



Rapport de stage pour l'obtention du diplôme de Master

(*Gestion Intégrée des Maladies Animales Tropicales*) :

Analyse des déterminants de mortalité de Grenouilles rousses (*Rana temporaria*) dues aux ranavirus dans le parc national du Mercantour, et évaluation du système de surveillance sanitaire des amphibiens dans les parcs nationaux français métropolitains

Présenté par : Loïc Palumbo

Lieu de stage : CEFE, CNRS, 1919 route de Mende, 34293 Montpellier, France

Période de stage : du 04/01/2021 au 30/06/2021

Réalisé sous la direction de :

- Claude Miaud, directeur d'étude EPHE, UMR 5175 CEFE CNRS , Montpellier
- Sylvain Larrat, Vétérinaire consultant, Pôle EVAAS, VetagroSup, Lyon

Enseignant référent : Guillaume Le Loc'h, ENVT, Toulouse

Financé par : Parcs Nationaux de France, représentés par Thierry Durand

Soutenu le : 15/06/2021



ABSTRACT (363 words)

Ranavirus and chytridiomycosis are major causes of mass mortality events (MME) in amphibians, including in protected areas. Consequently, amphibian populations are monitored in French National Parks (NPs) for disease-associated mortality since the first detection of ranavirus in France in *Bufo bufo* in 2011. We studied this surveillance database to identify the main drivers of ranavirus infections in common frog (*Rana temporaria*). Human activities, temperature, and composition of local ecosystems were hypothesised as contributing factors, then we analysed (logistic regressions) the impact of 25 variables describing those drivers. Temperature had a significant positive correlation with the risk of infection. The effects of other drivers were not statistically significant, with missing data for many of the studied variables hampering analysis. It highlighted that further study of several possible drivers of ranaviral infection is warranted. So, we propose relevant variables that should be recorded along with all mortality recording in the future. In addition, we modeled detection of MME in French NPs. We used a Laplace model, with estimated values for the peak of detection probability and the rate at which MME become undetectable. This analysis highlighted a good detectability (>80%) of MME with current amphibian surveillance. To go further, we evaluated the surveillance network of amphibian mortality in French NPs using the OASIS method. The evaluation established that its main strengths are: (i) active participation of agents enabling the investigation of many mortality events, (ii) a strong will of supervisors to implement effective monitoring of amphibian populations. The following limitations were identified: (i) the absence of national coordination decreases the sustainability of the network, (ii) the insufficient number of lab agents delays the possibility of management actions, (iii) the lack of standardised protocols and dedicated work-time prevent the detection of mortalities in cryptic populations. 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 histology techniques, (iii) active surveillance of endangered species. Overall, this study highlighted the role of National Parks in the understanding of amphibian pathogens and mortality causes, and the key actions that are advised to transform research into surveillance.

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

RÉSUMÉ (371 mots).

Ranavirus et chytrides sont des causes majeures de mortalités massives (MM) d'amphibiens, y compris dans les zones protégées. Suite à la première détection de ranavirus en France chez des *Bufo bufo* en 2011, les Parcs Nationaux (PN) français, ont instauré une surveillance sanitaire des amphibiens. La base de données résultant de cette surveillance a été étudiée pour déterminer les principaux facteurs de risque de ranavirose chez la grenouille rousse (*Rana temporaria*). Les facteurs supposés avoir un rôle étaient les activités humaines, la température et la composition des écosystèmes, nous avons donc étudié (régressions logistiques) 25 variables les décrivant. La température est la seule variable corrélée significativement, et positivement, au risque d'infection. Mais, de nombreuses variables présentaient trop de valeurs manquantes pour permettre une analyse. Ce travail a souligné le besoin d'études complémentaires pour étudier le rôle de ces facteurs. A cette fin, nous avons proposé des variables d'intérêt qui devraient être systématiquement collectées lors de mortalité. En complément, nous avons modélisé la détection de MM dans les PN, en utilisant un modèle de Laplace avec des paramètres estimés. Cette modélisation a révélé une bonne détectabilité (>80%) avec la surveillance actuelle. Pour aller plus loin, nous avons évalué le réseau de surveillance des mortalités d'amphibiens dans les PN, en utilisant la méthode OASIS. Les principaux points forts détectés sont : (i) une forte implication des agents permettant d'investiguer de nombreuses mortalités, (ii) une volonté des référents d'assurer une surveillance efficace des populations d'amphibiens. Mais l'efficacité de cette surveillance est limitée par : (i) l'absence de coordination centrale qui diminue sa résilience, (ii) des délais de laboratoires importants, (iii) l'absence de protocole standard et de temps dédié qui empêchent la détection de mortalité d'espèces cryptiques. A partir de ces observations, des recommandations d'amélioration de la surveillance ont été faites, dont (i) l'inclusion d'experts et de temps de discussion sur les amphibiens aux instances de décision, (ii) le renforcement des capacités de laboratoire et la réalisation d'autopsies et analyses histologiques, (iii) l'instauration d'une surveillance programmée pour les espèces en danger. En conclusion, cette étude souligne le rôle des PN dans la connaissance des pathogènes et causes de mortalité d'amphibiens et propose des voies d'évolution visant à transformer l'effort de recherche scientifique en surveillance sanitaire.

