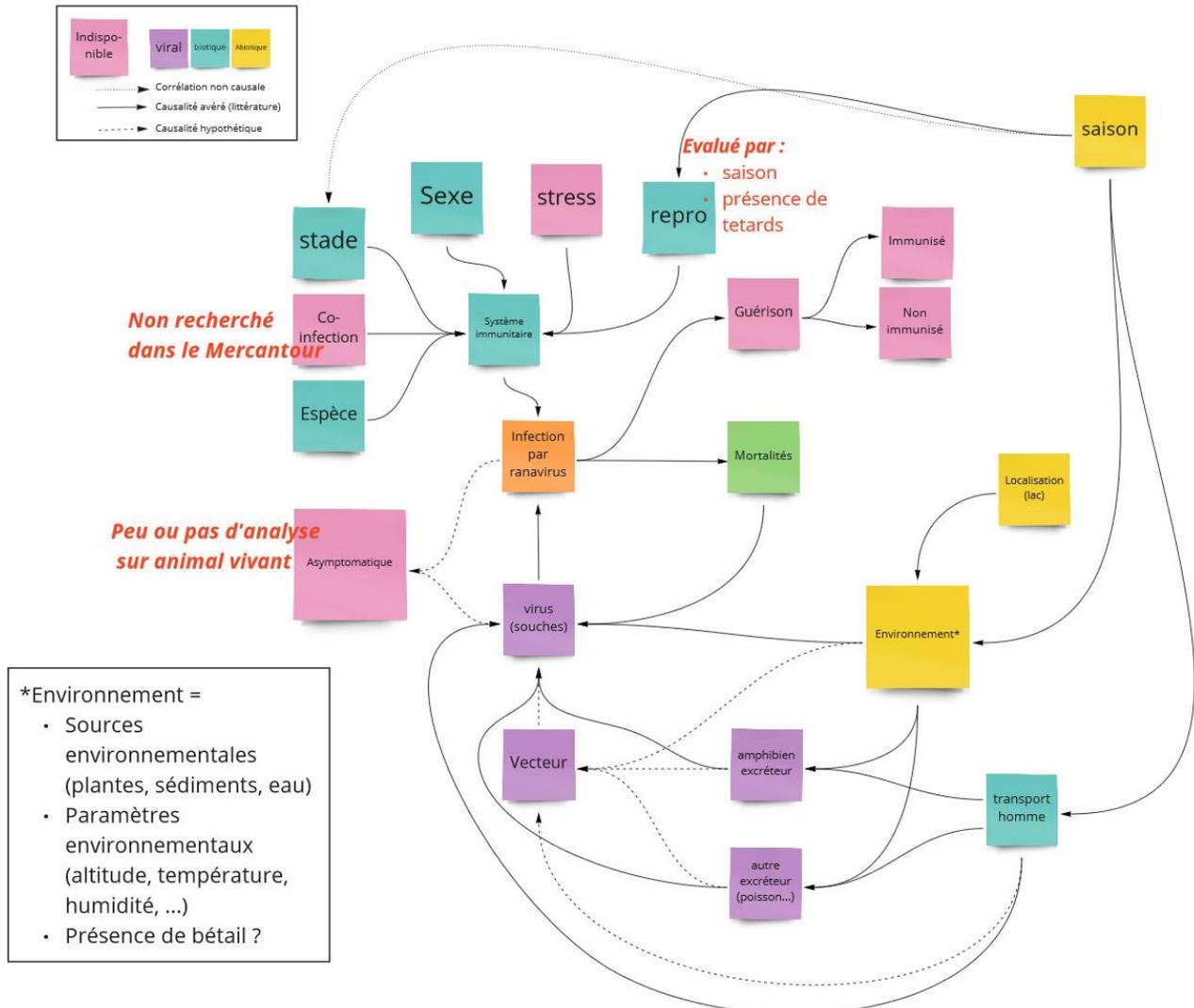
Cette démarche d'amélioration de la surveillance a été initiée il y a plusieurs années dans les PN avec la création d'une stratégie sanitaire pour la faune sauvage commune aux parcs (Parcs nationaux 2017; VetAgro Sup et al. 2017), et s'est poursuivie par l'évaluation initiale de cette stratégie en 2019 (Hadibi et al. 2019). Bien que cela constitue un début, de nombreuses étapes restent à mettre en place avec notamment l'évaluation de la surveillance dans chaque parc, mais aussi avec l'évaluation spécifique de chaque surveillance (e.g. amphibiens, mammifères, chiroptères, maladies particulières). Ces évaluations de la surveillance épidémiologiques peuvent notamment être réalisées à l'aide de la méthode OASIS (Boué et al. 2010; Plateforme ESA 2010), qui consiste en une évaluation semi-quantitative (G.T. ANSES 2011) pour déterminer les points forts et les points faibles du système et fournir des recommandations pour son amélioration. Idéalement les évaluations externes sont à répéter régulièrement, et à compléter par des évaluations internes, afin d'ajuster au mieux la surveillance aux objectifs et au contexte. De plus une évaluation d'efficacité économique de la surveillance est à inclure pour compléter la démarche (Calba et al. 2015).

## **II. Analyse des facteurs de risque d'infection de grenouilles rousses (*Rana temporaria*) par un ranavirus, Parc National du Mercantour**

### **A. Contexte**

L'objectif de cette partie était d'identifier les facteurs de risque associés à une augmentation d'infection par des ranavirus. L'étude s'est focalisée sur les populations de grenouilles rousses (*Rana temporaria*) du PN du Mercantour. Ces populations présentent le double avantage d'être abondantes et facilement observables, ce qui rend notamment les évènements de mortalité plus facilement détectables. Leur détection est réalisée par les agents de terrain du parc, qui au cours de leurs tournées quotidiennes inspectent les points d'eau à la recherche de cadavres de grenouilles (dans l'eau ou sur les berges). En plus de la surveillance par les agents, les épisodes de mortalité peuvent également être signalés au parc par les usagers (e.g. promeneurs, pêcheurs).

La variable à expliquer considérée dans cette étude était donc l'infection par un ranavirus (approximé par un résultat positif de détection par PCR, d'après le protocole précisé après). Les hypothèses initiales étaient un effet du stade de développement de l'hôte, ainsi qu'un effet négatif des températures élevées et des activités humaines (pêche, tourisme, élevage) sur le risque d'infection. Une corrélation du risque d'infection par des ranavirus au site de collecte (avec des zones infectées de façon persistante et/ou récurrente) et un rôle de la composition de l'écosystème local, notamment la présence d'autres espèces hôtes (poissons e.g.), étaient également supposés (fig. 10).



**Figure 10** : Arbre causal hypothétique des infections d'amphibiens par des ranavirus, PNM.

## B. Matériels et méthodes

### 1. Les données

Les prélèvements d'échantillons de grenouilles rousses ont été réalisés selon deux protocoles distincts sur le site du Parc National du Mercantour entre 2011 et 2018 (tableau 2). Le premier protocole est celui de la surveillance de la mortalité des amphibiens par les agents du PNM, actuellement en cours mais dont la période d'inclusion à l'étude s'étend de 2011 à la fin de la saison d'activité 2018. Le second protocole est celui de l'étude menée par C. Miaud et son équipe sur le site du PNM en 2016 (Miaud et al. 2019). Le statut infectieux ranavirus de chaque individu a ensuite été évalué par une analyse de laboratoire (Culture cellulaire ou qPCR).

**Tableau 2 :** Principales caractéristiques des protocoles de collecte utilisés pour la détection de ranavirus chez des grenouilles rousses (*Rana temporaria*) dans le PN du Mercantour.

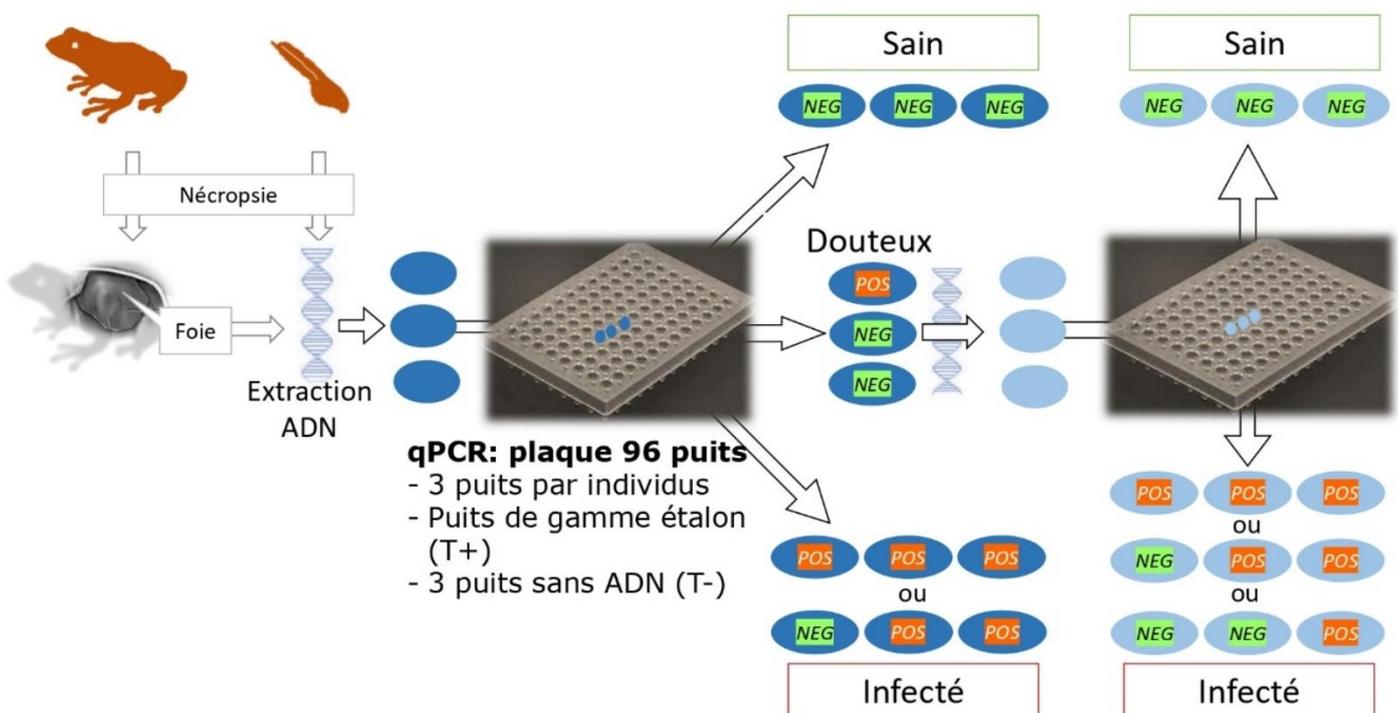
	Protocole de surveillance PNM	Protocole de C. Miaud 2016
Points communs	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Réalisé sur le site du PNM</li> <li>- Amphibiens collectés : <i>Rana temporaria</i></li> <li>- Recherche systématique de ranavirus</li> <li>- Informations : sexe, stade de développement, localisation, date</li> </ul>	
Différences	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Surveillance événementielle</li> <li>- Continu de 2011 à aujourd’hui</li> <li>- Ensemble des lacs</li> <li>- Effort d’échantillonnage faible à modéré</li> <li>- Individus morts seulement</li> <li>- Analyse PCR seulement sur organes internes</li> <li>- Analyse en culture cellulaire avant 2016</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Protocole de recherche</li> <li>- Ponctuel durant l’été 2016</li> <li>- 3 lacs : Balaour, Merveilles et Prals</li> <li>- Effort d’échantillonnage intense</li> <li>- Individus morts ou vivants</li> <li>- Analyse PCR sur organes internes ou sections de doigt/queue (clips)</li> <li>- Prélèvements et analyses de poissons</li> </ul>

Les analyses pour la recherche de ranavirus sur les échantillons ont été réalisées au LDA39 par culture cellulaire pour les échantillons collectés de 2011 à 2015. A partir de 2016, les échantillons ont été analysés par qPCR au CEFÉ par amplification de la séquence incomplète (530 pb) du gène codant pour la protéine majeure de capsid, comme décrit dans Miaud et al. (2019). Les analyses ont été réalisées sur ADN extrait à partir de prélèvements de foie ou sections de doigt ou de queue. Chaque échantillon a été analysé en tripliquât (fig. 11), avec une règle de décision pour statuer du caractère sain ou infecté similaire à celle utilisée dans d’autres études (Hall et al. 2016), à savoir que les échantillons avec seulement un puit positif sur trois faisaient l’objet d’une deuxième analyse en tripliquât.

Les 4 catégories de facteurs de risque suspectées (caractéristiques de l’hôte, site de collecte, activité humaine et composition de l’écosystème), ainsi que la température et la date de prélèvement ont été explorées à travers 16 variables disponibles pour les sites et périodes de prélèvements (tab. 3). De plus 3 facteurs de biais pré-analytique ont été testés pour déterminer leur effet et le prendre en compte dans l’interprétation des résultats et pour des analyses futures (tab. 3). Les populations étudiées étant actives seulement de mai à octobre, la saisonnalité n’est pas un facteur pertinent dans notre étude et n’a donc pas été incluse. Par ailleurs l’espèce, bien que

pertinente vis-à-vis du risque infectieux, n'a pas pu être testée car une seule espèce a fait l'objet d'analyses.

L'effet de la localisation a été testé visuellement à l'aide de cartes successives dans le temps montrant les résultats d'analyse par localisation (annexe 1). Aucun patron spatio-temporel n'ayant été détecté (autre qu'un effort d'échantillonnage croissant), les modèles statistiques utilisés n'ont pas été spatialisés par souci de simplification. Toutefois un effet aléatoire de la localisation a été inclus dans les modèles mixtes pour l'analyse des autres variables afin de prendre en compte la répétition de certains sites de façon non aléatoire (e.g. lac Balaour Gouille).



**Figure 11** : Protocole d'analyse PCR de recherche de ranavirus à partir d'échantillons de grenouilles rousses.

Les ronds bleus symbolisent les trois puits d'un tripliquât. Le résultat de l'analyse PCR est représenté par les annotations POS et NEG, NEG correspondant à un puits sans amplification d'ADN de ranavirus.

**Tableau 3 :** Variables recensées comme potentiels facteurs de risque d'infection de grenouilles rousSES par des ranavirus dans le PNM.

Les variables marquées d'une \* sont testées comme possibles biais pré-analytiques. Les données des recensements de la flore et des invertébrés étaient trop parcellaires pour être incluses dans l'analyse.

Variable	Modalités	Origine des données	Catégorie de facteurs de risque
<b>Stade</b>	Têtard ou métamorphosé	Fiche collecte (annexe 2)	Hôte (espèce, stade, ...)
<b>Sexe</b>	Male, femelle ou inconnu		
<b>Température mensuelle de l'air</b>	°C (Correction : -0.65°C par 100m d'altitude).	MétéoFrance SYNOP, moyenne des stations Embrun et Nice.	Température
<b>Type de lac</b>	Naturel, artificiel, surélevé	Fiches lac PNM (arrêt de mise à jour en 2014)	Site de collecte
<b>Volume du lac</b>	En m <sup>3</sup> (0 si loin d'un point eau) – Calculé à partir de la surface et de la profondeur maximale du lac		
<b>Gel complet</b>	Possible ou non		
<b>Assèchement</b>	Possible ou non		
<b>Date de collecte</b>	En jours juliens depuis le 01/05/11 (première observation le 09/05/11)	Fiche collecte (annexe 2)	Date
<b>Usage du lac</b>	Baignade et/ou pêche, aucun	Fiches lac PNM (arrêt de mise à jour en 2014)	Activité humaines
<b>Fréquentation du lac</b>	<10pers/j, >10pers/j		
<b>Accessibilité au lac</b>	4 modalités en fonction du dénivelé et de la durée de marche		
<b>Pastoralisme</b>	Activité pastorale sur site ou non	Suivi PNM à jour 2021	Composition de l'écosystème local
<b>Alevinage</b>	Alevinage l'année (n et/ou n-1) du prélèvement ou non		
<b>Vairons</b>	Présence / absence		
<b>Autres poissons</b>	Présence / absence		
<b>Etat de collecte *</b>	Mort ou vivant	Fiche de collecte	<i>Biais pré-analytiques</i>
<b>Organe analysé *</b>	Foie, section doigt, autre organe		
<b>Délai d'analyse *</b>	Jours (entre prélèvement et analyse)		

## 2. Analyses statistiques

Les analyses statistiques et modélisations ont toutes été réalisées à l'aide du logiciel R (R Core Team 2019, version 3.6.2), et les analyses SIG ont été réalisées à l'aide de QGIS - Coruña (version 3.10.12). Les packages R principalement utilisés sont *lme4* (Bates & Maechler, 2020) pour les analyses en modèles mixtes, et le package *stats* par défaut (R Core Team, 2019) pour les tests de Kruskal-Wallis (*kruskal.test*) et de Kendall (*cor.test(method="kendall")*).

Une analyse structurelle du jeu de données a été conduite en évaluant pour chacune des 19 variables (16 + 3 pré-analytiques) la proportion de données manquantes. De plus pour les variables catégorielles, la proportion d'observations pour la modalité la plus représentée a été évaluée. Les variables catégorielles ont ensuite été réparties selon trois groupes (1 à 3) et les variables continues selon deux groupes (1 et 3) :

- Groupe 1 : Variables avec <40% de données manquantes et pour les facteurs >10 observations pour chaque catégorie
- Groupe 2 : Facteurs avec <40% de données manquantes et au moins une catégorie <10 observations
- Groupe 3 : Variables avec > 40% de données manquantes et/ou <10 pour une majorité de catégorie pour les facteurs

Dans un second temps, une étude du rôle des différentes variables sur le statut infectieux a été menée. La variable d'intérêt était le statut infectieux ranavirus, un résultat d'analyse positif (1) étant considéré comme une infection par un ranavirus et un résultat négatif (0) comme un animal indemne.

Les relations de colinéarité entre les variables (tab. 3, Annexe 3) ont été testées à l'aide d'un test de corrélation de Kendall ( $\alpha=0,05$ ) dans le cas de deux variables continues, ou à l'aide d'un test de Kruskal-Wallis ( $\alpha=0,05$ ) dans les autres cas.

L'effet des trois potentiels biais pré-analytiques (marqués par une \* dans le tableau 3) sur le résultat d'analyse (utilisé comme proxy du statut infectieux) a été analysé à l'aide de modèles linéaires généralisés mixtes (fonction de lien logistique), comprenant un à un les biais potentiels en effets fixes et la localisation en effet aléatoire. De plus l'ensemble des variables des catégories 1 et 2 présentées ci-dessus (fig.12) ont été testées une à une à l'aide de modèles mixtes univariés (effet aléatoire

de la localisation et effet fixe de la variable à tester) avec comme variable à expliquer le résultat d'analyse ranavirus.

Parmi les variables avec un effet significatif en analyse univariée ( $\alpha=0,2$ ), les variables non colinéaires entre elles ont été incluses dans un modèle linéaire généralisé à effet mixte (fonction de lien logistique), avec pour modèle nul un modèle incluant un effet aléatoire de la localisation du prélèvement. Cet effet aléatoire de la localisation a été inclus afin de tenir compte de l'inégale répartition entre les différents lieux de collecte, et du caractère non aléatoire de la sélection des lieux notamment du fait de la coexistence des deux protocoles.

Une sélection descendante a ensuite été réalisée à partir de ce modèle pour sélectionner le modèle le plus parcimonieux expliquant le statut infectieux des grenouilles. La sélection a été faite à l'aide du test de rapport de vraisemblance, basée sur l'AIC (*anova(test="LRT")*, *package stats*, *R Core Team 2019*).

Les possibles effets d'interaction entre variables n'ont pas pu être testés, dû à un problème de convergence des modèles résultant d'un trop faible nombre d'observations.

La non multi-colinéarité des variables explicatives a été vérifiée à l'aide du Variance Inflation Factor (fonction « vif » package « car » - Fox & Weisberg 2019). Le cas échéant les variables présentant un VIF > 5 (Kim 2019; Sarkar et al. 2019) ont été exclues. Enfin les conditions de validité de la régression logistique mixte ont été vérifiées (indépendance, non-multicolinéarité en additif, absence de valeurs extrêmes influentes, résidus standards inférieurs à 3).

### **C. Résultats**

Plusieurs variables présentaient une large proportion de données manquantes et/ou peu de variabilité (*ie* sur-représentation d'une modalité) (fig. 12).

A titre d'exemple, 99 observations de la variable « type de lac » correspondent à la modalité majoritaire « naturel », tandis que la totalité des autres modalités représente seulement 19 observations, et que 3 observations sont manquantes. Il s'agit donc d'une **variable peu pertinente** car très homogène, 80% des lacs étant « naturels ».

L'analyse de facteurs de biais pré-analytiques a mis en évidence une corrélation entre le type d'organe et l'état de collecte, ainsi qu'entre le type d'organe et le délai d'analyse. Par ailleurs, seul le type d'organe présente un effet statistiquement significatif sur le résultat d'analyse ( $p= 0,003$ , avec moins de positifs pour des analyses de sections de doigt par rapport aux analyses de foie). Toutefois les individus pour lesquels l'analyse a été faite sur section de doigt proviennent tous de l'étude de Miaud et al. (2019), et de deux lacs (4 du lac de Prals Ouest et 20 de la Gouille Balaour).

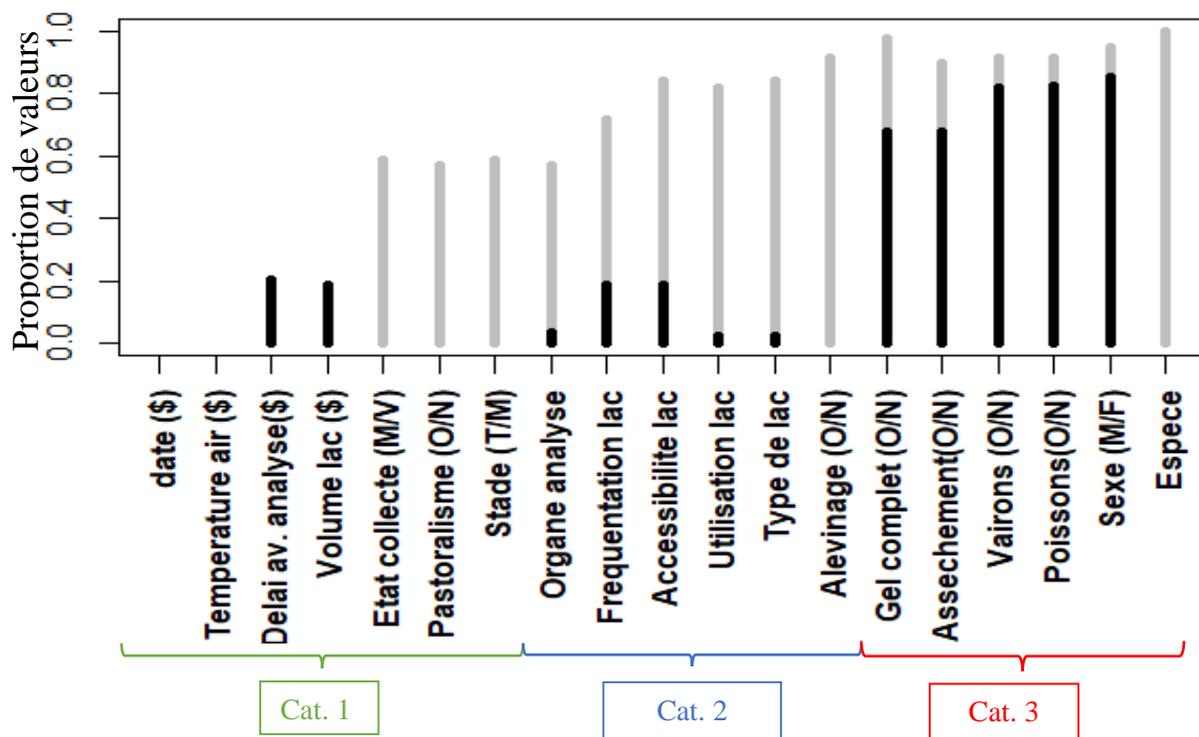


Figure 12 : Structure des données pour les variables d'intérêt.

En noir la proportion de données manquantes et en gris la proportion d'observations correspondantes à la modalité la plus représentée pour chacune des variables catégorielles (les variables continues ne présentent pas de modalité et sont repérées par le symbole \$).

Les 19 variables étudiées ont été classées selon les trois groupes présentés précédemment :

- Groupe 1 - Variables avec des données compatibles avec l'analyse et pertinentes
- Groupe 2 - Variables très homogènes sur notre site
- Groupe 3 - Variables avec des données incompatibles avec l'analyse

La température présente un effet significatif en test univarié (modèle T,  $p<0,001$ ). Toutefois l'inclusion de la variable au modèle complet entraîne une non convergence du modèle (probablement du fait du nombre limité d'observations). La variable de température a donc été catégorisée pour être incluse. La nouvelle variable

de température comporte deux catégories avec pour valeur seuil la médiane des températures observées (10,5°C). Une nouvelle analyse univariée a été réalisée pour vérifier la persistance de l'effet significatif ( $p=0,001$ ).

**(T) Infection ~ 1|localisation + température**

Les autres variables sélectionnées après analyse univariée sont l'organe support de l'analyse ( $p<0,05$ ), l'état de collecte ( $p=0,15$ ), le stade de développement de l'amphibien ( $p=0,18$ ) et le pastoralisme ( $p=0,19$ ). On obtient donc le modèle complet (1) avant vérification des colinéarités entre variables

$$\text{(1) Infection} \sim (1|\text{Localisation}) + \text{Température}_{\text{cat}} \\ + \text{pastoralisme} + \text{Stade} + \text{Organe} + \text{Etat}$$

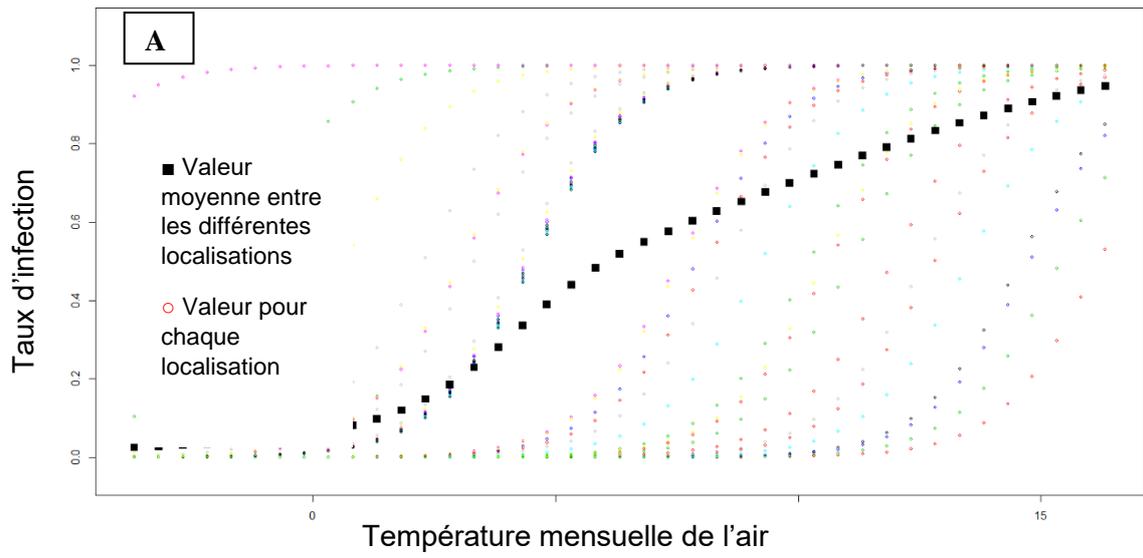
A la suite des tests de colinéarité entre variables explicatives (Annexe 3), on observe une corrélation du type d'organe analysé avec la température, l'état de collecte et le stade de développement. De plus on observe une corrélation du pastoralisme avec le stade de développement et l'état de collecte. Ces observations ont conduit au modèle complet (2), à partir duquel est réalisée la sélection descendante :

$$\text{(2) Infection} \sim (1|\text{Localisation}) + \text{Température}_{\text{cat}} + \text{Stade} + \text{Etat}$$

La sélection descendante de modèle a ensuite conduit au modèle (3) le plus parcimonieux (LRT,  $p=0.01$ ,  $\Delta\text{AIC}>4$ ) :

$$\text{(3) Infection} \sim (1|\text{Localisation}) + \text{Température}_{\text{cat}} + \text{Etat}$$

Ces différents modèles ont permis de mettre en évidence l'effet statistiquement significatif d'une seule variable, la température ( $p<0.001$ ) sur le statut infectieux, une température plus élevée étant associée à un risque supérieur d'infection (fig. 13).



**Figure 13 :** Variation du taux d'infection des grenouilles rousses par des ranavirus dans le PNM en fonction de la température

## **D. Discussion**

### *1. Qualité des données*

Les données analysées présentent un caractère très parcellaire pour un grand nombre de variables (fig. 12), et de nombreuses variables disponibles proviennent d'études ponctuelles et/ou d'observations conduites au cours des années 2000, soit plus de 10 ans avant les premiers prélèvements. Ceci limite la faisabilité et la fiabilité de l'analyse de certains facteurs de risque potentiels. Ce n'est toutefois pas le cas pour les variables utilisées qui ont été actualisées récemment (ex. Alevinage), sont inchangées depuis leur collecte (ex. type de lac) ou ont été collectées en même temps que le prélèvement (ex. Stade de développement).

La qualité des données a constitué une limite importante à cette analyse, ne permettant pas d'investiguer de façon satisfaisante le rôle de nombreux paramètres supposés influençant le risque d'infection par les ranavirus dans les populations de grenouilles rousses (variables des groupes 2 et 3, fig. 12). Afin de pouvoir étudier le rôle de ces paramètres, il serait utile de compléter les informations qui peuvent l'être pour les données de surveillance déjà collectées (réalisable entre autres pour les variables relatives à la nature et la structure des lacs, mais aussi pour les activités humaines le contexte ayant peu changé en générale dans le PNM). Il serait également pertinent d'inclure le relevé systématique de certains paramètres au protocole de surveillance pour les observations futures, tels que la couverture végétale du lac (dont la présence d'espèce invasives), la présence et/ou densité de poissons et reptiles, la diversité en amphibiens (densité, espèces et stades de développement), ou encore la présence de bétail.

### *2. Biais pré-analytiques*

L'analyse des potentiels biais pré-analytiques (délai entre prélèvement et analyse, état de l'individu lors du prélèvement (mort ou vivant), nature de l'organe analysé) a mis en évidence une corrélation significative entre l'organe support de l'extraction d'ADN et le résultat de l'analyse, ainsi qu'entre l'état de collecte (mort ou vivant) et le résultat. Il est toutefois important de noter que l'Organe support de l'analyse et l'état de la collecte sont fortement corrélés entre eux. Cette différence de sensibilité et de spécificité, entre une analyse sur section de doigt et une analyse sur morceau de foie, pourrait s'expliquer par la présence de faux négatifs sur les sections de doigt (« clipping »). Ces faux négatifs peuvent être dus à une charge virale plus

faible que dans le foie, ou encore à une réplication tardive du virus dans ces tissus (et donc une non détection des animaux récemment infectés) (St-Amour et al. 2007; Greer et al. 2007; Gray et al. 2012). De plus, 100 % (n=24) des analyses par clipping proviennent de l'étude de 2016, pour laquelle on retrouve une plus faible prévalence d'infectés (de par la présence d'individus vivants sans suspicion clinique), ce qui pourrait expliquer l'effet observé. En outre, les sections d'extrémités ont exclusivement été réalisées sur des animaux vivants, les deux variables étant corrélées, l'effet mis en évidence pourrait être expliqué, tout ou partie, par l'état de collecte.

### *3. Facteurs de risque d'infection par des ranavirus*

L'analyse des différents facteurs de risque d'infection par des ranavirus dans le PNM a été réalisée sans tenir compte du caractère spatial des données, la dynamique d'infection ne semblant pas présenter de patron spatio-temporel marqué (annexe 1). Ce choix a été fait car la qualité des données disponibles ne permettait pas une analyse spatiale fiable : une majorité des analyses émanait d'un nombre restreint de sites (notamment les Lacs Balaour, utilisés majoritairement pour l'étude de Miaud et al, 2016) et les données spatiales disponibles n'incluaient pas les relations hydrologiques entre points d'eau qui sont des éléments centraux de la spatialisation des études de transmission d'agents pathogènes transmis par l'eau (e.g. bassin versant, relation amont/aval, connexion par des cours d'eau). De plus, les efforts d'échantillonnage ont fortement augmenté au fil des années, et ce de façon hétérogène entre les différents secteurs administratifs du parc, sans qu'il ne soit possible d'objectiver de manière fiable cette augmentation. Toutefois, il serait intéressant que les prochaines études intègrent le caractère spatial à leurs analyses, ce dernier pouvant jouer un rôle important (North et al. 2015).

Nous avons mis en évidence l'existence d'une augmentation significative du risque d'infection par des ranavirus quand les températures augmentent. Cette augmentation du risque peut être expliquée par le fait que la température est un modulateur de la réponse immunitaire de l'hôte (Rojas et al. 2005), cette dernière étant plus efficace sur une gamme de températures propres à l'espèce et au biotope considérés. Ce résultat est cohérent avec des études antérieures sur d'autres sites (Hemingway et al. 2009; Campbell et al. 2020), mais diffère d'une autre étude (Rojas et al. 2005) qui observait une augmentation du risque d'infection pour les basses températures. Cependant il est important de noter que les populations étudiées dans

notre cas vivent en montagne : la gamme de températures rencontrées est donc inférieure à celles de la plupart des études antérieures. On constate aussi que l'ensemble des résultats (littérature et présente étude) semblent converger vers une augmentation du risque pour des températures entre 15 et 25°C. Cette gamme de températures correspond à l'optimale de survie des ranavirus qui, en fonction de la souche virale, se situe entre 18 et 29°C (Tripier et al. 1977; Speare et al. 1992; Zupanovic et al. 1998a; 1998b), avec une activité virale réduite à des températures plus faibles ou plus fortes.

Par ailleurs, un effet de la présence de bétail a été mis en évidence lors des analyses univariées, le pastoralisme sur site étant associé à un plus fort taux d'infection. Du fait de la colinéarité avec les autres variables, cet effet n'a pas pu être confirmé lors de l'analyse multivariée. Ces relations de colinéarité entre le pastoralisme et les autres variables (état de collecte et stade de développement) est probablement dû au protocole de collecte. En effet, l'ensemble des individus vivants et de nombreux têtards proviennent de l'étude de Miaud et al (2019), or seuls des lacs sans pastoralisme ont été utilisés pour cette étude.

Toutefois, ce résultat est cohérent avec les travaux menés sur un site expérimental par Gray et al (2007), mais il s'agit à notre connaissance de la première description d'un tel effet dans un espace protégé, ce qui constitue un enjeu de conservation. Il est toutefois important de mener des études complémentaires pour confirmer et mieux caractériser le rôle du bétail dans l'augmentation du taux d'infection par des ranavirus, par exemple en menant une enquête de type cas-témoin par rapport à la présence de bétail soit au niveau des individus soit à l'échelle des lacs par des méthodes d'analyse e-DNA. Par ailleurs, si un effet du pastoralisme est confirmé par de telles études, il serait pertinent de conduire des analyses sur la qualité de l'eau (e.g. nitrates) en fonction de la présence de bétail (et en tenant compte des relations hydrologiques entre lacs) afin de clarifier les mécanismes en jeu. Cela permettrait notamment de déterminer si l'effet du bétail est direct (e. g. stress et immuno-modulation sur les amphibiens) ou indirect.

Les études de dynamique d'infection d'agents pathogènes des amphibiens sont peu nombreuses et indispensables pour une meilleure compréhension épidémiologique de ces phénomènes. Les programmes de surveillance sanitaire dans les Parcs nationaux semblent parfaitement adaptés a priori pour collecter des données

pour de telles études, mais nous avons mis en évidence une discordance entre les protocoles de surveillance et les données nécessaires pour des analyses épidémiologiques. Une grande part des variables utilisées ont ainsi dû être compilées à notre jeu de données de mortalités via les coordonnées GPS. Cette méthode a résulté en une imparfaite concordance entre événements de mortalité et variables explicatives, avec notamment de nombreuses observations manquantes.

### ***E. Conclusion***

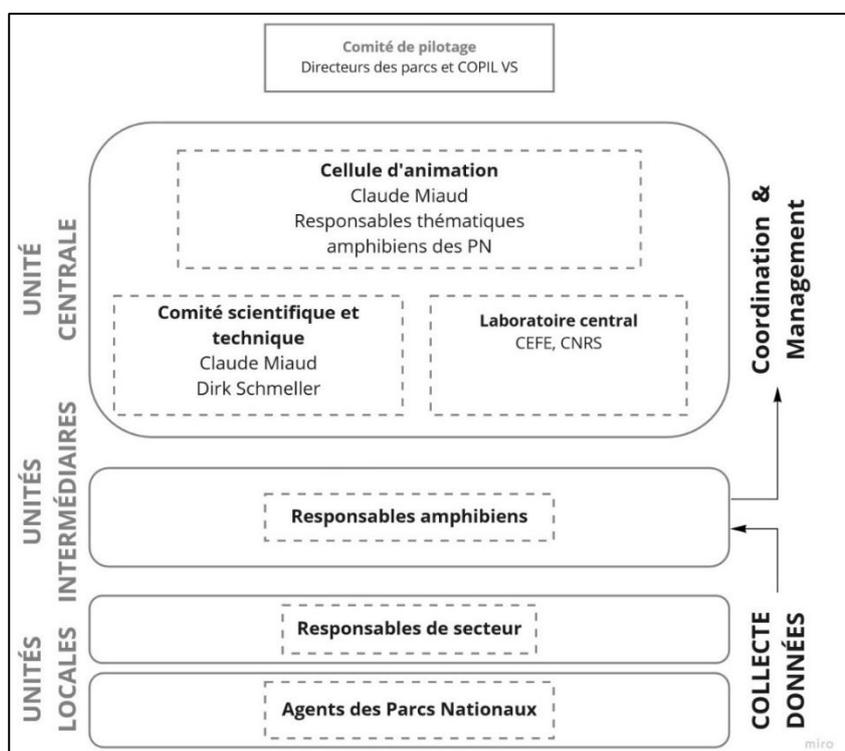
Il n'a pas été possible de déterminer avec fiabilité le rôle de tous les potentiels facteurs de risque d'infection par des ranavirus pour les populations de grenouilles rousses du PN du Mercantour. Cette étude a tout de même permis de mettre en évidence une augmentation du risque d'infection pour des températures élevées, ainsi qu'une possible augmentation du taux d'infection dans les zones de pastoralisme, bien que des analyses complémentaires soient nécessaires pour le préciser. De plus, l'existence de facteurs pré-analytiques influençant le résultat des analyses PCR a été mise en évidence et est à prendre en compte pour les analyses futures. Enfin cette étude a permis d'identifier différents paramètres biotiques et abiotiques dont le rôle ne pourra être évalué qu'en incluant leur recensement systématique dans le protocole de surveillance. Nous recommandons par exemple le recensement systématique des coordonnées GPS, des espèces d'amphibiens présentes ainsi que du nombre d'individus, de la présence de bétail, de vairons et autres poissons, de l'utilisation récréative du lac et de l'accessibilité au lac. Cette adaptation des protocoles permettrait à la fois une meilleure valorisation des données issues de la surveillance et une analyse plus précise de la mortalité liée aux ranavirus sur le long-terme. Cela conduirait à une meilleure compréhension des mécanismes et de l'épidémiologie des infections par les ranavirus, rendant possible une meilleure gestion de ce risque.

### III. *Evaluation OASIS du réseau de surveillance des mortalités d'amphibiens dans les parcs nationaux de montagne.*

#### A. *Contexte*

L'objectif de cette évaluation externe de la surveillance sanitaire des amphibiens dans les PN est de réaliser une première évaluation ciblée sur les amphibiens, dans la continuité de l'évaluation générale initiale de la stratégie sanitaire pour la faune des parcs nationaux réalisée en 2019 (Hadibi et al. 2019). Le financement de l'évaluation a été réalisé par le PNE dans le cadre de la stratégie sanitaire des Parcs. Actuellement l'organisation de la surveillance (fig. 14 est essentiellement interne à chaque parc et ne présente pas d'organisation ou coordination centrale formelle. La description des différentes unités est précisée en annexe 4.

Toutefois les objectifs et pratiques des différents Parcs étant supposés convergents, nous les avons assimilés à un réseau national métropolitain dans cette évaluation. Il a été choisi de se limiter au territoire métropolitain (les parcs ultramarins présentant des contextes très particuliers) et de ne pas inclure les Parcs de Port-Cros et des Calanques, du fait de la faible diversité d'amphibiens sur leurs territoires et de l'absence de surveillance qui en découle.



**Figure 14 :** *Organisation actuelle de la surveillance sanitaire des amphibiens dans les PN de France.*

Le « comité de pilotage » est actuellement distinct de l'unité centrale et peu connecté à cette dernière.

L'unité centrale constitue l'organe de direction et d'animation (nationale) de la surveillance, en lien avec les agents des parcs via les unités intermédiaires.

## **B. Outils et déroulement de l'évaluation**

### *1. La méthode OASIS*

La méthode OASIS, utilisée pour ce projet, consiste en la réalisation d'une évaluation externe et semi-quantitative du réseau de surveillance en se basant sur dix sections reprenant des éléments organisationnels et fonctionnels du réseau (Hendrikx et al. 2011). L'objectif est de fournir des recommandations ciblées pour l'amélioration du réseau de surveillance. La méthode comprend quatre grandes étapes successives, menées par une équipe d'évaluateurs. Cette dernière est composée d'un ou plusieurs membres extérieurs au réseau et un ou deux acteurs centraux du réseau (tab. 4).

Membres externes au réseau	Membres internes au réseau
Loïc Palumbo, ENVT	Thierry Durand, PNE
Sylvain Larrat, pôle EVAAS	Claude Miaud, CEFE

**Tableau 4** : Constitution de l'équipe d'évaluation

La première étape a pour objectif la préparation et la validation de l'évaluation. Au cours de cette étape les évaluateurs définissent les termes, les conditions et le planning de l'évaluation. Puis ces différents éléments sont soumis aux responsables du réseau pour acceptation. Dans le cas présent les termes et conditions de l'évaluation ont été définis dans un document envoyé par mail (annexe 5) et ont été acceptés par les responsables des thématiques amphibiens des six parcs, ainsi que par Thierry Durand et Claude Miaud (comité scientifique et technique & responsable du pilotage du réseau).

La deuxième étape se compose d'entretiens semi-directifs des différents acteurs identifiés afin de collecter les informations nécessaires pour l'attribution des notes. Dans le cas présent, du fait de la faible uniformisation au sein du réseau, un questionnaire préliminaire (annexe 6) a été envoyé avant la réalisation des entretiens. L'objectif était de cibler au mieux la situation de chaque parc et de déterminer les acteurs à inclure pour les entretiens de façon à assurer une bonne représentativité.

Au cours de la troisième étape, les notes sont attribuées à l'aide de trois outils fournis par les développeurs (ANSES) de la méthode :

- Un **questionnaire** détaillé selon les 10 sections, guidant les entretiens.
- Une **grille de notation** de 78 critères répartis selon les 10 sections. La grille est remplie par l'équipe d'évaluation, puis les notes sont discutées et validées par un panel d'acteurs.
- Un **guide de notation** avec un descriptif des conditions d'attribution des notes.

La grille de notation et les critères d'attribution des notes ont été adaptés au contexte du réseau évalué, certaines sections ont été considérées comme sans objet car non pertinentes et d'autres ont été adaptées (par exemple la section 6.5 relative à la surveillance de la faune sauvage a été transformée en « surveillance des autres taxons sensibles »). Pour la validation des notes attribuées, un panel d'acteurs (Annexe 7) représentant les différents partenaires du réseau et des experts a été sélectionné et s'est réuni avec l'équipe d'évaluation pour réviser et valider la notation.

La dernière étape, consiste en la rédaction et la communication des résultats de l'évaluation et des recommandations qui en découlent. Dans le cas présent la restitution c'est fait sous la forme d'un rapport de stage M2 GIMAT (soutenu publiquement le 15/06/21 par L. Palumbo), de la présente thèse d'exercice vétérinaire et d'un diaporama de présentation des résultats et recommandations.

### *2. Détermination des parcs & acteurs à inclure*

Au vu des objectifs de l'évaluation, le tri initial des structures à inclure a permis de retenir les six parcs métropolitains non marins : le PN de forêts de Bourgogne-champagne (PNF) et les cinq PN de montagne (PNC, PNE, PNM, PNP et PNV). Le questionnaire préliminaire a ensuite permis de ne retenir que les parcs disposant d'une surveillance sanitaire des amphibiens, excluant ainsi le PNF.

Dans chacun des cinq parcs retenus, les responsables et acteurs de terrain impliqués dans la surveillance ont été identifiés à l'aide des réponses au questionnaire. Tous les responsables et jusqu'à dix agents de terrain par parc ont été inclus aux entretiens. L'échantillonnage des agents de chaque parc pour les entretiens s'est fait par concertation avec les responsables locaux. Les critères de sélection étaient l'implication dans la surveillance, le poste au sein du parc et l'ancienneté (trois critères pressentis comme pouvant influencer la perception du réseau), avec l'objectif d'obtenir pour chaque établissement, un échantillon représentatif de l'ensemble des agents.

### *3. Déroulement des entretiens*

Pour chaque parc, les entretiens semi-directifs se sont déroulés en présence d'un ou des deux membres externes de l'équipe d'évaluation. Ils ont eu lieu en présentiel ou en visio-conférence, en accord avec les recommandations sanitaires en vigueur aux mois de février et mars 2021 (restrictions Covid-19). Ils ont été conduits de façon individuelle ou collégiale, et ont fait l'objet d'un enregistrement audio, en plus

d'une prise de notes. Au total, les responsables des thématiques amphibiens des cinq parcs, ainsi que 19 agents de parcs ont été interrogés. En plus des agents des parcs, des entretiens ont été réalisés avec les personnels de laboratoire ainsi qu'avec des représentants des principaux partenaires (CEFE, SAGIR) impliqués dans cette surveillance. La liste exhaustive des personnes interviewées et les modalités d'entretiens sont disponibles en annexe 8. Les différentes personnes interviewées ont consenti à l'utilisation des informations collectées par un consentement éclairé.