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



Table des matières

Introduction générale.....	1
Synthèse bibliographique.....	2
Partie I : Analyse des facteurs de risque d'infection de grenouilles rouges (Rana temporaria) par un ranavirus, Parc National du Mercantour.....	11
<i>Contexte</i>	11
<i>Matériels et méthodes</i>	12
<i>Résultats</i>	15
<i>Discussion</i>	18
<i>Conclusion</i>	19
Partie II : Modélisation de la probabilité de détecter un épisode de mortalité massive de grenouille rousse dans les parcs nationaux.	19
Partie III : Evaluation OASIS du réseau de surveillance des mortalités d'amphibiens dans les parcs nationaux de montagne.....	21
<i>Contexte</i>	21
<i>Outils et déroulement de l'évaluation</i>	21
<i>Résultats</i>	23
<i>Recommandations</i>	26
<i>Discussion</i>	30
<i>Conclusion</i>	30
Conclusion générale	30
Bibliographie.....	31
Annexes	37

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 et des Anoures, sauf mentions contraires.

Les sigles et acronymes utilisés dans ce rapport sont repris en Annexe 1.

Table des tableaux

Tableau 1 : Principales caractéristiques épidémiocliniques des syndromes ulcératifs, hémorragiques et mixtes causés par des ranavirus chez les amphibiens adultes	6
Tableau 2 : Principales caractéristiques des protocoles de collecte utilisés pour la détection de ranavirus chez des grenouilles rouges (Rana temporaria) dans le PN du Mercantour.....	12
Tableau 3 : Variables testées comme facteurs de risque d'infection de grenouilles rouges par des ranavirus dans le PNM.	13
Tableau 4 : Modèle final (F) issu de la sélection du modèle explicatif du statut infectieux des grenouilles rouges par des ranavirus dans le PNM.	16
Tableau 5 : Paramètres du modèle de détection d'EMM dues à des ranavirus sur des grenouilles Rana temporaria, PNM selon 3 scénarios (modèle de Laplace, Brunner et al 2021).	20
Tableau 6 : Constitution de l'équipe d'évaluation.....	21
Tableau 7 : Recommandations pour l'amélioration du réseau de surveillance des amphibiens.....	28



Table des figures

Figure 1 : Répartition mondiale des espèces d'amphibiens basée sur la richesse spécifique.	1
Figure 2 : Mécanismes de pénétration cellulaire et de réplication virale des Ranavirus	3
Figure 3 : Phylogénie des Ranavirus affectant les amphibiens	4
Figure 4 : Sources de contamination des amphibiens par des ranavirus.....	7
Figure 5 : Distribution des ranavirus en Europe.	8
Figure 6 : Arbre causal hypothétique des infections d'amphibiens par des ranavirus, PNM	11
Figure 7 : Protocole d'analyse PCR de recherche de ranavirus, échantillons de grenouille rousse.	12
Figure 8 : Structure des données pour les 25 variables d'intérêt dans le modèle de détermination des facteurs de risque d'infection par des ranavirus chez des grenouilles rouges du PNM.	15
Figure 9 : Statut infectieux des grenouilles rouges du PNM vis-à-vis des ranavirus	17
Figure 10 : Modélisation de la probabilité d'observer un événement de mortalité massive de grenouille rousse dans le PNM, en fonction du nombre d'observations sur la saison.	20
Figure 11 : Organisation actuelle de la surveillance sanitaire des amphibiens dans les PN de France.	21
Figure 12 : 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.	24
Figure 13 : 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, maladies présentes.	25
Figure 14 : 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.....	26
Figure 15 : Proposition de modification de l'organisation de la surveillance sanitaire des amphibiens dans les PN pour améliorer le fonctionnement et la pérennité du réseau.	27