### **C. Résultats**

Les notes attribuées aux 78 critères de la grille d'évaluation ont été ensuite regroupées selon trois modalités complémentaires, permettant la visualisation graphique des résultats (Annexe 9) :

- 10 sections reprenant les sections structurelle et fonctionnelle du réseau (fig. 15)
- 7 points critiques correspondant à des éléments fonctionnels centraux (fig. 16)
- 10 attributs permettant d'appréhender les points clés du fonctionnement (fig. 17)

L'évaluation portant sur la surveillance nationale inter-parcs des amphibiens, la représentation par section (fig. 15, annexe 10) cache une forte hétérogénéité entre les parcs et tend à dissimuler les points forts de la surveillance dans les différents PN, à cause des divergences inter-parcs qui existent.

Les **objectifs et champ de surveillance** (note de 50%\*), répondent aux objectifs classiques d'un réseau de surveillance avec pour objectif principal la détection d'agents pathogènes en cause dans des événements de mortalité, mais sont majoritairement centrés sur les ranavirus (excluant diverses causes dont les toxiques et d'autres agents pathogènes) et manquent de formalisme et d'harmonisation centrale, certains agents se demandant « *pourquoi doit-on surveiller ?* »

L'**organisation institutionnelle centrale** (14%), qui comprend unité centrale, comité de pilotage et comité scientifique, est une limite majeure du réseau. Cette organisation est à l'origine d'un manque de formalisme et d'harmonisation impactant l'ensemble des sections.

L'**organisation institutionnelle de terrain** (53%) est, à l'inverse de l'organisation centrale, un élément fort du réseau malgré d'importants besoins de

---

\* La note par section est obtenue en additionnant les notes des critères de la section (Annexe 11) et en divisant par le total de points possibles pour la section : somme de notes / (nombre de critère – critères sans objet) x3

moyens humains et financiers. Le manque de moyens est toutefois une limite majeure à la pérennité du réseau, avec pour certains parcs un manque de temps à consacrer à cette surveillance. Pour illustration, le PN des Cévennes dispose de "21 agents de terrain, 1350j de travail biodiversité, dont 25j amphibiens et reptiles [sanitaire et autre]".

Le **laboratoire** (52%) est un élément central du réseau et remplit les missions qui lui sont attribuées, mais souffre d'un manque de résilience, en lien avec son mode de financement et de fonctionnement. Ces derniers occasionnent souvent des délais de production et de transmission des résultats incompatibles avec les objectifs de surveillance et les besoins de gestion du réseau.

Les **outils de surveillance** (38%) répondent, au moins en partie, aux objectifs localement. Toutefois, à l'échelle nationale un fort besoin de standardisation des outils (e.g. les fiches de collecte) est identifié. De même, un besoin de repenser et standardiser les protocoles et les prélèvements a été identifié, avec pour objectif d'inclure l'ensemble des agents pathogènes et menaces (e.g. toxiques).

Les **modalités de surveillance** (33%) sont localement pensées pour répondre aux objectifs en tenant compte des contraintes humaines et en reposant essentiellement sur de la surveillance événementielle de mortalité « *massive et anormale* » ou des projets de recherche ponctuels. Toutefois sont identifiés un besoin d'harmonisation inter-parcs, ainsi qu'un besoin d'adaptation des modalités à la surveillance des urodèles et des espèces à enjeu de conservation. De plus, les autres taxons sensibles (reptiles et poissons pour les ranavirus) ne sont actuellement pas inclus dans les modalités de surveillance. Toutefois, un des points fort du réseau réside dans sa capacité à assurer une surveillance des amphibiens basée sur des protocoles ne nécessitant pas de temps de travail spécifique, permettant au réseau de remplir ses objectifs en s'adaptant au manque de moyens humains et financiers. Dans les différents parcs les agents font « *le tour des lacs et points d'eau lorsqu'ils passent à côté lors de [leur] tournée* ». Ce mode de fonctionnement, couplé à la sensibilisation des visiteurs, permet d'assurer une bonne détection des cas de mortalité massive.

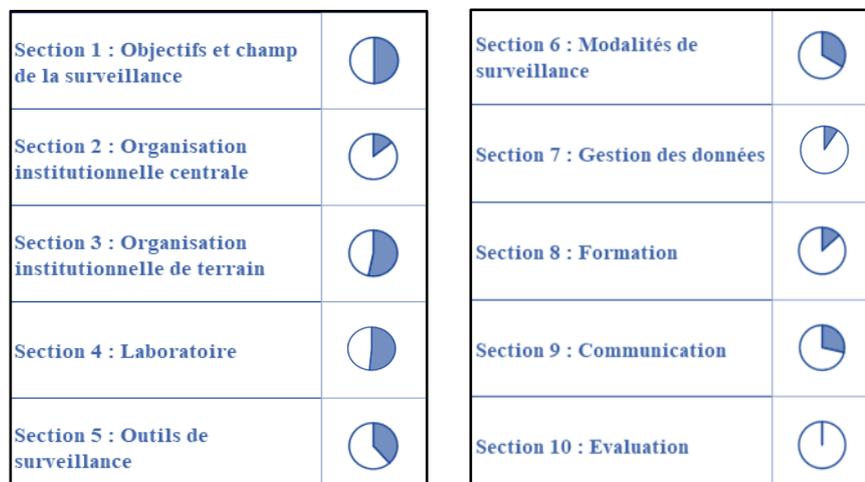
La **gestion des données** (10%), n'est actuellement pas réalisée au sein du réseau national. De plus, localement (i.e. dans chaque parc) cette gestion est parfois complexe (saisies multiples sur supports multiples) et manque de pérennité et de formalisation. Il existe un fort besoin d'harmonisation et d'implémentation d'un outil

unique et simple. Par ailleurs, quasiment aucune valorisation des données n'est réalisée (autre que l'étude présentée en partie II de ce manuscrit).

La **formation** (13%) initiale des agents des parcs dans le cadre de la surveillance sanitaire des amphibiens est actuellement réalisée oralement sur le terrain par des agents plus anciens et repose sur la volonté des CM et des agents de maintenir une vigilance et une formation minimale sur ces thématiques. Une formalisation et un support actualisé et couvrant l'ensemble des dangers surveillés seraient utiles à cette formation initiale. De plus il existe un besoin de formation continue des agents, qui nécessite notamment l'implication dans le réseau de personnel compétent dans les thématiques de l'épidémiologie et des agents pathogènes des amphibiens pour animer ces formations. La formation pourrait notamment être réalisée en partenariat avec l'OFB.

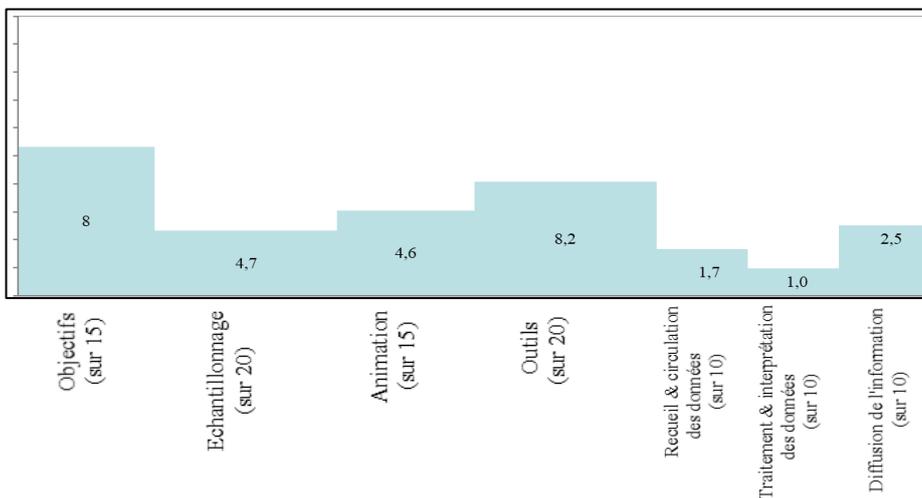
La **communication** (29%) bien que globalement satisfaisante en intra-parc, nécessiterait une amélioration en inter-parcs, ainsi que des retours individuels des résultats d'analyses aux agents. Par ailleurs, la communication externe (à destination du public, des pêcheurs, éleveurs, ...) est à développer et à standardiser, de même que les actions entreprises lors d'épisode de mortalité.

L'**évaluation** (0%) du réseau n'est actuellement pas réalisée en interne et la présente évaluation constitue la première évaluation externe. Des indicateurs de performance simples d'usage permettraient une évaluation interne régulière et un maintien à niveau de la surveillance pour répondre aux objectifs, possiblement évolutifs.



**Figure 15 :** Sortie 1 de l'outil OASIS – notes par sections de l'évaluation de la surveillance sanitaire des amphibiens dans les parcs nationaux métropolitains de montagne.

La représentation des points critiques du réseau (fig. 16) permet de mettre en évidence deux points satisfaisants du réseau (**Objectifs** et **Outils**), bien que pouvant bénéficier d'un meilleur formalisme et d'une structuration centrale. Mais ce graphique met aussi en évidence deux points faibles principaux du réseau : la communication et la gestion / utilisation des données (**Recueil et circulation + Traitement et interprétation des données, Diffusion de l'information**). Enfin, l'**animation** et l'**échantillonnage** du réseau sont, comme les points précédents limitée en l'absence d'unité centrale. Mais localement une animation existe de façon satisfaisante par les responsables des thématiques amphibien et peut servir de base pour l'amélioration de l'animation générale et nationale du réseau, et l'échantillonnage est localement satisfaisant.



**Figure 16 :** Sortie 2 de l'outil OASIS – notes de l'évaluation par points critiques de la surveillance sanitaire des amphibiens dans les parcs nationaux métropolitains de montagne.

La représentation par attributs (fig. 17) permet de visualiser, que trois d'entre eux (sensibilité, spécificité et représentativité) sont au-dessus des autres et traduisent des éléments forts du réseau.

La **sensibilité** (proportion de cas réels détectés) et la **spécificité** (proportion de cas signalés correspondant aux dangers surveillés) traduisent des protocoles locaux répondant globalement aux objectifs. Mais elles sont limitées par un manque d'harmonisation inter-parcs et des définitions de cas (et protocoles) centrées sur les ranavirus chez les anoures, et ayant besoin d'être élargies pour inclure les autres dangers sanitaires et les espèces à enjeu de conservation. De plus ces deux attributs sont pénalisés par la subjectivité des définitions de cas, « mortalité anormale » pouvant évoquer selon les agents : « *Toute mortalité [sur des] cadavres non blessés et non consommés* », ou « *toutes les mortalités, quelle qu'en soit la cause, dans le*

*doute* », ou encore « *des mortalités massives, autres que celles de la reproduction au printemps* ».

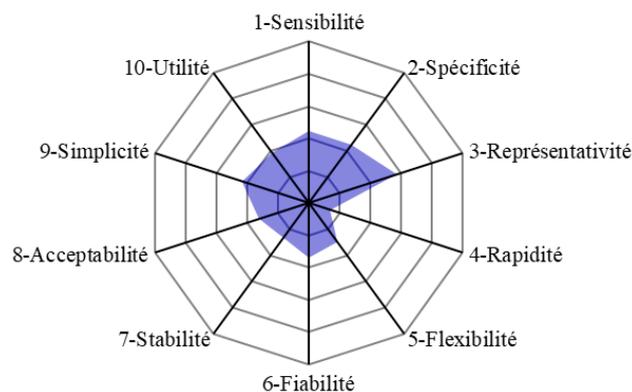
La forte **représentativité** du réseau reflète la forte implication des agents de terrain et unités intermédiaires (responsables amphibien des PN et responsables de secteur), qui permet une bonne couverture de l'ensemble du territoire avec un bon niveau de sensibilisation des agents de façon général.

La bonne **simplicité** du réseau, découle du fonctionnement local du réseau qui est relativement simple, bien que parfois compliqué par des démarches peu formalisées et des saisies de données multiples. Cette simplicité ne reflète cependant pas l'hétérogénéité de fonctionnement entre les parcs, qui peut constituer un frein à la simplicité du fonctionnement nationale et central du réseau.

La note **d'utilité** traduit la capacité du réseau à remplir ses objectifs, mais est fortement pénalisée par le manque d'utilisation des données de la surveillance pour la mise en place de mesures de gestion (e.g. pédagogie, prévention). Cette utilité est actuellement essentiellement le reflet de la capacité individuelle des Parcs à remplir leurs objectifs, mais le réseau a besoin de structuration centrale pour améliorer son utilité à l'échelle nationale

La **rapidité** représente un des principaux points faibles du réseau. Son niveau s'explique notamment par le fonctionnement du laboratoire. En effet, la partie laboratoire du réseau dispose de personnel en nombre limité entraînant des délais importants entre envoi des prélèvements et réception des résultats. Par ailleurs, le CEFÉ étant un organisme de recherche et non un laboratoire de diagnostic, les consommables des analyses sont utilisés quasi exclusivement dans le cadre du réseau de surveillance, et leur coût unitaire couplé à leur faible durabilité contraint à un achat groupé (donc à des analyses groupées), ce qui contribue à l'augmentation des délais.

Enfin, les quatre attributs **acceptabilité**, **stabilité**, **fiabilité** et **flexibilité** présentent des notes faibles, qui sont liées au manque de moyens humains et financiers du réseau, qui sont actuellement essentiellement financés (lorsqu'il y a un financement) par des fonds de recherche et des « *programmes européens [qui] sont non pérennes et donc une fausse solution [pour la surveillance sanitaire]* ». De plus, ces attributs sont impactés par le manque de résilience du laboratoire (capacité d'analyse limitée, délais importants, absence de standardisation des transmissions de résultats) et traduisent conjointement la précarité du réseau, qui est un des points essentiels à améliorer afin d'assurer une surveillance pérenne et sur le long terme.



**Figure 17** : Sortie 3 de l'outil OASIS – Diagramme en toile d'araignée de l'évaluation de la surveillance sanitaire des amphibiens dans les parcs nationaux métropolitains de montagne.

## **D. Recommandations**

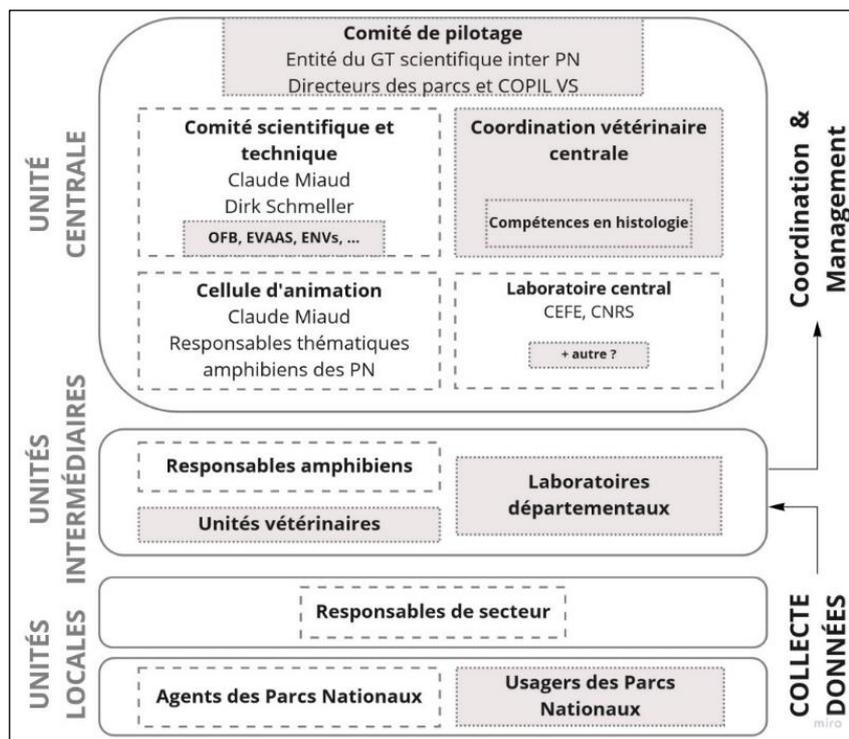
### **1. Recommandation structurelle générale**

A l'issue de cette évaluation, différentes recommandations ont été formulées pour l'amélioration et la pérennisation du réseau de surveillance sanitaire des amphibiens dans les parcs nationaux métropolitains français. Ces recommandations concernent notamment la structuration (fig. 18) du réseau, qu'il apparaît nécessaire de faire évoluer. Pour cela deux scénarios ont été envisagés, pour lesquels il faudra dans tous les cas formaliser le rôle des différents partenaires.

Le premier scénario nécessiterait de repenser le réseau actuel dans le cadre d'un partenariat central entre les PN et le réseau SAGIR de l'Office Français pour la Biodiversité (OFB). Ce scénario permettrait au réseau de surveillance de bénéficier de l'appui scientifique et technique de SAGIR, ainsi que du réseau de laboratoires partenaires et de personnes ressources, et également de s'appuyer sur la base de données Epifaune2. Ce partenariat permettrait également à plus long-terme de pouvoir intégrer facilement d'autres espaces protégés (parcs naturels régionaux, ...) voire des

espaces non protégés dans un réseau national de surveillance de la mortalité et des agents pathogènes des amphibiens français. Cependant ce scénario n'est possible qu'avec un élargissement des prérogatives de SAGIR aux amphibiens, ainsi qu'une adaptation d'épifaune, cette dernière ayant par ailleurs déjà été envisagée avec un élargissement du référentiel taxonomique.

Le second scénario présenté est une évolution du réseau sans modification majeure de sa structure centrale. Ce scénario nécessiterait toutefois une inclusion d'autres laboratoires pour l'analyse, en complément ou remplacement du CEFÉ, ainsi que l'inclusion au réseau de nouveaux partenaires (Écoles Nationales Vétérinaires, laboratoires de recherche, OFB...) dans le comité d'appui scientifique et technique (CST). Par ailleurs, le développement (à l'échelon central) d'outils de gestion et collecte de données reste utile.



**Figure 18 :** Organisation de la surveillance sanitaire des amphibiens dans les Parcs nationaux métropolitains français et recommandations pour améliorer le fonctionnement et la pérennité du réseau.

*Les propositions de modifications sont figurées sur fond gris.*

## 2. Recommandations spécifiques par section

En complément de la restructuration du réseau, des recommandations sur les aspects fonctionnels du réseau ont également été formulées. Ces recommandations ont été regroupées par section et priorisées (tab. 5).

**Tableau 5 : Recommandations pour l'amélioration du réseau de surveillance des amphibiens dans les parcs nationaux de France métropolitaine.**

Le 1<sup>er</sup> scénario comprend une inclusion réseau dans le réseau SAGIR de l'OFB et le 2<sup>nd</sup> scénario prévoit un maintien de son autonomie. La priorisation des recommandations est : **prioritaire**, *moyen à long terme*.

SECTION	SCENARIO 1	SCENARIO 2
<b>1 : Objectifs et champs de surveillance</b>	<b>1) Penser et formaliser les objectifs de surveillance pour, par exemple, inclure l'ensemble des pathogènes et causes de mortalité pertinentes dans le contexte des parcs nationaux (ranavirus, chytrides, toxiques).</b> Ces objectifs sont à définir en adéquation avec des actions de gestion en cas de mortalité détectée.	
<b>2 : Organisation institutionnelle centrale</b>	<b>2) Travailler à une coordination des P.N., par exemple par la formalisation d'un groupe de travail inter-parcs sur les amphibiens.</b> <i>3) Prévoir des créneaux et interventions d'experts sur les thématiques amphibiens dans les CoPil VS et les conseils scientifiques des PN.</i>	
	<b>4) Repenser l'organisation centrale avec 2 partenaires majeurs : SAGIR (OFB) et les parcs nationaux.</b> S'appuyer sur le réseau de partenaire SAGIR et les partenaires déjà existants dans le réseau pour composer l'échelon central.	<b>4) Créer une unité centrale avec une activité amphibien ou formaliser la thématique sanitaire amphibiens dans les échanges entre CM des PN</b> <b>4') Inclure des partenaires compétents au CST (ENV, pôle EVAAS, C. Miaud, D. Schmeller).</b>
<b>3 : Organisation institutionnelle de terrain</b>	<b>5) Articuler la priorisation des objectifs de surveillance (e.g. espèces à enjeu de conservation ou forte valeur patrimoniale) et l'allocation d'un budget pérenne à la surveillance sanitaire des amphibiens.</b> <b>6) Prévoir un budget temps des agents de terrain alloué à cette surveillance en accord avec les objectifs.</b> Peut nécessiter le recrutement de nouveaux agents	
<b>4 : Laboratoire</b>	<b>7) Inclure une phase de réflexion systématique (basée sur la présentation clinique, la situation de chaque parc et l'anatomopathologie) pour décider des analyses à mener pour chaque mortalité,</b> afin de ne pas exclure des causes possibles tout en limitant les frais d'analyse.	
	<b>8) Diagnostic (PCR, anatomopathologie et histologie) par les laboratoires compétents du réseau partenaire de SAGIR.</b> <i>8') Formation de nouveaux laboratoires partenaires aux techniques utilisées si nécessaire.</i>	<b>8) Convention financière entre les parcs et le CEFE pour recrutement de personnel de laboratoire (CDD) compétent en PCR, autopsies et histologie, ET/OU</b> <b>8') Inclusion et formation de laboratoires d'analyse (non de recherche) dans le réseau</b>
	<i>9) Inclure des ENV et UMR (e.g. équipe de C. Miaud au CEFE, équipe de D. Schmeller à l'ENSAT) pour aider à l'investigation et au typage. Ainsi que pour des questions de recherche en lien avec le laboratoire.</i>	

<p><b>5 : Outils de surveillance</b></p>	<p><b>10) Développer et utiliser des fiches de recueil d'information et des protocoles standardisés (nécessite un travail inter-parc).</b></p> <p>Les outils et protocoles gagneraient à être simples d'usage, formalisés et à nécessiter peu ou pas de temps agent supplémentaire. Dans la mesure du possible, mutualiser les outils avec les autres missions des agents.</p> <p><b>11) Repenser la nature des prélèvements et techniques de conservation pour permettre la recherche de toutes causes de mortalité</b></p> <p>12) <i>Les différentes actions de veille écologique (suivi démographique, CMR, ...) pourraient être standardisées et valorisées pour la surveillance sanitaire.</i></p> <p><i>Il est important qu'elles ne contribuent pas à la dispersion d'agents pathogènes.</i></p>	
<p><b>6 : Modalités de surveillance</b></p>	<p><b>13) Revoir et standardiser, en inter-parcs, les modalités de surveillance et les définitions de cas.</b> Une adaptation des protocoles de surveillance au mode vie des urodèles (peu de regroupement) est recommandée (il serait, par exemple, utile pour ces espèces d'inclure les mortalités individuelles aux cas).</p> <p><b>14) Déterminer et/ou utiliser une priorisation des espèces (selon les objectifs : espèces abondantes, ou à enjeu de conservation, ou avec une forte valeur patrimoniale) pour adapter et améliorer leur surveillance sanitaire (en cours)</b></p> <p><b>15) Inclure une surveillance e-DNA des sites non connus comme ayant subis des événements de mortalité liés à des agents pathogènes, pour suivre la possible évolution spatio-temporelle de ces derniers en limitant les coûts.</b></p> <p>16) <i>Inclure une surveillance des espèces non-amphibiens sensibles aux agents pathogènes considérés (poissons et reptiles pour les ranavirus).</i></p>	
<p><b>7 : Gestion des données</b></p>	<p><b>17) Généraliser l'utilisation d'Epifaune pour gérer les données.</b></p>	<p><b>17) Utiliser un outil de gestion et une base de données uniques et simples.</b></p>
	<p><b>18) Exploiter les données issues de la surveillance en accord avec les objectifs fixés, de façon régulière et standardisée.</b> Cela nécessiterait le recrutement ou la formation d'un(e) (groupe de) personne(s) compétente(s) en épidémiologie et gestion des données sanitaires.</p>	
<p><b>8 : Formation</b></p>	<p><b>19) Créer et utiliser un support de formation initiale (forme libre) unique et complet pour la formation initiale systématique de tous les agents lors de leur entrée dans le réseau.</b> Ce support pourrait être développé par le CST (ou une personne compétente externe), en partenariat avec l'OFB, et comprendre une explicitation des techniques du protocole, des connaissances sur les agents pathogènes et toxiques, une formation sur les bonnes pratiques de biosécurité...</p> <p>19') <i>Le support serait à actualiser régulièrement (tous les 1 ou 2 ans).</i></p> <p><b>20) Développer des supports et des créneaux de formation continue</b> (par exemple une actualisation à chaque mise à jour de la formation initiale).</p>	
<p><b>9 : Communication</b></p>	<p><b>21) Faciliter la communication inter-parcs et formaliser des créneaux de communication (horizontale et verticale).</b> Cela doit tenir compte des contraintes humaines du réseau et du faible temps agent disponible.</p> <p><b>22) Faire parvenir des résultats individuels aux agents de terrain, dans un délai court (pas seulement lors des bilans annuels).</b></p> <p><b>23) Standardiser la politique et les supports de communication externe,</b> ainsi que les actions à destination des usagers des parcs (public, pêcheurs, chercheurs).</p>	

<p><b>10 : Evaluation</b></p>	<p><b>24) Suivre et évaluer la surveillance en interne à l'aide d'indicateurs de performances simples et efficaces</b>, par exemple :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Taux annuel de résultats fournis dans les délais compatibles avec les objectifs de surveillance et de gestion (1 mois post échantillonnage)</li> <li>- Largeur de l'intervalle de confiance à 95% de la présence d'agents pathogènes sur les populations à enjeu (surveillance programmée)</li> <li>- Comparaison du nombre de mortalités observées par espèce avec la démographie des populations locales – observée ou estimée- (surveillance événementielle)</li> </ul> <p>25) <i>Reconduire une évaluation externe dans 5 ans.</i></p>
-------------------------------	---

### 3. Les pratiques à généraliser

En plus des recommandations, cette évaluation a permis de mettre en évidence des points forts rencontrés localement, dont la généralisation (en tenant compte des particularités locales) contribuerait à l'amélioration du réseau :

- 1) Dans l'objectif d'optimiser les moyens alloués, certains parcs comme le PNV ont fait le choix **d'utiliser la base de données Epifaune et les fiches commémoratives associées pour la gestion de leurs données amphibiens, ces éléments étant ceux utilisés par le Parc pour la surveillance des autres taxons**. Bien qu'actuellement cette gestion soit compliquée par des saisies multiples sur d'autres supports et qu'Epifaune, dans sa version actuelle, ne soit pas prévu pour inclure les amphibiens, cette démarche constitue une piste d'amélioration nationale, à brève échéance, pour le réseau dans un contexte de moyens humains, financiers et de temps limités.
  
- 2) En complément de la surveillance événementielle réalisée dans les différents parcs, le PNC a mis en place une **surveillance programmée dans le cadre des suivis de lacs « référents »**. Cette modalité de surveillance peut constituer à l'échelle nationale une méthode adaptée pour le suivi de lacs avec des populations d'amphibiens à enjeu de conservation, ou avec une forte densité de population d'amphibiens. Cela peut être couplé avec l'utilisation de techniques non invasive, comme l'analyse de l'ADN environnemental (e-DNA), pour rechercher la présence d'agents pathogènes dans les eaux et sédiments, permettant ainsi de « cartographier » les lacs infectés sans devoir chercher et prélever des individus.

- 3) Une autre méthode pour adapter la **surveillance aux populations à enjeu de conservation et aux populations d'urodèles** est, à l'instar de ce qui est fait dans le PNM, de **considérer tous les évènements de mortalité, même individuels**. En effet les populations à enjeu de conservation sont généralement en effectif restreint et un épisode de « mortalité massive anormale » peut signifier la disparition de la population. Concernant les urodèles, la surveillance de mortalité de groupe n'est pas adaptée à l'écologie de ces populations et ne permet pas de répondre aux objectifs de surveillance.
- 4) Toujours en complément de la surveillance événementielle réalisée dans les parcs, la **mise en place d'une surveillance renforcée à la suite de la détection d'un cas de mortalité massive** (comme c'est le cas dans le PNP), constitue une modalité de surveillance utile pour répondre aux objectifs du réseau et pour assurer une gestion complète en cas d'épizootie affectant les populations d'amphibiens dans une zone donnée du territoire.
- 5) Par ailleurs, pour répondre aux objectifs de surveillance des amphibiens, en **complément de la surveillance sanitaire, un suivi démographique des populations** comme réalisé dans le PNE vis-à-vis du Sonneur à ventre jaune (*Bombina variegata*), peut constituer un indicateur indirect de mortalité (qui pourraient ne pas être détectée par les protocoles de surveillance sanitaire). Ce suivi constitue de plus une base de comparaison pour évaluer le fonctionnement interne du réseau à l'aide d'un indicateur de performance tel que présenté dans les recommandations. Toutefois un tel suivi démographique ne peut pas remplacer complètement une surveillance sanitaire, et doit être encadré par des protocoles stricts et des mesures de biosécurité standardisées pour ne pas participer à la dissémination d'agents pathogènes.

## **E. Discussion**

### *1. La méthode OASIS appliquée à un réseau complexe de surveillance de faune sauvage*

Dans le cadre de cette évaluation, la méthode OASIS – initialement orientée vers l'évaluation de réseaux épidémiologiques du bétail et des animaux domestiques (Hendriks et al. 2011; Gorecki et al. 2012; Amat et al. 2015; Mader et al. 2021) – a été

adaptée à un réseau complexe de surveillance de la faune sauvage, avec des sous-unités (les parcs) constituant des sous-réseaux et présentant une hétérogénéité entre eux. Même si la méthode OASIS n'a pas été conçue pour l'évaluation des réseaux de surveillance de la faune sauvage, elle reste une des méthodes les plus robustes et adaptées à ces contextes par sa flexibilité d'usage et la grande variété des critères évalués en comparaison d'autres méthodes (Thacker et al. 1988; Calba et al. 2015). Cette adaptation de la méthode OASIS, bien que pertinente et déjà réalisée (version complète ou version « flash ») sur des contextes similaires (Lhubert et al. 2015; Hadibi et al. 2019) conduit toutefois à des résultats d'évaluation devant être interprétés avec prudence, en raison d'une grande hétérogénéité sous-jacente.

Dans une perspective d'amélioration de l'évaluation des réseaux de surveillance de la faune sauvage il serait pertinent de compléter l'approche OASIS par une évaluation économique du réseau (Osofsky 2019), et par une évaluation de type socio-épidémiologique (Wauters et al. 2014) et/ou de type K.A.P. (*Knowledge Attitude Practice*) (Tiwari et al. 2019) permettant à la fois de déterminer les facteurs humains impliqués dans la dynamique des agents pathogènes surveillés et de déterminer le niveau de sensibilisation et d'implication de tous les acteurs potentiels de la surveillance.

Par ailleurs, l'absence de formalisation nationale du réseau évalué a complexifié la réalisation du diagramme structurel du réseau et la concordance des termes OASIS (e.g. unité intermédiaire, comité de pilotage, unité centrale) avec la réalité de terrain. Ces difficultés ont pu être contournées en adaptant les termes et les critères du guide de notation. Par exemple, les personnes chargées des thématiques amphibiens dans les différents parcs ont été considérées à la fois comme unités intermédiaires et comme membres de l'unité centrale, car assurant des fonctions relevant de ces deux catégories. Cependant, la considération du réseau des parcs nationaux à l'échelon national et non individuellement, permet d'établir des recommandations pouvant s'appliquer à la fois aux parcs évalués mais également à d'autres structures similaires (autres parcs nationaux métropolitains, PNR, réserves naturelles...) en tenant compte du contexte local de chaque site. Par ailleurs, la comparaison du fonctionnement des différentes sous unités permet de déterminer des bonnes pratiques à généraliser (comme présenté précédemment) et également permet de mettre en lumière des pratiques à modifier ou des besoins identifiés localement mais d'intérêt national.

## 2. Les résultats

Les différents résultats obtenus suite à cette évaluation (fig. 15 à 17), semblent globalement faibles si on les compare aux résultats obtenus pour d'autres réseaux de surveillance évalués avec la méthode OASIS (complète ou « flash ») (Gorecki et al. 2012; Lhubert et al. 2015; Amat et al. 2015; Hendrikx et al. 2017; Mader et al. 2021). Cette faiblesse des notes résulte de deux causes, la première est que la méthode OASIS ayant été développée pour des réseaux de surveillance en faune domestique (souvent couplés à des mesures de prophylaxie ou supportés par les services de l'état), les critères relevant des moyens (humains, financiers et matériels) sont plus difficiles à atteindre pour des réseaux tel que celui évalué. De plus, ces faibles notes sont à mettre en regard de l'historique et de la structure du réseau. En effet la surveillance des amphibiens dans les PN a vu le jour au début des années 2010 dans le cadre de programmes de recherche européens et nationaux visant à évaluer la présence et la circulation d'agents pathogènes (ranavirus et *Bd*) en France. Cette surveillance basée sur des protocoles et des financements de recherche a ensuite été maintenue et transformée, sans être adaptée, en un réseau de surveillance avec des objectifs tels que présentés. Cette évolution « non contrôlée » de la surveillance a entraîné de fortes inadéquations entre objectifs et moyens, ce qui s'ajoute au point précédent pour expliquer les faibles notes.

Ces notes sont toutefois à nuancer, car elles dissimulent une forte hétérogénéité entre parcs et parce qu'elles reflètent les attentes que l'on aurait pour un réseau de surveillance « classique » d'une maladie ou d'un groupe restreint de maladies sur une espèce (ou un petit groupe d'espèces). Ces notes sont donc à considérer avec précaution si on les regarde isolément, mais doivent être retenues comme niveau de base du réseau afin de permettre une comparaison lors de prochaines évaluations.

## **F. Conclusion**

En conclusion cette évaluation a permis de mettre en évidence des pratiques convergentes de surveillance sanitaire des amphibiens entre parcs nationaux, mais a également mis en lumière une coordination nationale embryonnaire et un besoin important de moyens humains et financiers, ainsi qu'un besoin d'appui scientifique et technique. L'analyse de ces fragilités et besoins a permis de générer un ensemble de recommandations visant à améliorer l'efficacité et la pérennité du réseau de

surveillance. De plus cette évaluation peut constituer une base méthodologique et un élément de comparaison pour la surveillance sanitaire des autres taxons dans les parcs nationaux et autres espaces protégés de France métropolitaine.

### ***Conclusion générale***

Dans son ensemble, cette étude a permis d'évaluer et de valoriser l'ensemble des étapes de la surveillance des ranavirus dans les populations d'amphibiens du PNM. Elle a également permis d'apporter un éclairage nouveau sur la surveillance sanitaire globale des amphibiens dans les PN français. Ces différentes étapes ont permis de mettre en lumière un rôle crucial d'une telle surveillance, ainsi que ces différents points forts. Mais cette étude a également permis de soulever les limites et besoins actuels d'un tel dispositif. Cela a conduit à de nombreuses recommandations et propositions d'améliorations pour continuer la surveillance sanitaire des amphibiens dans les espaces protégés le plus utilement et efficacement possible.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

En vue de l'obtention du permis d'imprimer de la thèse de doctorat vétérinaire

Je soussigné, Guillaume LE LOC'H, Enseignant-chercheur, de l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de PALUMBO Loïc intitulée « SURVEILLANCE SANITAIRE DES AMPHIBIENS DANS LES PARCS NATIONAUX FRANÇAIS ET ÉPIDÉMIOLOGIE DES ÉVÉNEMENTS DE MORTALITÉ DUS À DES RANAVIRUS DANS CES ESPACES PROTÉGÉS » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

Fait à Toulouse, le 04/11/2021  
Enseignant-chercheur de l'École Nationale  
Vétérinaire de Toulouse  
Docteur Guillaume LE LOC'H

Vu :  
Le Directeur de l'École Nationale  
Vétérinaire de Toulouse  
M. Pierre SANS

Vu :  
Le Président du jury  
Professeur Christophe PASQUIER

Vu et autorisation de l'impression :  
Le Président de l'Université Paul  
Sabatier  
Monsieur Jean-Marc BROTO  
Par délégation, le Doyen de la faculté de  
Médecine de Toulouse-Rangueil  
Monsieur Elie SERRANO

M. PALUMBO Loïc  
a été admis sur concours en : 2016  
a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le : 06/07/2020  
a validé son année d'approfondissement le : 01/07/2021  
n'ont plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider



## Bibliographie

- A. Granoff, P. E. Came, et K. A. Rafferty. 1965. « The isolation and properties of viruses from *Rana pipiens* : their possible relationship to the renal adenocarcinoma of the leopard frog ». *Annals of the New York Academy of Sciences* 126 (1): 237-55.
- K. Wolf, G. L. Bullock, C. E. Dunbar, et M. C. Quimby. 1968. « Tadpole Edema Virus: A viscerotropic pathogen for anuran amphibians ». *The Journal of Infectious Diseases* 118 (3): 253-62.
- H. F. Clark et al. 1968. « Isolation and characterization of viruses from the kidneys of *Rana pipiens* with renal adenocarcinoma before and after passage in the red eft (*Triturus viridescens* ). » *Journal of Virology* 2 (6): 629-40.
- H. F. Clark, C. Gray, F. Fabian, R. Zeigel, et D. T. Karzon. 1969. « Comparative Studies of Amphibian Cytoplasmic Virus Strains Isolated from the Leopard Frog, Bullfrog, and Newt ». In *Biology of Amphibian Tumors*, édité par M. Mizell, 310-26. Recent Results in Cancer Research. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- R. F. Naegele, A. Granoff, et R. W. Darlington. 1974. « The presence of the Lucké Herpesvirus genome in induced tadpole tumors and its oncogenicity: Koch-Henle postulates fulfilled ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 71 (3): 830-34.
- F. Tripiet, J. Braunwald, L. J. Markovic, et A. Kirn. 1977. « Frog Virus 3 morphogenesis: effect of temperature and metabolic inhibitors ». *The Journal of general virology* 37 (novembre): 39-52.
- S. B. Thacker, R. G. Parrish, F. L. Trowbridge, et Surveillance Coordination Group. 1988. « A method for evaluating systems of epidemiological surveillance ». *World health statistics quarterly* 41: 11-18.
- K. Essani, et A. Granoff. 1989. « Amphibian and piscine iridoviruses proposal for nomenclature and taxonomy based on molecular and biological properties ». *Intervirology* 30 (4): 187-93.
- J. Gruia-Gray, M. Petric, et S. Desser. 1989. « Ultrastructural, biochemical and biophysical properties of an erythrocytic virus of frogs from Ontario, Canada ». *Journal of Wildlife Diseases* 25 (4): 497-506.
- R. Speare. 1990. « A Review of the diseases of the cane Toad, *Bufo marinus* , with comments on biological-control ». *Wildlife Research* 17 (4): 387-410.
- N. Fijan, Z. Matasin, I. Valpotic, et L. O. Zwillenberg. 1991. « Isolation of an iridovirus-like agent from the green frog (*Rana esculenta* L. ) ». *Veterinarski arhiv* 61: 151-58.
- R. Speare, W. J. Freeland, et S. J. Bolton. 1991. « A Possible Iridovirus in Erythrocytes of *Bufo marinus* in Costa Rica ». *Journal of Wildlife Diseases* 27 (3): 457-62.
- R. Speare, et J. R. Smith. 1992. « An iridovirus-like agent isolated from the ornate burrowing frog *Limnodynastes ornatus* in northern Australia ». *Diseases of Aquatic Organisms* 14: 51-57.
- J. Gruia-Gray, et S. S. Desser. 1992. « Cytopathological observations and epizootiology of frog erythrocytic virus in bullfrogs (*Rana catesbeiana*) ». *Journal of Wildlife Diseases* 28 (1): 34-41.
- N. J. G. Moody, et L. Owens. 1994. « Experimental demonstration of the pathogenicity of a frog virus, Bohle iridovirus, for a fish species, barramundi *Lates calcarifer* ». *Diseases of Aquatic Organisms* 18: 95-102.
- S. E. Drury, R. E. Gough, et A. A. Cunningham. 1995. « Isolation of an iridovirus-like agent from common frogs (*Rana temporaria* ) ». *The Veterinary Record* 137 (3): 72-73.  
<https://doi.org/10.1136/vr.137.3.72>.
- B. R. Cullen, L. Owens, et R. J. Whittington. 1995. « Experimental infection of Australian anurans (*Limnodynastes terraereginae* and *Litoria latopalmata*) with Bohle iridovirus ». *Diseases of Aquatic Organisms* 23 (2): 83-92.
- W. F. Laurance, K. R. McDonald, et R. Speare. 1996. « Epidemic disease and the catastrophic decline of australian Rain Forest frogs ». *Conservation Biology* 10 (2): 406-13.
- R. A. Gosser, et R. V. Collura. 1996. « Waste not, want not: Toe-clips as a source of DNA ». *Journal of Herpetology* 30 (3).

- A. A. Cunningham, T. E. S. Langton, P. M. Bennett, J. F. Lewin, S. E. N. Drury, R. E. Gough, et S. K. MacGregor. 1996. « Pathological and microbiological findings from incidents of unusual mortality of the common frog (*Rana temporaria*) ». *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 351 (1347): 1539-57.
- W. F. Laurance, K. R. McDonald, et R. Speare. 1997. « In defense of the epidemic disease hypothesis ». *Conservation Biology* 11 (4): 1030-34.
- R. A. Alford, et S. J. Richards. 1997. « Lack of evidence for epidemic disease as an agent in the catastrophic decline of Australian Rain Forest frogs ». *Conservation Biology* 11 (4): 1026-29.
- J. K. Jancovich, E. W. Davidson, J. F. Morado, B. Jacobs, et J. P. Collins. 1997. « Isolation of a lethal virus from the endangered tiger salamander *Ambystoma tigrinum stebbinsi* ». *Diseases of Aquatic Organisms* 31 (3): 161-67.
- M. Lampo, et G. A. De Leo. 1998. « The invasion ecology of the toad *Bufo marinus* : from South America to Australia ». *Ecological Applications* 8 (2).
- L. Berger, R. Speare, P. Daszak, D. E. Green, A. A. Cunningham, et al. 1998. « Chytridiomycosis causes amphibian mortality associated with population declines in the rain forests of Australia and Central America ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 95 (15): 9031-36.
- Z. Zupanovic, G. Lopez, A. D. Hyatt, B. Green, G. Bartran, H. Parkes, R. J. Whittington, et R. Speare. 1998a. « Giant toads *Bufo marinus* in Australia and Venezuela have antibodies against "ranaviruses" ». *Diseases of Aquatic Organisms* 32 (1): 1-8.
- Z. Zupanovic, C. G. Musso, G. F. Betancourt López, C. L. Louriero, A. D. Hyatt, S. H. Hengstberger, et A. J. Robinson. 1998b. « Isolation and characterization of iridoviruses from the giant toad *Bufo marinus* in Venezuela. » *Diseases of Aquatic Organisms* 33 (1): 1-9.
- P. Daszak, L. Berger, A. A. Cunningham, A. D. Hyatt, D. E. Green, et R. Speare. 1999. « Emerging infectious diseases and amphibian population declines ». *Emerging infectious diseases* 5 (6).
- J. E. Longcore, A. P. Pessier, et D. K. Nichols. 1999. « Batrachochytrium Dendrobatidis gen. et sp. nov., a Chytrid Pathogenic to Amphibians ». *Mycologia* 91 (2): 219.
- T. K. Bollinger, J. Mao, D. Schock, R. M. Brigham, et V. G. Chinchar. 1999. « Pathology, isolation, and preliminary molecular characterization of a novel iridovirus from Tiger salamanders in Saskatchewan ». *Journal of Wildlife Diseases* 35 (3): 413-29.
- C. Carey, N. Cohen, et L. Rollins-Smith. 1999. « Amphibian declines: an immunological perspective ». *Developmental & Comparative Immunology* 23 (6): 459-72.
- J. Mao, D. E. Green, G. Fellers, et V. G. Chinchar. 1999. « Molecular characterization of iridoviruses isolated from sympatric amphibians and fish ». *Virus Research* 63 (1-2): 45-52.
- A. D. Hyatt, A. R. Gould, Z. Zupanovic, A. A. Cunningham, S. Hengstberger, R. J. Whittington, J. Kattenbelt, et B. E. H. Coupar. 2000. « Comparative studies of piscine and amphibian iridoviruses ». *Archives of virology* 145 (2): 301-31.
- Q. Y. Zhang, F. Xiao, Z. Q. Li, J. F. Gui, J. Mao, et V. G. Chinchar. 2001. « Characterization of an iridovirus from the cultured pig frog *Rana grylio* with lethal syndrome ». *Diseases of Aquatic Organisms* 48: 27-36.
- J. K. Jancovich, E. W. Davidson, A. Seiler, B. L. Jacobs, et J. P. Collins. 2001. « Transmission of the *Ambystoma Tigrinum* Virus to alternative hosts ». *Diseases of aquatic organisms* 46 (3): 159-63.
- V. G. Chinchar. 2002. « Ranaviruses (family Iridoviridae): emerging cold-blooded killers ». *Archives of Virology* 147 (3): 447-70.
- J. P. Collins, et A. Storfer. 2003. « Global amphibian declines: sorting the hypotheses ». *Diversity and distributions* 9 (2): 89-98.
- P. Daszak, A. A. Cunningham, et A. D. Hyatt. 2003. « Infectious disease and amphibian population declines ». *Diversity and Distributions* 9 (2): 141-50.
- A. A. Cunningham, P. Daszak, et J. P. Rodriguez. 2003. « Pathogen pollution : defining a parasitological threat to biodiversity conservation ». *Journal of parasitology*, n° suppl. (janvier): S78-83.
- J. L. Brunner, D. M. Schock, E. W. Davidson, et J. P. Collins. 2004. « Intraspecific reservoirs : complex life history and the persistence of a lethal ranavirus ». *Ecology* 85 (2): 560-66.
- T. Williams, et V. Barbosa-Solomieu. 2005. « A decade of advances in Iridovirus research ». In *Advances in Virus Research*, 65:173-248. Elsevier.

- S. Rojas, K. Richards, J. K. Jancovich, et E. W. Davidson. 2005. « Influence of temperature on Ranavirus infection in larval salamanders *Ambystoma tigrinum* ». *Diseases of Aquatic Organisms* 63: 95-100.
- F. De Castro, et B. Bolker. 2005. « Mechanisms of disease-induced extinction ». *Ecology Letters* 8 (1): 117-26.
- L. J. Rachowicz, R. A. Knapp, J. A. T. Morgan, M. J. Stice, V. T. Vredenburg, J. M. Parker, et C. J. Briggs. 2006. « Emerging infectious disease as a proximate cause of amphibian mass mortality ». *Ecology* 87 (7): 1671-83.
- C. Gascon, IUCN Species Survival Commission, et IUCN/SSC Amphibian Conservation Summit. 2007. *Amphibian conservation action plan: proceedings : IUCN/SSC Amphibian Conservation Summit 2005*. Gland, Switzerland: World Conservation Union (IUCN).
- L. F. Skerratt, L. Berger, R. Speare, S. Cashins, K. R. McDonald, A. D. Phillott, H. B. Hines, et N. Kenyon. 2007. « Spread of Chytridiomycosis Has Caused the Rapid Global Decline and Extinction of Frogs ». *EcoHealth* 4 (2): 125.
- A. L. Greer, et J. P. Collins. 2007. « Sensitivity of a diagnostic test for amphibian Ranavirus varies with sampling protocol ». *Journal of Wildlife Diseases* 43 (3): 525-32.
- V. St-Amour, et D. Lesbarrères. 2007. « Genetic evidence of Ranavirus in toe clips: an alternative to lethal sampling methods ». *Conservation Genetics* 8 (5): 1247-50.
- M. J. Gray, D. L. Miller, A. C. Schmutzer, et C. A. Baldwin. 2007. « Frog virus 3 prevalence in tadpole populations inhabiting cattle-access and non-access wetlands in Tennessee, USA ». *Diseases of Aquatic Organisms* 77 (septembre): 97-103.
- J. L. Brunner, D. M. Schock, et J. P. Collins. 2007. « Transmission dynamics of the amphibian ranavirus *Ambystoma Tigrinum Virus* ». *Diseases of Aquatic Organisms* 77 (septembre): 87-95.
- A. A. Cunningham, A. D. Hyatt, P. Russell, et P. M. Bennett. 2007. « Emerging epidemic diseases of frogs in Britain are dependent on the source of ranavirus agent and the route of exposure ». *Epidemiology and Infection* 135 (7): 1200-1212.
- A. Storfer, M. E. Alfaro, B. J. Ridenhour, J. K. Jancovich, S. G. Mech, M. J. Parris, et J. P. Collins. 2007. « Phylogenetic concordance analysis shows an emerging pathogen is novel and endemic ». *Ecology Letters* 10 (11): 1075-83.
- S. N. Stuart, M. Hoffman, J. S. Chanson, N. A. Cox, R. J. Berridge, P. Ramani, et B. E. Young, éd. 2008. *Threatened amphibians of the world*. 1. ed. Barcelona: Lynx.
- K. M. Mitchell, T. S. Churcher, T. W. J. Garner, et M. C. Fisher. 2008. « Persistence of the emerging pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* outside the amphibian host greatly increases the probability of host extinction ». *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 275 (1632): 329-34.
- D. B. Wake, et V. T. Vredenburg. 2008. « Are we in the midst of the sixth mass extinction? A view from the world of amphibians ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105 (Supplement 1): 11466-73.
- A. Alves de Matos, M. F. Caeiro, R. E. Marschang, T. Papp, C. Soares, M. R. Marçal, et M. A. Carretero. 2008. « Adaptation of Ranaviruses from Peneda-Gerês National Park (Portugal) to Cell Cultures and their Characterization ». *Microscopy and Microanalysis* 14 (3): 139-40.
- V. G. Chinchar, A. D. Hyatt, T. Miyazaki, et T. Williams. 2009. « Family Iridoviridae: poor viral relations no longer ». *Current Topics in Microbiology and Immunology* 328: 123-70.
- V. Hemingway, J. Brenner, R. Speare, et L. Berger. 2009. « Viral and Bacterial Diseases of Amphibians ». In *Amphibian biology*, 2963-78.
- A. Balseiro, K. P. Dalton, A. del Cerro, I. Marquez, A. A. Cunningham, F. Parra, J. M. Prieto, et R. Casais. 2009. « Pathology, isolation and molecular characterisation of a ranavirus from the common midwife toad *Alytes obstetricans* on the Iberian Peninsula ». *Diseases of Aquatic Organisms* 84 (avril): 95-104.
- L. M. Schloegel, A. M. Picco, A. Marm Kilpatrick, A. J. Davies, A. D. Hyatt, et P. Daszak. 2009. « Magnitude of the US trade in amphibians and presence of *Batrachochytrium dendrobatidis* and ranavirus infection in imported North American bullfrogs (*Rana catesbeiana*) ». *Biological Conservation* 142 (7): 1420-26.

- M. C. Fisher, T. W. J. Garner, et S. F. Walker. 2009. « Global Emergence of *Batrachochytrium dendrobatidis* and Amphibian Chytridiomycosis in Space, Time, and Host ». *Annual Review of Microbiology* 63 (1): 291-310.
- J. Voyles, S. Young, L. Berger, C. Campbell, W. F. Voyles, et al. 2009. « Pathogenesis of Chytridiomycosis, a Cause of Catastrophic Amphibian Declines ». *Science* 326 (5952): 582-85.
- A. L. J. Duffus, et A. A. Cunningham. 2010. « Major disease threats to European amphibians ». *The Herpetological Journal* 20 (3): 117-27.
- Plateforme ESA. 2010. « OASIS - Procédure d'évaluation des dispositifs de surveillance avec l'outil OASIS, dans le cadre des activités de la Plateforme ESA ».
- L. M. Schloegel, P. Daszak, A. A. Cunningham, R. Speare, et B. Hill. 2010. « Two amphibian diseases, chytridiomycosis and ranaviral disease, are now globally notifiable to the World Organization for Animal Health (OIE): an assessment ». *Diseases of Aquatic Organisms* 92 (3): 101-8.
- J. T. Hoverman, M. J. Gray, et D. L. Miller. 2010. « Anuran susceptibilities to ranaviruses: role of species identity, exposure route, and a novel virus isolate ». *Diseases of Aquatic Organisms* 89 (mars): 97-107.
- A. G. F. Teacher, A. A. Cunningham, et T. W. J. Garner. 2010. « Assessing the long-term impact of Ranavirus infection in wild common frog populations: Impact of Ranavirus on wild frog populations ». *Animal Conservation* 13 (5): 514-22.
- F. Boué, M. Chazel, C. Danan, B. Dufour, F. Gauchard, et al. 2010. « OASIS - Outil d'analyse de systèmes d'information en santé- Rapport du groupe de travail ANSES ». Groupe épidémiosurveillance ANSES sur l'outil OASIS. ANSES.
- D. L. Miller, et M. J. Gray. 2010. « Amphibian decline and mass mortality: The value of visualizing ranavirus in tissue sections ». *The Veterinary Journal* 186 (2): 133-34.
- A. Balseiro, K. P. Dalton, A. del Cerro, I. Márquez, F. Parra, J. M. Prieto, et R. Casais. 2010. « Outbreak of common midwife toad virus in alpine newts (*Mesotriton alpestris cyreni*) and common midwife toads (*Alytes obstetricans*) in Northern Spain: A comparative pathological study of an emerging ranavirus ». *The Veterinary Journal* 186 (2): 256-58.
- J. T. Hoverman, M. J. Gray, N. A. Haislip, et D. L. Miller. 2011. « Phylogeny, life History, and ecology contribute to differences in amphibian susceptibility to ranaviruses ». *EcoHealth* 8 (3): 301-19.
- P. Hendrikx, E. Gay, M. Chazel, F. Moutou, C. Danan, et al. 2011. « OASIS: an assessment tool of epidemiological surveillance systems in animal health and food safety ». *Epidemiology and Infection* 139 (10): 1486-96.
- M. Kik, A. Martel, A. Spitzen-van der Sluijs, F. Pasmans, P. Wohlsein, A. Gröne, et J. M. Rijks. 2011. « Ranavirus-associated mass mortality in wild amphibians, the Netherlands, 2010: a first report ». *Veterinary Journal* 190 (2): 284-86.
- D. L. Miller, M. Gray, et A. Storfer. 2011. « Ecopathology of ranaviruses infecting amphibians ». *Viruses* 3 (11): 2351-73.
- G.T. ANSES. 2011. « OASIS - Guide de notation ».
- M. Sharifian-Fard, F. Pasmans, C. Adriaensen, S. Devisscher, T. Adriaens, G. Louette, et A. Martel. 2011. « Ranaviruses in invasive bullfrogs, Belgium ». *Emerging Infectious Diseases* 17 (12).
- M. Millerioux, T. Dejean, C. Miaud, et M. Artois. 2012. « Les infections à Ranavirus chez les amphibiens ». *Bulletin de société herpétologique française*, n° 141: 23-46.
- N. M. M. Reeder, A. P. Pessier, et V. T. Vredenburg. 2012. « A Reservoir Species for the Emerging Amphibian Pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* Thrives in a Landscape Decimated by Disease ». Édité par A. P. Litvintseva. *PLoS ONE* 7 (3).
- M. J. Gray, D. L. Miller, et J. T. Hoverman. 2012. « Reliability of non-lethal surveillance methods for detecting ranavirus infection ». *Diseases of Aquatic Organisms* 99 (1): 1-6.
- S. Gorecki, D. Calavas, A. Fediaevsky, F. Chevalier, et P. Hendrikx. 2012. « Évaluation du dispositif national de surveillance épidémiologique de la tuberculose bovine en France à l'aide de la méthode OASIS ». *Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation*, n° 51 (juin): 9-12.
- D. Lesbarrères, A. Balseiro, J. Brunner, V. G. Chinchar, A. Duffus, et al. 2012. « Ranavirus: past, present and future ». *Biology Letters* 8 (4): 481-83.

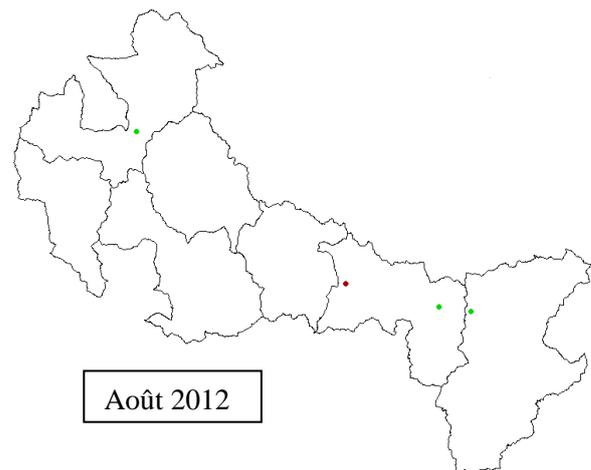
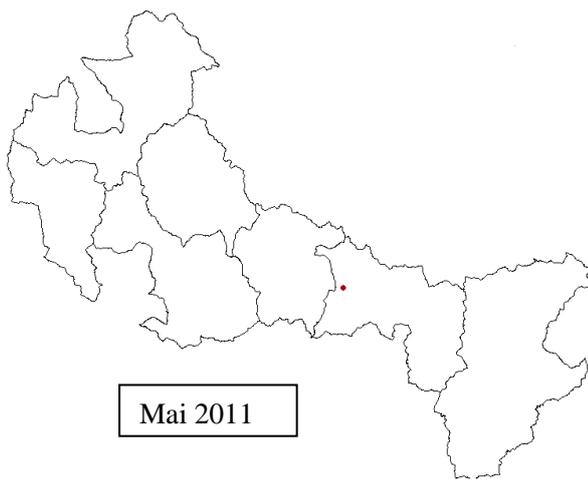
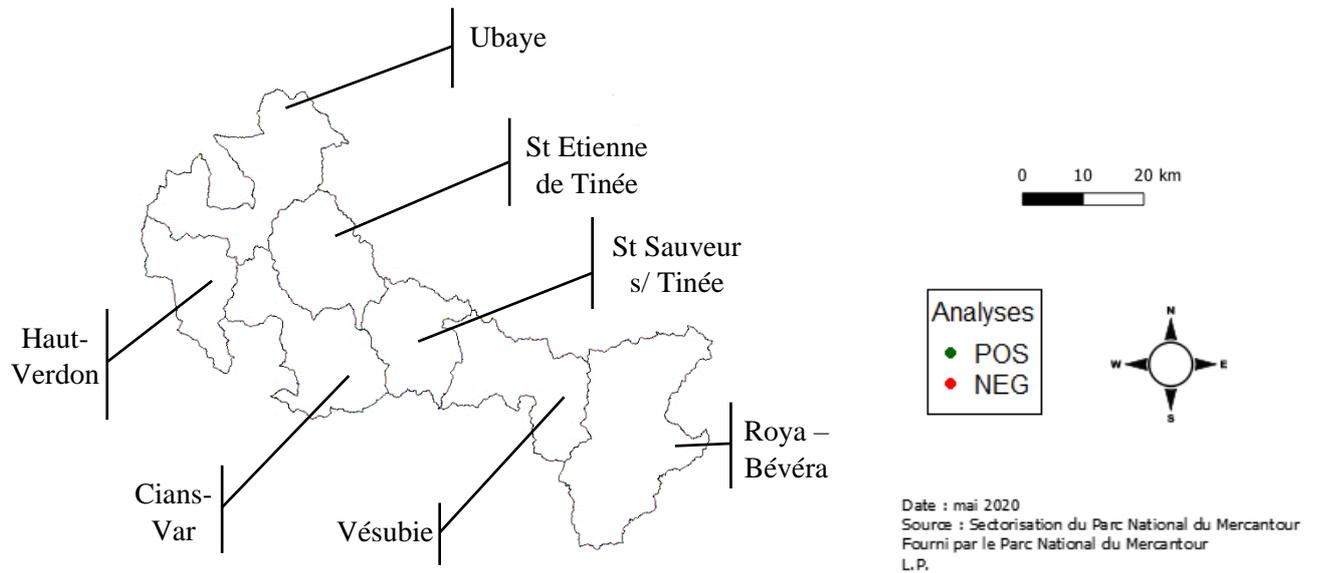
- A. L. J. Duffus, R. A. Nichols, et T. W. J. Garner. 2013. « Investigations into the life history stages of the Common frog (*Rana temporaria*) affected by an amphibian ranavirus in the UK ». *Herpetological review* 44 (2): 260-63.
- C. Miaud. 2013. « Un champignon menace les amphibiens : qu'avons-nous appris sur la chytridiomycose ? » *Le courrier de la nature*, n° 277: 30-36.
- A. L. J. Duffus, et A. M. Andrews. 2013. « Phylogenetic analysis of a Frog Virus 3–Like ranavirus found at a site with recurrent mortality and morbidity events in Southeastern Ontario, Canada: Partial Major Capsid Protein sequence alone is not sufficient for fine-scale differentiation ». *Journal of Wildlife Diseases* 49 (2): 464-67.
- T. M. Doherty-Bone, R. K. Ndifon, O. N. Nyingchia, F. E. Landrie, F. T. Yonghabi, et al. 2013. « Morbidity and mortality of the Critically Endangered Lake Oku clawed frog *Xenopus longipes* ». *Endangered Species Research* 21 (2): 115-28.
- A. Martel, A. Spitzen-van der Sluijs, M. Blooi, W. Bert, R. Ducatelle, et al. 2013. « Batrachochytrium salamandrivorans sp. nov. causes lethal chytridiomycosis in amphibians ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 110 (38): 15325-29.
- E. Wauters, et C. Rojo-Gimeno. 2014. « Socio-psychological veterinary epidemiology : a new discipline for an old problem ». In . Dublin.
- V. G. Chinchar, et T. B. Waltzek. 2014. « Ranaviruses: not just for frogs ». Édité par R. C. Condit. *PLoS Pathogens* 10 (1).
- W. B. Sutton, M. J. Gray, R. H. Hardman, R. P. Wilkes, A. J. Kouba, et D. L. Miller. 2014. « High susceptibility of the endangered dusky gopher frog to ranavirus ». *Diseases of Aquatic Organisms* 112 (1): 9-16.
- J. E. Earl, et M. J. Gray. 2014. « Introduction of ranavirus to isolated wood frog populations could cause local extinction ». *EcoHealth* 11 (4): 581-92.
- D. L. Miller, A. P. Pessier, P. Hick, et R. J. Whittington. 2015. « Comparative pathology of ranaviruses and diagnostic techniques ». In *Ranaviruses*, édité par M. Gray et V. G. Chinchar.
- M. Lhubert, E. Réveillaud, L. Cavalerie, et P. Hendriks. 2015. « Évaluation du dispositif de surveillance de la tuberculose bovine dans la faune sauvage en France à l'aide de la méthode OASIS "flash" et recommandations. » *Epidémiologie et santé animale* 68: 105-19.
- J. K. Jancovich, N. K. Steckler, et T. B. Waltzek. 2015. « Ranavirus Taxonomy and Phylogeny ». In *Ranaviruses*, édité par M. Gray et V. G. Chinchar, 13.
- A. C. Stöhr, A. López-Bueno, S. Blahak, M. F. Caeiro, G. M. Rosa, A. P. Alves de Matos, A. Martel, A. Alejo, et R. E. Marschang. 2015. « Phylogeny and differentiation of reptilian and amphibian ranaviruses detected in Europe ». *PLOS ONE* 10 (2).
- S. J. A. Kimble, A. K. Karna, A. J. Johnson, J. T. Hoverman, et R. N. Williams. 2015. « Mosquitoes as a potential vector of ranavirus transmission in terrestrial turtles ». *EcoHealth* 12 (2): 334-38.
- A. C. North, D. J. Hodgson, S. J. Price, et A. G. F. Griffiths. 2015. « Anthropogenic and ecological drivers of amphibian disease (Ranavirosis) ». Édité par J. L. Kerby. *PLOS ONE* 10 (6).
- A. Chambouvet, D. J. Gower, M. Jirků, M. J. Yabsley, A. K. Davis, et al. 2015. « Cryptic infection of a broad taxonomic and geographic diversity of tadpoles by Perkinsea protists ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 112 (34).
- J. P. Amat, P. Hendriks, J. Tapprest, A. Leblond, et B. Dufour. 2015. « Comparative evaluation of three surveillance systems for infectious equine diseases in France and implications for future synergies ». *Epidemiology and Infection* 143 (14): 3122-33.
- A. Catenazzi. 2015. « State of the world's amphibians ». *Annual Review of Environment and Resources* 40 (1): 91-119.
- C. Calba, F. L. Goutard, L. Hoinville, P. Hendriks, A. Lindberg, C. Saegerman, et M. Peyre. 2015. « Surveillance systems evaluation: a systematic review of the existing approaches ». *BMC Public Health* 15 (1).
- E. M. Hall, E. J. Crespi, C. S. Goldberg, et J. L. Brunner. 2016. « Evaluating environmental DNA-based quantification of ranavirus infection in wood frog populations ». *Molecular Ecology Resources* 16 (2): 423-33.
- C. Miaud, F. Pozet, N. Curt Grand Gaudin, A. Martel, F. Pasmans, et S. Labrut. 2016. « Ranaviruse causes mass die-offs of alpine amphibians in the southwestern alps, france ». *Journal of Wildlife Diseases* 52 (2): 242-52.

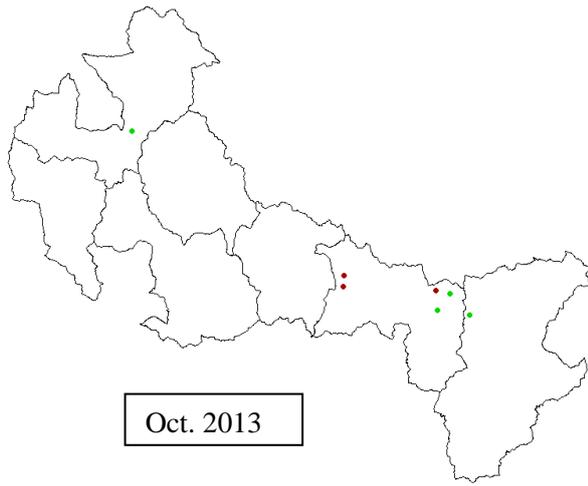
- Parcs nationaux. 2017. « Contribution des parcs nationaux français à une stratégie sanitaire pour la faune sauvage de métropole 2017-2027 ». Ministère de la transition écologique et solidaire.
- VetAgro Sup et EVAAS. 2017. « Rapport de synthèse du séminaire “Vers une stratégie sanitaire pour les parcs nationaux” ».
- G. M. Rosa, J. Sabino-Pinto, T. G. Laurentino, A. Martel, F. Pasmans, et al. 2017. « Impact of asynchronous emergence of two lethal pathogens on amphibian assemblages ». *Scientific Reports* 7 (1).
- P. Hendrikx, MP. Chauzat, C. Sourdeau, et A. Bronner. 2017. « Evaluation du dispositif de surveillance des mortalités massives aiguës des abeilles en France métropolitaine ». ANSES.
- S. J. Price, E. Ariel, A. Maclaine, G. M. Rosa, M. J. Gray, J. L. Brunner, et T. W. J. Garner. 2017. « From fish to frogs and beyond: Impact and host range of emergent ranaviruses ». *Virology* 511 (novembre): 272-79.
- V. G. Chinchar, T. B. Waltzek, et K. Subramaniam. 2017. « Ranaviruses and other members of the family Iridoviridae: Their place in the virosphere ». *Virology* 511 (novembre): 259-71.
- A. A. Cunningham. 2018. « Infectious disease threats to amphibian conservation ». In *The Glasgow Naturalist*. Vol. 27. Glasgow Natural History Society.
- L. J. Campbell, T. W. J. Garner, G. Tessa, B. C. Scheele, A. G. F. Griffiths, L. Wilfert, et X. A. Harrison. 2018. « An emerging viral pathogen truncates population age structure in a European amphibian and may reduce population viability ». *PeerJ* 6 (novembre).
- F. C. Origgi, B. R. Schmidt, P. Lohmann, P. Otten, R. K. Meier, et al. 2018. « *Bufo* *herpesvirus* 1 (BfHV1) associated dermatitis and mortality in free ranging common toads (*Bufo bufo*) in Switzerland ». *Scientific Reports* 8 (1).
- S. Hadibi, et P. Hendrikx. 2019. « Évaluation initiale du volet surveillance de la faune sauvage de la stratégie sanitaire pour la faune sauvage de métropole des Parcs nationaux de France ». Rapport d'évaluation. ANSES / Parcs nationaux.
- H. K. Tiwari, M. O'Dea, I. D. Robertson, et A. T. Vanak. 2019. « Knowledge, attitudes and practices (KAP) towards rabies and free-roaming dogs (FRD) in Shirsuphal village in western India: A community based cross-sectional study ». Édité par S. Kamhawi. *PLOS Neglected Tropical Diseases* 13 (1).
- B. C. Scheele, F. Pasmans, L. F. Skerratt, L. Berger, A. Martel, et al. 2019. « Amphibian fungal panzootic causes catastrophic and ongoing loss of biodiversity ». *Science* 363 (6434): 1459-63.
- C. Miaud, V. Arnal, M. Poulain, A. Valentini, et T. Dejean. 2019. « eDNA increases the detectability of ranavirus infection in an Alpine amphibian population ». *Viruses* 11 (6).
- U. K. Sarkar, M. Naskar, P. K. Srivastava, K. Roy, S. Das Sarkar, et al. 2019. « Climate-environmental influence on breeding phenology of native catfishes in River Ganga and modeling species response to climatic variability for their conservation ». *International Journal of Biometeorology* 63 (8): 991-1004.
- S. Allain, et A. Duffus. 2019. « Emerging infectious disease threats to European herpetofauna ». *Herpetological Journal*, n° Volume 29, Number 4 (octobre): 189-206.
- S. A. Osofsky. 2019. « The global burden of (how we manage) animal disease : learning lessons from Southern Africa ». *Journal of Wildlife Diseases* 55 (4): 755.
- J. H. Kim. 2019. « Multicollinearity and misleading statistical results ». *Korean Journal of Anesthesiology* 72 (6): 558-69.
- X. A. Harrison, S. J. Price, K. Hopkins, W. T. M. Leung, C. Sergeant, et T. W. J. Garner. 2019. « Diversity-stability dynamics of the amphibian skin microbiome and susceptibility to a lethal viral pathogen ». *Frontiers in Microbiology* 10 (décembre).
- E. Vetter, E. DeArment, C. Russell, A. Fontes, et L. Kats. 2020. « Decline in amphibian health in local stream ». Natural Science division, Pepperdine University, Malibu, CA.
- J. Vörös, D. Herczeg, T. Papp, C. Monsalve-Carcaño, et J. Bosch. 2020. « First detection of Ranavirus infection in amphibians in Hungary ». *Herpetology notes* 13: 213-17.
- M. von Essen, W. T. M. Leung, J. Bosch, S. Pooley, C. Ayres, et S. J. Price. 2020. « High Pathogen Prevalence in an Amphibian and Reptile Assemblage at a Site with Risk Factors for Dispersal in Galicia, Spain ». *PLOS ONE* 15 (7).

- N. A. Lopez Vargas, L. Adamovicz, B. Willeford, B. F. Allan, et M. C. Allender. 2020. « Lack of molecular detection of frog virus 3-like ranavirus (FV3) in mosquitoes during natural outbreak and nonoutbreak conditions ». Édité par E. Ariel. *FACETS* 5 (1): 812-20.
- M. Dalibard, L. Buisson, A. Riberon, et P. Laffaille. 2020. « Identifying threats to Pyrenean brook newt (*Calotriton asper*) to improve decision making in conservation management: A literature review complemented by expert-driven knowledge ». *Journal for Nature Conservation* 54 (avril).
- L. J. Campbell, A. H. Pawlik, et X. A. Harrison. 2020. « Amphibian Ranaviruses in Europe: Important Directions for Future Research ». *FACETS* 5 (août): 598-614.
- F. Castro Monzon, M-O. Rödel, et J. M. Jeschke. 2020. « Tracking *Batrachochytrium dendrobatidis* Infection Across the Globe ». *EcoHealth* 17 (3): 270-79.
- L. A. Brannelly, D. P. Wetzel, M. E. B. Ohmer, L. Zimmerman, V. Saenz, et C. L. Richards-Zawacki. 2020. « Evaluating Environmental DNA as a Tool for Detecting an Amphibian Pathogen Using an Optimized Extraction Method ». *Oecologia* 194 (1-2): 267-81.
- M. Licheri, et F. C. Origgi. 2020. « Consensus PCR protocols for the detection of amphibian herpesviruses (*Batrachovirus*) ». *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 32 (6): 864-72.
- S. N. Othman, F. Chuang, H. Kang, Y. Bae, A. Kim, Y. Jang, et A. Borzée. 2020. « Methodological guidelines for minimally invasive tail-clipping: a case study on *Rana huanrenensis* tadpoles ». *Asian Journal of Conservation Biology* 9 (2): 188-95.
- European comission. 2021. « European Distribution of Bsal ». *BsalEurope : Mitigating *Batrachochytrium Salamandrivorans* in Europe* (blog). 2021. <http://bsaleurope.com/european-distribution/>.
- W. Wirth, D. Lesbarrères, et E. Ariel. 2021. « Ten years of ranavirus research (2010–2019): an analysis of global research trends ». *FACETS* 6 (1): 44-57.
- R. Mader, N. Jarrige, M. Haenni, C. Bourély, J.-Y. Madec, et J.-P. Amat. 2021. « OASIS evaluation of the French surveillance network for antimicrobial resistance in diseased animals (RESAPATH): success factors at the basis of a well-performing volunteer system ». Preprint - Biorxiv. Microbiology. <https://doi.org/10.1101/2021.04.07.438805>.
- J. Park, A. Grajal-Puche, N.-H. Roh, I.-K. Park, N.-Y. Ra, et D. Park. 2021. « First detection of ranavirus in a wild population of Dybowski's brown frog (*Rana dybowskii*) in South Korea ». *Journal of Ecology and Environment* 45 (1): 2.
- A. L. J. Duffus, et S. Jackson. n.d. « Iridovirus phylogenetics : Is the major capsid protein enough ? » Gordon (Gordon state college, Barnesville, GA, USA).

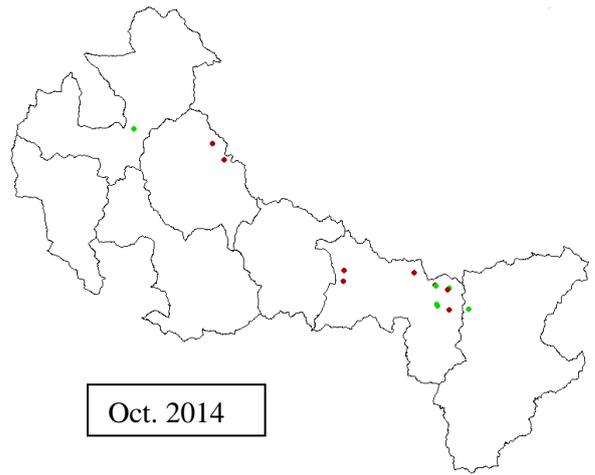
## Annexes

### Annexe 1 : Évolution spatio-temporelle des analyses de mortalité d'amphibiens en fonction du statut infectieux ranavirus dans le PNM

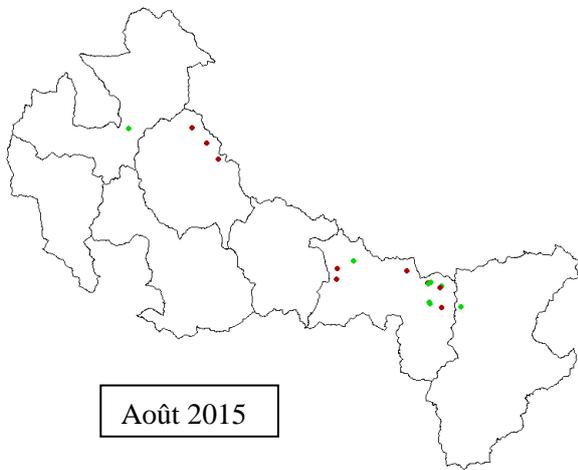




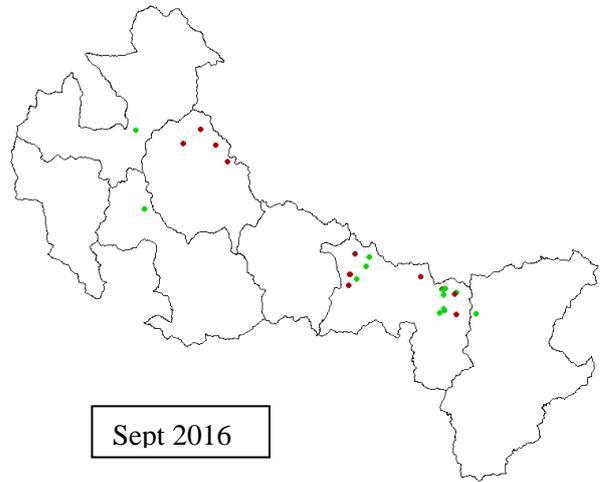
Oct. 2013



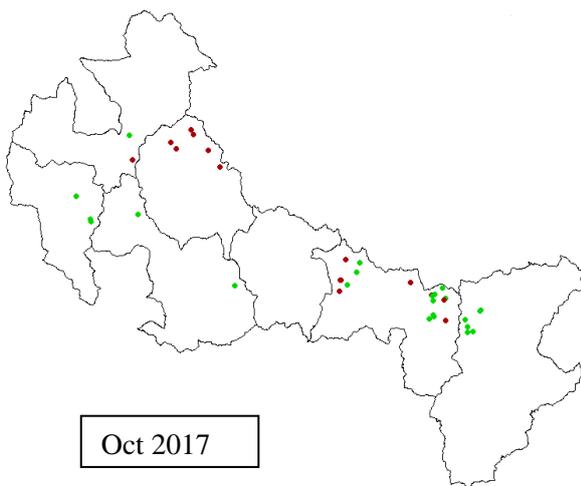
Oct. 2014



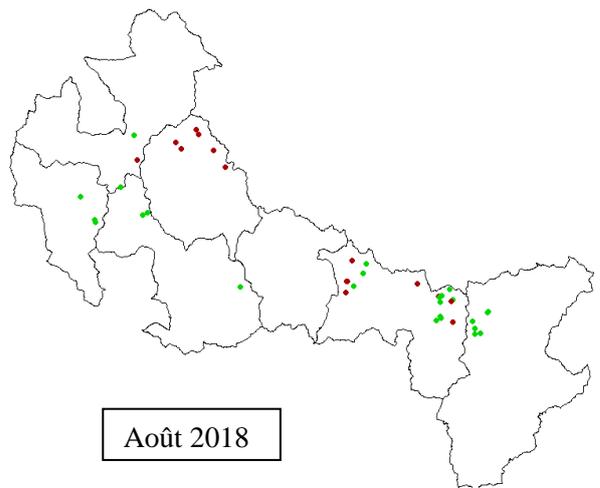
Août 2015



Sept 2016



Oct 2017



Août 2018



### Annexe 3 : Résultats des tests de colinéarité entre variables

	Température	Date (J juliens)	Délaï analyse	Organe	Etat collecte	Frequentation	Accessibilité	Usage	Pastoralisme	Stade de dev	Alevinage	Type de lac	Volume lac
Date	p<0,001 df=1 chi²=11,67												
Délaï analyse	p=0,023 df=1 chi²=5,19	p<0,001 R=0,487 R²=0,237											
Organe	p=0,022 df=2 chi²=7,61	p=0,84	p<0,001 df=2 chi²=14,17										
Etat collecte	p=0,1	p=0,56	p=0,27	p<0,001 df=2 chi²=46,33	p<0,001 df=1 chi²=27,19								
Frequentation	p=0,76	p=0,89	p=0,72	p=0,95	p<0,001 df=3 chi²=24,30	p=0,0026 df=3 chi²=14,23							
Accessibilité	p=0,56	p=0,09	p=0,22	p=0,45	p<0,001 df=3 chi²=24,30	p<0,001 df=3 chi²=14,23	p<0,001 df=3 chi²=47,47						
Usage	p=0,55	p=0,17	p=0,17	p=0,26	p<0,001 df=3 chi²=28,18	p<0,001 df=3 chi²=28,18	p<0,001 df=3 chi²=47,47	p=0,002 df=3 chi²=15,079					
Pastoralisme	p=0,98	p=0,37	p=0,65	p=0,40	p<0,001 df=1 chi²=37,50	p<0,001 df=1 chi²=73,01	p<0,001 df=1 chi²=16,65						
Stade de dev	p=0,45	p=0,98	p=0,99	p<0,001 df=1 chi²=30,07	p=0,11	p<0,001 df=1 chi²=11,35	p=0,32	p=0,06	p<0,001 df=1 chi²=21,51				
Alevinage	p=0,89	p=0,68	p=0,01 df=1 chi²=6,69	p=0,68	p=0,005 df=1 chi²=7,61	p=0,014 df=1 chi²=6,06	p=0,0062 df=1 chi²=7,49	p<0,001 df=3 chi²=57,83		p=0,0038 df=1 chi²=7,61			
Type lac	p=0,45	p=0,65	p=0,09	p=0,53	p=0,002 df=3 chi²=14,48	p=0,006 df=3 chi²=6,35	p=0,99	p=0,56	p=0,01 df=1 chi²=6,23	p=0,37	p=0,30		
Volume lac	p=0,95	p=0,76	p=0,18	p=0,18	p<0,001 df=1 chi²=40,36	p<0,001 df=1 chi²=63,35	p<0,001 df=3 chi²=37,35	p<0,001 df=3 chi²=58,03	p<0,001 df=1 chi²=64,84	p<0,001 df=1 chi²=19,79	p<0,001 df=1 chi²=29,24	p<0,001 df=22 chi²=97	

Les résultats présentés sont ceux des tests de kruskall wallis (fond blanc) ou des tests de corrélation de kendall (fond orange).

Les cases sur fond bleu sont les résultats positifs de corrélation entre variables ayant un effet en univarié (test de Kruskal-Wallis).

En rouge les résultats non significatifs (p>0.05).

Les variables avec trop peu de données n'ont pas été testées et n'apparaissent pas dans le tableau :

- Sexe de l'amphibien,
- Gel du lac,
- Assèchement du lac,
- Présence de vairons,
- Présence de poissons

#### **Annexe 4 : Définition des différentes unités du réseau de surveillance**

- **Comité de pilotage** : groupe de personnes en charge de fixer les grandes orientations et les objectifs du réseau. Généralement composé des décideurs des organisations incluses dans le réseau de surveillance.
- **Comité scientifique et technique** : regroupe les personnes en mesure de concevoir et faire évoluer les protocoles et outils de surveillance en fonction des objectifs et de la situation globale. Il constitue un soutien scientifique & technique et conseil le comité de pilotage. Peut-être confondu avec le comité de pilotage
- **Unité centrale** : ensemble des personnes responsables de la centralisation des données, de leur analyse et de leur diffusion. Anime la surveillance et rend compte des résultats au comité de pilotage. Généralement dirigé par le ou les animateurs.
- **Unités intermédiaires & Unités locales** : unité entre les collecteurs de donnée et l'unité centrale. En charge de coordonner les activités de terrain et de réaliser une première étape de tri et validation des données.
- **Sources de données** : ensemble des personnes intervenantes dans la récupération des données brutes sur le terrain. Dans le réseau présenté les sources de données sont confondues avec les **collecteurs de données**.

## Annexe 5 : Termes et conditions de l'évaluation, transmis aux responsables du réseau pour validation de la démarche avant mise en application

### Projet d'évaluation de l'épidémiosurveillance des amphibiens dans les parcs nationaux français métropolitains

Etudiant à l'école vétérinaire de Toulouse en dernière année, je prépare mon projet de fin de master 2 Gestion Intégrée des Maladies Animales (Tropicales). Ce master représentant mon année d'approfondissement. Dans le cadre de ces travaux, je réalise une étude sur la mortalité due à des ranavirus dans le Parc National du Mercantour et les autres parcs nationaux (PN) de montagne et de forêt. Cette étude comprend notamment un volet d'**évaluation des systèmes d'épidémiosurveillance des amphibiens dans les PN**. A cette fin, le parc national **nom du parc** est invité à prendre part à cette évaluation, qui est financée et approuvée par la fédération des parcs dans la continuité de l'évaluation de la stratégie sanitaire qui a eu lieu en 2019 [a].

La réalisation de l'évaluation se fait selon la méthode OASIS [b], en 4 grandes étapes :

- 1) Constitution de l'équipe d'évaluation (T. Durand<sup>1</sup>, C. Miaud<sup>2</sup>, S. Larrat<sup>3</sup>, L. Palumbo) et détermination des termes de l'évaluation.
- 2) Rencontres avec les responsables et animateurs du système de surveillance de chaque parc et première réunion bilan par l'équipe d'évaluation.  
⇒ En tant que personnes référentes du dispositif pour le parc **nom du parc**, vous serez interviewés lors de cette phase.
- 3) Rencontres avec les différents acteurs de terrain (agents du parc, personnel de laboratoire, ...) et deuxième réunion bilan.  
⇒ Différents agents du parc seront interviewés par l'équipe d'évaluation, ainsi que des personnes extérieures (personnel de laboratoire, partenaires, ...). Un planning des entretiens, qui auront lieu au premier trimestre 2021, sera établi prochainement.
- 4) Concertation et évaluation finale. Rédaction des recommandations. Restitution.

Le résultat de l'évaluation sera une synthèse des systèmes de surveillance des six PN enquêtés. Cette évaluation conduira à une liste de recommandations hiérarchisées pour l'amélioration de cette surveillance à l'échelle nationale, et également des recommandations individualisées pour les différents parcs, tenant compte des spécificités de chaque situation.

En amont des entretiens, un questionnaire vous sera adressé : il a pour objectif de recueillir des éléments généraux sur les spécificités du parc et de son dispositif de surveillance. Cette phase préliminaire permettra de préparer au mieux les entretiens et de cibler les intervenants à interroger. Il vous permettra également de prendre connaissance des grandes thématiques abordées lors de l'évaluation. La réponse à ce questionnaire, n'est pas obligatoire et peut être partielle, mais est vivement souhaitée.

#### Références

[a] S. HADIBI and P. HENDRIKX, 2019. *Évaluation initiale du volet surveillance de la faune sauvage de la stratégie sanitaire pour la faune sauvage de métropole des Parcs nationaux de France*. ANSES / PN.

[b] F. BOUÉ, et al., 2010. *OASIS - Outil d'analyse de systèmes d'information en santé- Rapport du groupe de travail ANSES*. ANSES. Groupe épidémiosurveillance ANSES sur l'outil OASIS.

<sup>1</sup> Directeur adjoint PN Ecrins et interlocuteur pour la stratégie sanitaire des PN

<sup>2</sup> Directeur d'études EPHE, UMR 5175, CEFÉ, Montpellier

<sup>3</sup> Vétérinaire consultant, Pôle EVAAS, VetagroSup, Lyon





Parc National	Personne référente répondant (Nom/ fonction) :	Date :
.....	.....	.....

**En cas de réponse négative aux deux questions précédentes merci de retourner le questionnaire sans répondre à la 2<sup>ème</sup> partie.**

**2<sup>ème</sup> partie : Surveillance sanitaire des amphibiens**

- **Quelles sont la (les) espèce(s) suivie(s) ?** *S'il s'agit de toutes les espèces présentes ne pas re-lister*
  
- **Quel(s) est (sont) le(s) objet(s) de la surveillance ?** *Disposez-vous d'une définition de cas ? Si oui, précisez.*
  
- **Y a-t-il une (des) personne(s) référente(s) de ce programme ? Y a-t-il une (des) personne(s) en charge de l'animation du programme ?** *(Préciser le nom, la fonction au sein du PN et les missions au sein du dispositif)*
  
- **Combien d'agents sont affectés à cette surveillance ? Quel part de leur temps de travail y est consacré ? Y travaillent-ils régulièrement ou ponctuellement ?** *Si l'information est inconnue, estimer le nombre d'ETP pour le parc par an ou passer directement à la question suivante. Si possible, fournir une liste nominative avec date de prise de fonction.*
  
- **Quelle est la nature des informations collectées par les agents ? Un support est-il utilisé pour la collecte des informations ?** *Si oui, le(s)quel(s)*



Parc National	Personne référente répondant (Nom/ fonction) :	Date :
.....	.....	.....

- **Des analyses de laboratoire sont-elles réalisées dans le cadre de cette surveillance ? Par quel organisme ? Comment et à quelle fréquence les échantillons sont-ils envoyés au laboratoire ?**
  
- **Les visiteurs du parc sont-ils impliqués dans le dispositif ? Par quel(s) moyen(s) ?**
  
- **Disposez-vous d'un (des) document(s) relatif(s) à cette surveillance de la santé des amphibiens ?** *Lister les documents. Prévoir de pouvoir le(s) consulter lors des entretiens*
  
- **Le parc organise-t-il des formations / sensibilisations sur des thématiques de santé et/ou des thématiques amphibiens ?** *Si oui, en préciser la nature.*

**MERCI pour votre réponse !**

**A prévoir lors de la réalisation des entretiens**

*(Si ces éléments sont inexistantes ou confidentiels merci de le préciser ci-dessous)*

- Organigramme du parc et document(s) administratif(s) de(s) partenariat(s)
- Résultats d'analyse de laboratoire *(document fourni par le laboratoire)*
- Budget alloué au programme de santé des amphibiens (annuel et/ou global depuis création)
- Accès à la base de données / archives / document(s) du dispositif
- Prévoir une « visite » des lieux de stockage des prélèvements



**Annexe 7** : Panel de validation de l'évaluation après attribution des notes et commentaires par l'équipe d'évaluation

La réunion de validation a été préparée en amont par l'ensemble de l'équipe d'évaluation et a eu lieu en visio-conférence le 19/05/21 en présence d'une partie des évaluateurs.

Pour les personnes absentes le 19/05 un échange en visio-conférence a été proposé le 29/04, en présence de T. Durand, S. Larrat et L. Palumbo, afin de présenter les résultats et recueillir les remarques d'un maximum de partenaire.

Nom et prénom	Affiliation	Présence / absence
Véronique Arnal	UMR5175, CEFE, CNRS	Absente (présente 29/04)
Jérôme Cavailhes	PNV	Présent
Jérôme Lafitte	PNP	Absent
Benoît Deffrennes	PNC	Présent
Yoann Bunz	PNE	Présent
Marie-France Leccia	PNM	Présente
Anouk Decors	OFB - SAGIR	Absente
Lorette Hivert	OFB - Epifaune	Présente
Guillaume Le Loc'h	UMR IHAP, ENVT	Présent
Emmanuelle Gilot-Fromont	VetAgro Sup, pôle EVAAS	Présente
Pascal Hendrikx	CIRAD	Présent
Dirk Schmeller	ENSAT	Présent

## Annexe 8 : Personnes interviewées et modalités de réalisation des entretiens

Nom et Prénom	Affiliation	Date (2021)	Modalité	« Evalueur »
<a href="#">Jérôme Cavailles</a>	Chargé mission faune – <b>PNV</b>	19 février	Collégial, présentiel	Loïc Palumbo [LP] + Sylvain Larrat [SL](Visio)
Joël Blanchemain*	TPN – Haute-Maurienne - <b>PNV</b>			
Elodie Antoine*	TPN – Haute-Tarentaise - <b>PNV</b>			
Nicolas Gomez*	TPN – Pralognan - <b>PNV</b>			
Valérie Hagry	GM – Modane – <b>PNV</b>			
Franck Parchoux*	TPN – Modane - <b>PNV</b>	<i>Indisponible</i>		
Jocelyn Fonderflick	Chargé mission faune - <b>PNC</b>	24 février	Collégial, présentiel	LP + SL
Bruno Descaves*	GM – Causses-Gorges - <b>PNC</b>			
<a href="#">Benoît Deffrennes</a> *	GM – Mont-Lozère - <b>PNC</b>			
Cyril Rombaut	GM – Aigoual - <b>PNC</b>	<i>Indisponibles</i>		
Gilles Garnier	GM – Vallées cévenoles - <b>PNC</b>			
Barraud Rémy	GM – Vallées cévenoles - <b>PNC</b>			
<a href="#">Marie-France Leccia</a>	Chargée de mission partenariat scientifique - <b>PNM</b>	25 février	Visio-conférence	L. Palumbo
Sophie Roux	GM – ST Ubaye-Verdon (Haut-Verdon) - <b>PNM</b>	01 mars	Visio-conférence	LP + SL
Marion Bensa	Technicien environnement – ST Haut-Var/ Cian - <b>PNM</b>	02 mars	Téléphone	L. Palumbo
Anthony Turpaud	Adjoint chef de service – ST Tinée - <b>PNM</b>	01 mars	Visio-conférence	LP + SL
Raphaël Lurion	Adjoint chef de service – ST Vésubie - <b>PNM</b>	05 mars	Visio-conférence	LP + SL
Aurélien Collenot	Chef de service – ST Roya– <b>PNM</b>	<i>Indisponible</i>		
<a href="#">Jérôme Lafitte</a>	Chargé mission Faune - <b>PNP</b>	22 mars	Collégial, Visio-conf.	LP + SL
Germain Besson	GM - Vallée d'Aure - <b>PNP</b>			
Philippe Fontanille	GM – Luz-Gavarnie- <b>PNP</b>			
<a href="#">Yoann Bunz</a>	Chargé mission Faune - <b>PNE</b>	15 mars	Collégial, visio-conférence	LP + SL
Michel Bouche*	Technicien – Embrunais - <b>PNE</b>			
Emmanuel Icardo*	Technicien – Oisans/ Valbonnais - <b>PNE</b>			
Jérôme Foret*				
Cyril Coursier*	Technicien – Briançonnais/ Vallouise - <b>PNE</b>			
Thierry Maillat*				
Rodolphe Papet*	Technicien – Champsaur/ Valgaudemar - <b>PNE</b>	<i>Indisponible</i>		
Marc Corail*		08 mars	Visio-conf.	LP + SL
Régis Jordana	GM – Champsaur/ Valgaudemar - <b>PNE</b>	11 mars	Téléphone, commun	L. Palumbo
Olivier Warluzelle				
Alexandre Terreau	GM – Valbonnais - <b>PNE</b>	<i>Indisponible</i>		
Claude Miaud	CEFE – EPHE [ <b>laboratoire</b> ]	12 mars	Visio-conf.	LP + SL
Véronique Arnal	CEFE [ <b>laboratoire</b> ]	26 février	Présentiel	L. Palumbo
Anouck Decors	SAGIR [ <b>partenaire</b> ]	08 avril	visio-conférence	LP + SL
Lorette Hivert	SAGIR – Epifaune [ <b>partenaire</b> ]			

Les responsables du système de surveillance de chaque parc est identifié : [Prénom Nom](#)

**TPN** : Technicien Patrimoine Naturel ; **GM** : Garde Moniteur ; **ST** : Service Territorial

\*Unités Intermédiaires du système de surveillance : responsables de secteur, techniciens de secteur...

Les agents « indisponible[s] » ont été conviés aux entretiens mais n'ont pas pu être interviewés.

## Annexe 9 : Détail des critères et notes pris en compte pour le calcul des sorties graphiques

### (A) Sortie 1 : par section

<b>Section 1 : Objectifs et champ de la surveillance</b>		
<i>Mettre le pointeur sur la case à noter pour voir le guide de notation</i>		
1.1 Pertinence des objectifs de surveillance	2	
1.2 Niveau de détail, de précision et de formalisation des objectifs	1	Les objectifs sont identifiés au sein des parcs nationaux (PN) mais peu ou pas formalisés. Et des disparités existent entre les parcs.
1.3 Prise en compte de l'attente des partenaires	1	Besoin d'harmonisation des attentes des parcs et partenaires.
1.4 Cohérence des maladies et dangers sanitaires surveillée avec situation sanitaire (maladies ou dangers existants exotiques)	2	Ranavirus systématique sans typage (ancoures), Bsal systématique (urodèles), Bd non systématique. Pas de recherche d'autres causes de mortalité que les pathogènes.
<b>Section 2 : Organisation institutionnelle centrale</b>		
<i>Mettre le pointeur sur la case à noter pour voir le guide de notation</i>		
2.1 Existence d'une structure d'animation fonctionnelle (unité centrale)	1	Echange entre les chargés de missions faune (CM) des PN (avec les partenaires du sanitaire), mais souvent informels et non exhaustifs. Pas centrés amphibiens. Pas de formalisation et temps disponible à y consacrer trop faible. Mais individuellement les CM animent la surveillance dans leurs parcs
2.2 Existence d'une structure de pilotage fonctionnelle et représentative des partenaires (comité de pilotage)	0	Pas de comité de pilotage identifié. Existence de CoPil de Veille sanitaire et/ou groupe thématique mortalité mais sans lien avec les autres parcs et avec peu de considération pour les amphibiens et l'herpétofaune.
2.3 Existence d'un comité scientifique et technique du dispositif	1	CEFE mais sans avoir réellement les personnes compétentes en épidémiologie
2.4 Organisation et fonctionnement du réseau prévus par la réglementation, une charte ou convention entre partenaires	0	Protocole de veille sanitaire, encadre les parcs individuellement. Pas de document entre les parcs. Convention entre PNM et CEFE mais n'inclut pas les autres parcs.
2.5 Fréquence de réunions de coordination centrale	1	Réunion annuel, sans thématique amphibien systématique. Avec les CM des parcs, Claude, EVAAS...
2.6 Mise en place d'un suivi et d'une supervision par l'échelon central	0	Remonté des signalements et supervision par les CM dans les parcs, mais informel et pas d'autre supervision centrale.
2.7 Suffisance des moyens humains, matériels et financiers de l'échelon central	0	
<b>Section 3 : Organisation institutionnelle de terrain</b>		
<i>Mettre le pointeur sur la case à noter pour voir le guide de notation</i>		
3.1 Existence d'unités intermédiaires formalisées sur tout le territoire	3	Rôle assuré par les responsables ou les référents veille sanitaire de secteur & par les CM (ayant aussi un rôle dans l'échelon central)
3.2 Rôle actif des unités intermédiaires dans le fonctionnement du réseau (validation, animation, retour d'information)	1	
3.3 Mise en place d'un suivi ou d'une supervision par l'échelon intermédiaire	SO	Sans objet : Les UI sont aussi collecteurs de données, pas de supervision direct sur le terrain
3.4 Harmonisation de l'activité des unités intermédiaires	1	Des pratiques hétérogènes bien que convergentes. Pas de formalisation de l'harmonisation entreprise en inter-parcs, contrairement à d'autres protocoles de surveillance sur d'autres taxons.
3.5 Suffisance des moyens humains matériels et financiers des UI	SO	Sans objet : traité avec le 3.8
3.6 Existence de réunions de coordinations à l'échelon intermédiaire	SO	Sans objet car non pertinent pour notre réseau (le volet coordination des CM relève de l'échelon central : section 2.1)
3.7 Exhaustivité ou représentativité de la couverture de la population cible par les intervenants de terrain	2	Zone couverte (entre les agents et le public) mais irrégulièrement dans le temps. AOA moins couverte que ZC.
3.8 Suffisance des moyens humains, matériels et financiers des intervenants de terrain	1	Pas de temps spécifiquement dédié aux amphibiens et pas de budget pérenne pour les analyses. Dans les Cévennes : "21 agents de terrain, 1350j de travail biodiversité, dont 25j amphibiens et reptiles [sanitaire et autre]". De plus les activités sanitaires sont remises en question dans un contexte de réduction des moyens

<b>Section 4 : Laboratoire</b>		<b>Mettre le pointeur sur la case à noter pour voir le guide de notation</b>
4.1 Intégration effective du laboratoire dans le dispositif de surveillance	3	Besoin de formalisme entre le rôle de CS et de labo
4.2 Suffisance des ressources humaines, matérielles et financières pour les besoins en diagnostic	0	1 seul technicien & 1 seul superviseur, donc impossible d'augmenter le rythme et lors d'absence les analyses sont réalisés par des CDD ou des stagiaires (plus d'erreurs). Financements non pérennes dépend des programmes européens et de la possibilité de C. Miaud d'utiliser ses crédits de recherche
4.3 Recours à l'assurance qualité pour les analyses réalisées	2	Non labellisé ISO 9001 mais démarche qualité
4.4 Qualité de la standardisation du travail entre les différents laboratoires	SO	Sans objet : un seul laboratoire
4.5 Proportion d'analyses soumises à EIL	0	Courbe étalon et premiers résultats testés par EIL validés (2014) mais pas d'autre EIL réalisés depuis.
4.6 Existence d'une équipe d'investigation pour appuyer les agents de terrain	0	Pas d'équipe, alors qu'elle serait utile pour les autres investigations que PCR pathogènes (toxiques par exemple)
4.7 Pertinence des techniques de diagnostic	3	Techniques adaptées et standards de qPCR sur cadavres (ranavirus) ou écouvillon cutané(chytrides). Une analyse e-DNA et des recherches de toxiques / polluants seraient peut-être pertinentes pour les objectifs
4.8 Sensibilité des techniques de diagnostic	3	
4.9 Spécificité des techniques de diagnostic	2	
4.10 Contrôle des réactifs de laboratoire	SO	Sans objet. Utilisation d'un témoin négatif et d'un témoin positif pour chaque plaque de PCR. Pas de constat de problème de PCR
4.11 Niveau de technicité de la gestion des données au laboratoire	1	3 tableurs Excel (1 par pathogène) + 1 cahier de labo (tout n'est pas reporté dans l'Excel). Plusieurs codes pour les individus (en fonction du pathogène) et certains codes différent entre techniciens / superviseurs pour une même analyse.
4.12 Délai d'analyse au laboratoire (formalisation, standardisation, vérification, transfert des résultats à l'unité centrale)	0	
4.13 Qualité du rendu du résultat	3	Retour annuel par mail aux CM des parcs. Bilan annuel des analyses dans le Mercantour.

<b>Section 5 : Outils de surveillance</b>		<b>Mettre le pointeur sur la case à noter pour voir le guide de notation</b>
5.1 Existence d'un protocole de surveillance formalisé pour chaque maladie ou danger surveillé	1	Des protocoles convergents (veille sanitaire). Mais besoins importants de précision et d'homogénéité dans les définitions de cas.
5.2 Standardisation des données collectées	0	Fiches non standardisées (1fiche par parc, voire pas de fiche).
5.3 Pertinence des outils de mesure (à l'exclusion des outils de laboratoire)	SO	Sans objet
5.4 Sensibilité de la définition du cas ou du danger	1	Des besoins concernant les urodèles : pas ou peu de MME - épisode de mortalité massive -, donc nécessité de collecter toute mortalité. Seules les causes de MME ont une bonne chance d'être détectée : Spécifique seulement pour les ranavirus mais pas pour les autres causes
5.5 Spécificité de la définition du cas ou du danger	2	Globalement spécifique mais la notion de mortalité "anormale" est subjective et ouverte à interprétation par les agents
5.6 Simplicité de la définition du cas ou du danger	3	
5.7 Qualité de renseignement des fiches d'investigation	0	
5.8 Pertinence des prélèvements	1	Adapté pour la recherche de ranavirus mais pas pour les autres causes de mortalité
5.9 Standardisation des prélèvements	0	Prélèvements à réaliser non formalisés (combien d'individus ? Comment ?)
5.10 Qualité des prélèvements collectés	2	>95% ranavirus mais inférieur pour les chytrides (si écouvillon non réalisé lors de collecte notamment)
5.11 Respect du délai entre déclaration du cas ou du danger et rendu du résultat	0	Délai de plusieurs mois
5.12 Simplicité de la procédure de déclaration	1	Déclaration par les CM, mais pas de BDD unique et centralisée (voire pas de BDD utilisée pour certains parcs)
5.13 Simplicité de la procédure de collecte des données	1	Matériel disponible facilement (ziplock, gants) mais certains cadavres difficiles d'accès (nécessité de cuissardes et épuisettes). Pas de fiches de recueil de données commune
5.14 Acceptabilité des conséquences d'une suspicion pour la source ou le collecteur de données	3	

<b>Section 10 : Evaluation</b>		<b>Mettre le pointeur sur la case à noter pour voir le guide de notation</b>
10.1 Système d'indicateurs de performance développé et validé par les responsables du réseau	0	
10.2 Indicateurs de performance régulièrement calculés, interprétés et diffusés	SO	Sans objet
10.3 Evaluation externes effectuées	0	
10.4 Mise en œuvre des mesures correctrices	SO	Sans objet

<b>Section 6 : Modalités de surveillance</b>		<b>Mettre le pointeur sur la case à noter pour voir le guide de notation</b>
6.1 Adéquation des modalités de surveillance aux objectifs du dispositif	2	Surveillance événementielle des anoures, nécessité d'adapter pour les urodèles et les espèces endémiques et à fort enjeu. Ajout d'une surveillance renforcée ou programmée pour ces espèces ?
6.2 Existence d'une surveillance événementielle dont les résultats montrent des résultats exhaustifs ou représentatifs	1	Importante hétérogénéité de collecte identifiée parmi les acteurs de terrain
6.3 Existence d'actions de sensibilisation des sources de données en réseau événementiel	1	Fortes hétérogénéités des actions de sensibilisation. De façon générale, besoin de régularité et d'évaluation de ses actions
6.4 Pertinence et adéquation de l'existence et des protocoles de surveillance programmée	SO	Sans objet. Ajout d'une surveillance renforcée ou programmée pour les espèces à enjeu de conservation ?
6.5 Surveillance de la faune sauvage sensible	0	Pas de surveillance des autres taxons sensibles (reptiles et poissons)
6.6 Surveillance et contrôle des vecteurs	SO	Sans objet : non décrit chez les amphibiens
6.7 Représentativité des populations ciblées de l'échantillonnage en surveillance programmée	SO	Absence de surveillance programmée (en dehors des programme de recherche ponctuel en marge de la surveillance)
6.8 Précision des résultats sur l'échantillon en surveillance programmée	SO	
6.9 Niveau de satisfaction du taux de réalisation de la surveillance programmée	SO	

<b>Section 7 : Gestion des données</b>		<b>Mettre le pointeur sur la case à noter pour voir le guide de notation</b>
7.1 Adéquation du système de gestion des données aux besoins du réseau (base de données relationnelle, etc.)	1	Besoin d'harmonisation nationale, et d'une BDD relationnelle commune. Certains parcs font des saisies multiples des données, une simplification est souhaitable.
7.2 Délai de saisie des données en accord avec les objectifs et l'utilisation des résultats du dispositif	0	
7.3 Personnel spécifique disponible et qualifié pour la saisie, la gestion et l'analyse des données	0	
7.4 Suffisance des moyens matériels et financiers pour la gestion et l'analyse des données	1	Pas de moyens alloués à l'analyse des données issues de la surveillance (les seuls moyens sont issus de partenariat cours et souvent de recherche) et des besoins de moyens pour la gestion
7.5 Procédures de vérification et de validation des données formalisées et performantes	0	
7.6 Traitement descriptif complet des données	0	
7.7 Exploitation des données en adéquation avec les besoins du dispositif (si possible régulière et multidisciplinaire).	0	Pas d'équipe identifiée.

<b>Section 8 : Formation</b>		<b>Mettre le pointeur sur la case à noter pour voir le guide de notation</b>
8.1 Niveau de compétence satisfaisant en épidémiologie des membres de l'unité centrale	0	
8.2 Formation initiale mise en œuvre pour tous les agents de terrain à leur entrée dans le dispositif	1	Formation des agents sur le terrain, informelle. Incomplète et sans support adapté.
8.3. Objectifs et contenu de la formation initiale des acteurs de terrain du dispositif en adéquation avec les besoins opérationnels de la surveillance	0	
8.4 Formations de perfectionnement régulières	0	
8.5 Suffisance des moyens humain, matériels et financiers pour la formation	1	Besoin de personnel compétent sur les thématiques pour animer la formation, mais volonté des UI et des CM de maintenir une sensibilisation des agents, mais peu d'intégration de ces priorités au niveau des priorités générales des établissements.

<b>Section 9 : Communication</b>		<b>Mettre le pointeur sur la case à noter pour voir le guide de notation</b>
9.1 Edition régulière de rapports et articles scientifiques sur les résultats de la surveillance	1	1 article scientifique et 2 rapports de situation publiés (PNM) depuis 2011.
9.2 Restitution des résultats des analyses individuelles aux acteurs de terrain	0	Bilans mais pas de restitution individuelle aux acteurs de terrain
9.3 Diffusion régulière d'un bulletin d'information pertinent	0	
9.4 Restitution systématique des bilans de résultats aux acteurs de terrain (hors bulletin)	2	Bilans annuels (mail) mais difficile de vérifier. Toutefois les agents (interrogés) semblent bien avoir accès à ces retours
9.5 Présence d'un système d'échange d'informations organisé transversalement et verticalement entre les acteurs de terrain (mail et /ou web)	1	Communication horizontale au sein des parcs, mais des besoins inter-parcs et verticaux vers l'échelon central
9.6 Politique de communication externe solide	1	Grande variabilité entre les parcs et besoin de standardisation
9.7 Suffisance des moyens humains, matériels et financiers pour la communication	1	Tout repose sur les CM

## (B) Sortie 2 : par points critiques

<b>Objectifs</b>	<b>Notes</b>
1.1 Pertinence des objectifs de surveillance	2
1.2 Niveau de détail, de précision et de formalisation des objectifs	1
1.3 Prise en compte de l'attente des partenaires	1
1.4 Cohérence des maladies surveillées avec situation sanitaire (maladies ou dangers existants / exotiques)	2
6.1 Adéquation des modalités de surveillance aux objectifs du dispositif	2
<b>Échantillonnage</b>	
2.4 Organisation et fonctionnement du dispositif prévus par la réglementation, une charte ou convention entre partenaires	0
3.1. Existence d'unités intermédiaires formalisées sur tout le territoire	3
3.7 Exhaustivité ou représentativité de la couverture de la population cible par les intervenants de terrain	2
6.2. Existence d'une surveillance passive (événementielle) dont les résultats montrent des résultats exhaustifs ou représentatifs	1
6.4 Pertinence et adéquation de l'existence des protocoles de surveillance active (planifiée)	SO
6.7. Représentativité des populations ciblées de l'échantillonnage en surveillance programmée	SO
6.8. Précision des résultats sur l'échantillon en surveillance programmée	SO
6.9. Niveau de satisfaction du taux de réalisation de la surveillance programmée	SO
<b>Traitement et interprétation des données</b>	
2.3. Existence d'un comité scientifique et technique du dispositif	1
4.2. Suffisance des ressources humaines, matérielles et financière pour les besoins en diagnostic	0
4.11. Niveau de technicité de la gestion des données au laboratoire	1
4.12. Délai d'analyse au laboratoire (formalisation, standardisation, vérification, transfert des résultats à l'unité centrale) vérification, transfert des résultats à l'unité centrale)	0
7.1. Adéquation du système de gestion des données aux besoins du dispositif (base de données relationnelle, etc.)	1
7.3. Personnel spécifique disponible et qualifié pour la saisie, la gestion et l'analyse des données	0
7.5. Procédures de vérification et de validation des données formalisées et performantes	0
7.6. Traitement descriptif complet des données	0
7.7. Exploitation des données en adéquation avec les besoins du dispositif (si possible régulière et multidisciplinaire)	0
8.1. Niveau de compétence satisfaisant en épidémiologie des membres de l'unité centrale	0
<b>Diffusion de l'information</b>	
9.1. Edition régulière de rapports et articles scientifiques sur les résultats de la surveillance	1
9.3. Diffusion régulière d'un bulletin d'information pertinent	0
9.4. Restitution systématique des bilans de résultats aux acteurs de terrain (hors bulletin)	2
9.6. Politique de communication externe solide	1
<b>Animation et sensibilisation</b>	
2.1. Existence d'une structure d'animation fonctionnelle (unité centrale)	1
2.2. Existence d'une structure de pilotage fonctionnelle et représentative des partenaires (comité de pilotage)	0
2.3. Existence d'un comité scientifique et technique du dispositif	1
2.5. Fréquence de réunions de coordination centrale	1
2.6. Mise en place d'une supervision des unités intermédiaires par l'échelon central	0
3.1. Existence d'unités intermédiaires formalisées sur tout le territoire	3
3.2. Rôle actif des unités intermédiaires dans le fonctionnement du dispositif (validation, animation, retour d'information)	1
3.3. Mise en place d'une supervision par l'échelon intermédiaire	SO
3.4. Harmonisation de l'activité des unités intermédiaires	1
3.6. Existence de réunions de coordinations à l'échelon intermédiaire	SO
4.1. Intégration effective du laboratoire dans le dispositif de surveillance	3
4.6. Existence d'une équipe d'investigation pour appuyer les agents de terrain	0
6.3. Existence d'actions de sensibilisation des sources de données en réseau passif (événementiel)	1
7.3. Personnel spécifique disponible et qualifié pour la saisie, la gestion et l'analyse des données	0
8.1. Niveau de compétence satisfaisant en épidémiologie des membres de l'unité centrale	0
8.2. Formation initiale mise en œuvre pour tous les agents de terrain à leur entrée dans le dispositif	1
8.4. Formations de perfectionnement régulières	0
9.3. Diffusion régulière d'un bulletin d'information pertinent	0
9.4. Restitution systématique des bilans de résultats aux acteurs de terrain (hors bulletin)	2

<b>Recueil et circulation des données</b>	
2.1. Existence d'une structure d'animation fonctionnelle (unité centrale)	1
3.4. Harmonisation de l'activité des unités intermédiaires	1
3.6. Existence de réunions de coordinations à l'échelon intermédiaire	SO
4.2. Suffisance des ressources humaines, matérielles et financière pour les besoins en diagnostic	0
4.12. Délai d'analyse au laboratoire (formalisation, standardisation, vérification, transfert des résultats à l'unité centrale)	0
5.7. Qualité de renseignement des fiches d'investigation	0
5.10. Qualité des prélèvements collectés	2
5.11. Respect du délai entre déclaration du cas ou du danger et rendu du résultat	0
5.12. Simplicité de la procédure de déclaration	1
7.2. Délai de saisie des données en accord avec les objectifs et l'utilisation des résultats du dispositif	0
8.2. Formation initiale mise en œuvre pour tous les agents de terrain à leur entrée dans le dispositif	1
8.3. Objectifs et contenu de la formation initiale des acteurs de terrain du dispositif en adéquation avec les besoins opérationnels de la surveillance	0
8.4. Formations de perfectionnement régulières	0
9.2. Restitution des résultats des analyses individuelles aux acteurs de terrain	0
9.5. Présence d'un système de communication organisé transversalement et verticalement entre les acteurs de terrain (mail, web, téléphone...)	1

<b>Outils utilisés</b>	
4.1. Intégration effective du laboratoire dans le dispositif de surveillance	3
4.3. Recours à l'assurance qualité pour les analyses réalisées	2
4.4. Qualité de la standardisation du travail entre les différents laboratoires	SO
4.5. Proportion d'analyses soumises à EIL	0
4.7. Pertinence des techniques de diagnostic	3
4.8. Sensibilité des techniques de diagnostic	3
4.9. Spécificité des techniques de diagnostic	2
4.10. Contrôle des réactifs de laboratoire	SO
4.13. Qualité du rendu du résultat	3
5.1. Existence d'un protocole de surveillance formalisé pour chaque maladie ou danger surveillé	1
5.2. Standardisation des données collectées	0
5.3. Pertinence des outils de mesure (à l'exclusion des outils de laboratoire)	SO
5.4. Sensibilité de la définition du cas ou du danger	1
5.5. Spécificité de la définition du cas ou du danger	2
5.6. Simplicité de la définition du cas ou du danger	3
5.8. Pertinence des prélèvements	1
5.9. Standardisation des prélèvements	0
5.10. Qualité des prélèvements collectés	2
8.2. Formation initiale mise en œuvre pour tous les agents de terrain à leur entrée dans le dispositif	1
8.3. Objectifs et contenu de la formation initiale des acteurs de terrain du dispositif en adéquation avec les besoins opérationnels de la surveillance	0
8.4. Formations de perfectionnement régulières	0

<b>Recueil et circulation des données</b>	
2.1. Existence d'une structure d'animation fonctionnelle (unité centrale)	1
3.4. Harmonisation de l'activité des unités intermédiaires	1
3.6. Existence de réunions de coordinations à l'échelon intermédiaire	SO
4.2. Suffisance des ressources humaines, matérielles et financière pour les besoins en diagnostic	0
4.12. Délai d'analyse au laboratoire (formalisation, standardisation, vérification, transfert des résultats à l'unité centrale)	0
5.7. Qualité de renseignement des fiches d'investigation	0
5.10. Qualité des prélèvements collectés	2
5.11. Respect du délai entre déclaration du cas ou du danger et rendu du résultat	0
5.12. Simplicité de la procédure de déclaration	1
7.2. Délai de saisie des données en accord avec les objectifs et l'utilisation des résultats du dispositif	0
8.2. Formation initiale mise en œuvre pour tous les agents de terrain à leur entrée dans le dispositif	1
8.3. Objectifs et contenu de la formation initiale des acteurs de terrain du dispositif en adéquation avec les besoins opérationnels de la surveillance	0
8.4. Formations de perfectionnement régulières	0
9.2. Restitution des résultats des analyses individuelles aux acteurs de terrain	0
9.5. Présence d'un système de communication organisé transversalement et verticalement entre les acteurs de terrain (mail, web, téléphone...)	1

## (C) Sortie 3 : par attributs

Sensibilité	Notes
2.5. Fréquence de réunions de coordination centrale	1
3.2. Rôle actif des unités intermédiaires dans le fonctionnement du dispositif (validation, animation, retour d'information)	1
3.7. Exhaustivité ou représentativité de la couverture de la population cible par les intervenants de terrain	2
4.7. Pertinence des techniques de diagnostic	3
4.8. Sensibilité des techniques de diagnostic	3
5.4. Sensibilité de la définition du cas ou du danger	1
5.8. Pertinence des prélèvements	1
5.10. Qualité des prélèvements collectés	2
5.14. Acceptabilité des conséquences d'une suspicion ou d'un cas pour la source ou le collecteur de données	3
6.2. Existence d'une surveillance passive (événementielle) dont les résultats montrent des résultats exhaustifs ou représentatifs	1
6.3. Existence d'actions de sensibilisation des sources de données en réseau passif (événementiel)	1
6.4. Pertinence et adéquation de l'existence et des protocoles de surveillance active (planifiée)	SO
6.5. Surveillance de la faune sauvage sensible	0
6.6. Surveillance et contrôle des vecteurs	SO
6.9. Niveau de satisfaction du taux de réalisation de la surveillance active (planifiée)	SO
8.4. Formations de perfectionnement régulières	0
9.2. Restitution des résultats des analyses individuelles aux acteurs de terrain	0
9.3. Diffusion régulière d'un bulletin d'information pertinent	0
9.4. Restitution systématique des bilans de résultats aux acteurs de terrain (hors bulletin)	2
9.5. Présence d'un système de communication organisé transversalement et verticalement entre les acteurs de terrain (mail, web, téléphone...)	1
<b>Spécificité</b>	
4.9. Spécificité des techniques de diagnostic	2
5.5. Spécificité de la définition du cas ou du danger	2
6.3. Existence d'actions de sensibilisation des sources de données en réseau passif (événementiel)	1
8.2. Formation initiale mise en œuvre pour tous les agents de terrain à leur entrée dans le dispositif	1
8.4. Formations de perfectionnement régulières	0
<b>Représentativité</b>	
3.1. Existence d'unités intermédiaires formalisées sur tout le territoire	3
3.7. Exhaustivité ou représentativité de la couverture de la population cible par les intervenants de terrain	2
6.2. Existence d'une surveillance passive (événementielle) dont les résultats montrent des résultats exhaustifs ou représentatifs	1
6.4. Pertinence et adéquation de l'existence et des protocoles de surveillance active (planifiée)	SO
6.7. Représentativité des populations ciblées de l'échantillonnage en surveillance active (planifiée)	SO
6.9. Niveau de satisfaction du taux de réalisation de la surveillance active (planifiée)	SO
<b>Rapidité</b>	
3.5. Suffisance des moyens matériels et financiers des UI	SO
3.8. Suffisance des moyens matériels et financiers des intervenants de terrain	1
4.2. Suffisance des ressources humaines, matérielles et financière pour les besoins en diagnostic	0
4.6. Existence d'une équipe d'investigation pour appuyer les agents de terrain	0
4.11. Niveau de technicité de la gestion des données au laboratoire	1
4.12. Délai d'analyse au laboratoire (formalisation, standardisation, vérification, transfert des résultats à l'unité centrale)	0
7.1. Adéquation du système de gestion des données aux besoins du dispositif (base de données relationnelle, etc.)	1
7.2. Délai de saisie des données en accord avec les objectifs et l'utilisation des résultats du dispositif	0
7.3. Personnel spécifique disponible et qualifié pour la saisie, la gestion et l'analyse des données	0
9.5. Présence d'un système de communication organisé transversalement et verticalement entre les acteurs de terrain (mail, web, téléphone...)	1
<b>Flexibilité</b>	
2.1. Existence d'une structure d'animation fonctionnelle (unité centrale)	1
2.2. Existence d'une structure de pilotage fonctionnelle et représentative des partenaires (comité de pilotage)	0
2.3. Existence d'un comité scientifique et technique du dispositif	1
2.5. Fréquence de réunions de coordination centrale	1
3.1. Existence d'unités intermédiaires formalisées sur tout le territoire	3
3.6. Existence de réunions de coordinations à l'échelon intermédiaire	SO
4.6. Existence d'une équipe d'investigation pour appuyer les agents de terrain	0
8.4. Formations de perfectionnement régulières	0
10.2. Indicateurs de performance régulièrement calculés, interprétés et diffusés	SO
10.4. Mise en œuvre des mesures correctrices	SO
<b>Simplicité</b>	
2.1. Existence d'une structure d'animation fonctionnelle (unité centrale)	1
4.11. Niveau de technicité de la gestion des données au laboratoire	1
5.6. Simplicité de la définition du cas ou du danger	3
5.12. Simplicité de la procédure de déclaration	1
5.13. Simplicité de la procédure de collecte des données	1
7.1. Adéquation du système de gestion des données aux besoins du dispositif (base de données relationnelle, etc.)	1
8.2. Formation initiale mise en œuvre pour tous les agents de terrain à leur entrée dans le dispositif	1

<b>Fiabilité</b>	
1.1 Pertinence des objectifs de surveillance	2
1.2 Niveau de détail, de précision et de formalisation des objectifs	1
2.3. Existence d'un comité scientifique et technique du dispositif	1
2.6. Mise en place d'une supervision des unités intermédiaires par l'échelon central	0
3.1. Existence d'unités intermédiaires formalisées sur tout le territoire	3
3.2. Rôle actif des unités intermédiaires dans le fonctionnement du dispositif (validation, animation, retour d'information)	1
3.3. Mise en place d'une supervision par l'échelon intermédiaire	SO
3.4. Harmonisation de l'activité des unités intermédiaires	1
3.5. Suffisance des moyens matériels et financiers des UI	SO
3.6. Existence de réunions de coordinations à l'échelon intermédiaire	SO
3.8. Suffisance des moyens matériels et financiers des intervenants de terrain	1
4.1. Intégration effective du laboratoire dans le dispositif de surveillance	3
4.2. Suffisance des ressources humaines, matérielles et financière pour les besoins en diagnostic	0
4.3. Recours à l'assurance qualité pour les analyses réalisées	2
4.4. Qualité de la standardisation du travail entre les différents laboratoires	SO
4.5. Proportion d'analyses soumises à EIL	0
4.6. Existence d'une équipe d'investigation pour appuyer les agents de terrain	0
4.7. Pertinence des techniques de diagnostic	3
4.8. Sensibilité des techniques de diagnostic	3
4.9. Spécificité des techniques de diagnostic	2
4.10. Contrôle des réactifs de laboratoire	SO
4.11. Niveau de technicité de la gestion des données au laboratoire	1
4.12. Délai d'analyse au laboratoire (formalisation, standardisation, vérification, transfert des résultats à l'unité centrale)	0
4.13. Qualité du rendu du résultat	3
5.1. Existence d'un protocole de surveillance formalisé pour chaque maladie ou danger surveillé	1
5.2. Standardisation des données collectées	0
5.3. Pertinence des outils de mesure (à l'exclusion des outils de laboratoire)	SO
5.7. Qualité de renseignement des fiches d'investigation	0
5.8. Pertinence des prélèvements	1
5.9. Standardisation des prélèvements	0
5.10. Qualité des prélèvements collectés	2
6.1. Adéquation des modalités de surveillance aux objectifs du dispositif	2
6.7. Représentativité des populations ciblées de l'échantillonnage en surveillance active (planifiée)	SO
6.8. Précision des résultats sur l'échantillon en surveillance active (planifiée)	SO
6.9. Niveau de satisfaction du taux de réalisation de la surveillance active (planifiée)	SO
7.1. Adéquation du système de gestion des données aux besoins du dispositif (base de données relationnelle, etc.)	1
7.3. Personnel spécifique disponible et qualifié pour la saisie, la gestion et l'analyse des données	0
7.4. Suffisance des moyens matériels et financiers pour la gestion et l'analyse des données	1
7.5. Procédures de vérification et de validation des données formalisées et performantes	0
7.7. Exploitation des données en adéquation avec les besoins du dispositif (si possible régulière et multidisciplinaire)	0
8.1. Niveau de compétence satisfaisant en épidémiologie des membres de l'unité centrale	0
8.2. Formation initiale mise en œuvre pour tous les agents de terrain à leur entrée dans le dispositif	1
8.3. Objectifs et contenu de la formation initiale des acteurs de terrain du dispositif en adéquation avec les besoins opérationnels de la surveillance	0
8.5. Suffisance des moyens humain, matériels et financiers pour la formation	1
10.1. Système d'indicateurs de performance développé et validé par les responsables du dispositif	0
10.2. Indicateurs de performance régulièrement calculés, interprétés et diffusés	SO
10.3. Evaluation externes effectuées	0
10.4. Mise en œuvre des mesures correctrices	SO

<b>Acceptabilité</b>	
1.3. Prise en compte de l'attente des partenaires	1
2.1. Existence d'une structure d'animation fonctionnelle (unité centrale)	1
2.2. Existence d'une structure de pilotage fonctionnelle et représentative des partenaires (comité de pilotage)	0
2.4. Organisation et fonctionnement du dispositif prévus par la réglementation, une charte ou convention entre partenaires	0
2.5. Fréquence de réunions de coordination centrale	1
3.2. Rôle actif des unités intermédiaires dans le fonctionnement du dispositif (validation, animation, retour d'information)	1
3.5. Suffisance des moyens matériels et financiers des UI	SO
3.6. Existence de réunions de coordinations à l'échelon intermédiaire	SO
3.8. Suffisance des moyens matériels et financiers des intervenants de terrain	1
4.1. Intégration effective du laboratoire dans le dispositif de surveillance	3
5.6. Simplicité de la définition du cas ou du danger	3
5.12. Simplicité de la procédure de déclaration	1
5.13. Simplicité de la procédure de collecte des données	1
5.14. Acceptabilité des conséquences d'une suspicion pour la source ou le collecteur de données	3
6.3. Existence d'actions de sensibilisation des sources de données en réseau passif (événementiel)	1
7.1. Adéquation du système de gestion des données aux besoins du dispositif (base de données relationnelle, etc.)	1
8.2. Formation initiale mise en œuvre pour tous les agents de terrain à leur entrée dans le dispositif	1
9.1. Edition régulière de rapports et articles scientifiques sur les résultats de la surveillance	1
9.2. Restitution des résultats des analyses individuelles aux acteurs de terrain	0
9.4. Restitution systématique des bilans de résultats aux acteurs de terrain (hors bulletin)	2

<b>Stabilité</b>	
1.3 Prise en compte de l'attente des partenaires	1
2.1. Existence d'une structure d'animation fonctionnelle (unité centrale)	1
2.2. Existence d'une structure de pilotage fonctionnelle et représentative des partenaires (comité de pilotage)	0
2.3. Existence d'un comité scientifique et technique du dispositif	1
2.4. Organisation et fonctionnement du dispositif prévus par la réglementation, une charte ou convention entre partenaires	0
2.7. Suffisance des moyens matériels et financiers de l'échelon central	0
3.1. Existence d'unités intermédiaires formalisées sur tout le territoire	3
3.4. Harmonisation de l'activité des unités intermédiaires	1
3.5. Suffisance des moyens matériels et financiers des UI	SO
3.8. Suffisance des moyens matériels et financiers des intervenants de terrain	1
4.2. Suffisance des ressources humaines, matérielles et financière pour les besoins en diagnostic	0
4.3. Recours à l'assurance qualité pour les analyses réalisées	2
4.4. Qualité de la standardisation du travail entre les différents laboratoires	SO
4.5. Proportion d'analyses soumises à EIL	0
4.10. Contrôle des réactifs de laboratoire	SO
5.1. Existence d'un protocole de surveillance formalisé pour chaque maladie ou danger surveillé	1
5.2. Standardisation des données collectées	0
7.1. Adéquation du système de gestion des données aux besoins du dispositif (base de données relationnelle, etc.)	1
7.4. Suffisance des moyens matériels et financiers pour la gestion et l'analyse des données	1
8.5. Suffisance des moyens humain, matériels et financiers pour la formation	1
9.1. Edition régulière de rapports et articles scientifiques sur les résultats de la surveillance	1
9.2. Restitution des résultats des analyses individuelles aux acteurs de terrain	0
9.4. Restitution systématique des bilans de résultats aux acteurs de terrain (hors bulletin)	2
9.7. Suffisance des moyens humains, matériels et financiers pour la communication	1

<b>Utilité</b>	
1.1. Pertinence des objectifs de surveillance	2
1.3. Prise en compte de l'attente des partenaires	1
1.4. Cohérence des maladies surveillées avec situation sanitaire (maladies ou dangers existants / exotiques)	2
2.4. Organisation et fonctionnement du dispositif prévus par la réglementation, une charte ou convention entre partenaires	0
3.4. Harmonisation de l'activité des unités intermédiaires	1
5.8. Pertinence des prélèvements	1
6.1. Adéquation des modalités de surveillance aux objectifs du dispositif	2
7.1. Adéquation du système de gestion des données aux besoins du dispositif (base de données relationnelle, etc.)	1
7.6. Traitement descriptif complet des données	0
7.7. Exploitation des données en adéquation avec les besoins du dispositif (si possible régulière et multidisciplinaire)	0
9.3. Diffusion régulière d'un bulletin d'information pertinent	0
9.4. Restitution systématique des bilans de résultats aux acteurs de terrain (hors bulletin)	2
9.6. Politique de communication externe solide	1

## Annexe 10 : Besoins pour l'amélioration du réseau de surveillance, identifiés lors des entretiens et présentés par section OASIS

<p><b>Section 1 : Objectifs et champ de la surveillance</b></p>	<p>Actuellement la surveillance a pour objectif l'identification des causes de mortalité des amphibiens, mais porte essentiellement sur les ranavirus et dans une moindre mesure les chytrides.</p> <p>1) Un besoin de meilleure formalisation des objectifs est identifié dans le but d'inclure les autres pathogènes et causes de mortalité, notamment les causes de mortalités importantes non ponctuelles (cumulatives) comme les chytrides.</p> <p>2) Besoin de définir des actions de gestion en cas de détection de mortalité.</p>
<p><b>Section 2 : Organisation institutionnelle centrale</b></p>	<p>3) Besoin d'une meilleure coordination inter-parc et centrale de la surveillance sanitaire des amphibiens.</p> <p>4) Besoin d'inclure une thématique amphibien au sein des instances d'appuis scientifiques, centrales et inter-parc, sur les questions sanitaires. Et de façon plus générale de renforcer la place de la surveillance sanitaire dans les stratégies scientifiques.</p>
<p><b>Section 3 : Organisation institutionnelle de terrain</b></p>	<p>Actuellement un des points forts de la surveillance sanitaire des amphibiens dans les PN, malgré des contraintes humaines et financières</p> <p>5) Besoin d'une meilleure sensibilisation aux enjeux en amont (dans le cadre des modalités de surveillance, mais aussi dans le cadre d'autres actions touchant les amphibiens -biosecrurité-).</p> <p>6) Besoin de financement pérenne de la surveillance sanitaire des amphibiens. Besoin également d'allocation de moyens humains (redistribution du temps de travail des agents notamment), pouvant s'appuyer par exemple sur un travail de priorisation des actions de surveillance sanitaire en se basant sur la valeur patrimoniale des espèces</p>
<p><b>Section 4 : Laboratoire</b></p>	<p>Manque de résilience (faible adaptabilité en terme de nombre d'analyse et de délai + fonctionnement non pérenne) à l'échelon du laboratoire. Mode de financement (et donc de fonctionnement) problématique pour de la surveillance, plutôt adapté pour des activités ponctuelles de recherche.</p> <p>7) Pour la surveillance, l'amélioration des délais est essentielle.</p> <p>8) Un besoin d'élargir les analyses chytrides est également identifié, tout comme l'utilisation d'autres outils que les analyses PCR (anatomopathologie et histologie) pour étayer le diagnostic.</p>
<p><b>Section 5 : Outils de surveillance</b></p>	<p>9) Besoin de standardisation (protocoles, fiches, procédure de déclaration et de transmission des échantillons).</p> <p>10) Besoin d'adapter les prélèvements à la recherche de tous les pathogènes (par exemple, chytrides et toxiques).</p> <p>11) Besoin de mieux valoriser la veille écologique en tant qu'outil de suivi sanitaire.</p>
<p><b>Section 6 : Modalités de surveillance</b></p>	<p>12) Besoin d'harmonisation des modalités de surveillance entre parcs (tout en tenant compte des spécificités locales)...</p> <p>13) ... et d'adaptation de la surveillance des urodèles et des espèces à enjeu de conservation.</p>
<p><b>Section 7 : Gestion des données</b></p>	<p>14) Besoin d'utiliser un outil unique et simple pour la gestion des données.</p> <p>15) Besoin d'exploiter ces données en accord avec les objectifs.</p> <p>Des pistes d'amélioration sont en cours avec l'intégration des amphibiens dans Epifaune (SAGIR). A réévaluer par la suite.</p>
<p><b>Section 8 : Formation</b></p>	<p>16) Besoin de formation initiale standardisée pour tous les agents de terrain (support à jour et complet) ...</p> <p>17) ... et de formation continue régulière (pour l'ensemble des acteurs du réseau).</p>
<p><b>Section 9 : Communication</b></p>	<p>18) Besoin de communication interne au réseau entre les parcs et d'une restitution des résultats individuels aux agents de terrain dans un temps court.</p> <p>19) Communication externe à standardiser. Comprendre une standardisation des actions à destination des usagers : public, pêcheurs, chercheurs.</p>
<p><b>Section 10 : Evaluation</b></p>	<p>20) Besoin d'indicateurs de performance pour un usage interne, par exemple :          - Evaluer le taux annuel de résultats d'analyses fournis dans les délais compatibles avec les objectifs de surveillance et de gestion (1 mois après échantillonnage)          - Intervalle de confiance de la présence des pathogènes sur les populations à enjeu de conservation (surveillance programmée)          - Pour la surveillance événementielle : comparaison du nombre de mortalité observée par espèce avec la démographie des populations locales (observée ou estimée)</p> <p>21) Evaluation externe à reconduire d'ici 5 ans environ.</p>

## **Surveillance sanitaire des amphibiens dans les parcs nationaux français et épidémiologie des évènements de mortalité dus à des ranavirus dans ces espaces protégés**

Ranavirus et chytrides sont des causes majeures de mortalité massive d'amphibiens. Les Parcs Nationaux (PN) français effectuent donc une surveillance de ces agents pathogènes. Les données en résultant dans le PN du Mercantour ont été étudiées pour déterminer des facteurs de risque de ranavirose chez *Rana temporaria*. Un effet significatif de la température sur le risque d'infection est observé. De plus nous avons montré les limites de ces données, et proposé des variables d'intérêt à collecter systématiquement. Ensuite nous avons évalué le réseau de surveillance des amphibiens dans les PN avec la méthode OASIS. Cela a mis en évidence les principaux points forts, mais aussi les éléments limitant l'efficacité et compliquant le fonctionnement. Des recommandations ont été faites, dont (i) inclure des experts et temps de discussion amphibiens dans les instances de décision, (ii) renforcer les capacités de laboratoire et réaliser des autopsies et analyses histologiques.

**Mots clés :** *Amphibiens, Épidémiologie, Évaluation, Mortalité, Parc national, Ranavirus, Système de surveillance*

## **Health surveillance of amphibians in the French national parks and epidemiological analysis of the ranavirus-induced mortality events on those territories**

Ranavirus and chytrid fungi are major causes of mass mortality events in amphibians. Consequently, amphibians are monitored in French National Parks (NP) for disease-associated mortality. We studied the resulting data from the Mercantour NP to identify some drivers of ranavirus infections in *Rana temporaria*. Temperature had a significant positive correlation with the risk of infection. We also highlighted the limitation of such data and therefore we proposed relevant variables that should be recorded. Then, we evaluated the surveillance network of amphibian mortality in French NP using the OASIS method. We brought out the main strengths but also, limitations to the efficiency and simplicity of the network. Those observations resulted in recommendations to improve the surveillance, such as (i) inclusion of amphibian discussion and experts to existing steering committees, (ii) reinforcement of laboratory capacity and the setting-up of necropsies and pathology analysis.

**Keywords :** *Amphibians, Epidemiology, Evaluation, Mortality, National park, Ranavirus, Surveillance network*