Table des annexes

Annexe 1 : Sigles et acronymes.....	37
Annexe 2 : Évolution spatio-temporelle des analyses de mortalité d'amphibiens en fonction du statut infectieux ranavirus dans le PNM	Erreur ! Signet non défini.
Annexe 3 : Exemple de fiche d'accompagnement de prélèvements d'amphibiens dans le PNM.....	40
Annexe 4 : Sélection de modèle linéaire généralisé (logistique) investiguant l'effet de différentes variables sur le statut infectieux (approximé par le Résultat d'analyse qPCR).....	41
Annexe 5 : Distribution des observations en fonction des températures	42
Annexe 6 : Définition des différentes unités du réseau de surveillance.....	43
Annexe 7 : Termes et conditions de l'évaluation, transmis par mail aux responsables du réseau pour validation de la démarche avant mise en application	44
Annexe 8 : 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.....	45
Annexe 9 : Panel de validation de l'évaluation après attribution des notes et commentaires par l'équipe d'évaluation.....	47
Annexe 10 : Liste des personnes interviewées et modalités de réalisation des entretiens.....	48
Annexe 11 : Détail des critères et notes pris en compte pour le calcul des sorties graphiques	49
Annexe 12 : Besoins pour l'amélioration du réseau de surveillance, identifiés lors des entretiens et présentés par section OASIS	57



Introduction générale

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

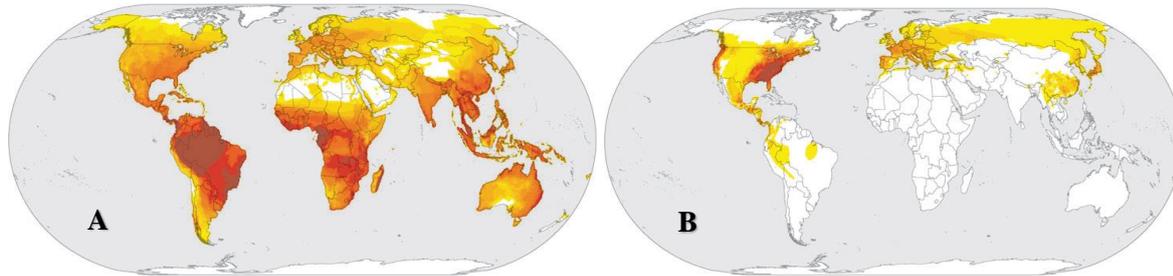


Figure 1 : Répartition mondiale des espèces d'amphibiens basée sur la richesse spécifique.

- 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'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 déclins 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'IUCN. 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 (*Batrachochytrium dendrobatidis* & *B. salamandrivorans*) (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 ces trois maladies au sein de la liste des maladies des amphibiens à déclaration obligatoire (Schloegel et al. 2010) ([Liste des maladies notifiables OIE](#), 2020). Il faut cependant noter que l'investigation des maladies des amphibiens est un champs de recherche relativement récent, et en évolution constante (Wirth et al. 2021). Il est possible que, dans les années à venir, d'autres agents pathogènes soient identifiés comme des causes de déclin de ces populations, tels que des virus du genre *Batrachovirus* (F/ *Herpesvirus*) (Licheri et al. 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 déclins 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 (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, ils 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 triple. 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, composition de l'écosystème local) sont semblables à ce qui est observé au Royaume-Uni (North et al. 2015) mais avec des particularités propres au contexte d'espace protégé. Dans un deuxième temps, la détectabilité des événements de mortalité de grenouille rousse dans le PN du Mercantour est modélisée, car elle représente une possible limite à la surveillance. Troisièmement nous procédons à l'évaluation de la surveillance des populations d'amphibiens dans les PN français, en réalisant une évaluation semi-quantitative du dispositif à l'échelle métropolitaine avec la méthode OASIS (Hendriks 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.

Synthèse bibliographique

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 3 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 *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 permettant de confirmer cette étiologie ont été confirmés 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 les 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 (Tripiet 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 virus du genre *Ranavirus*

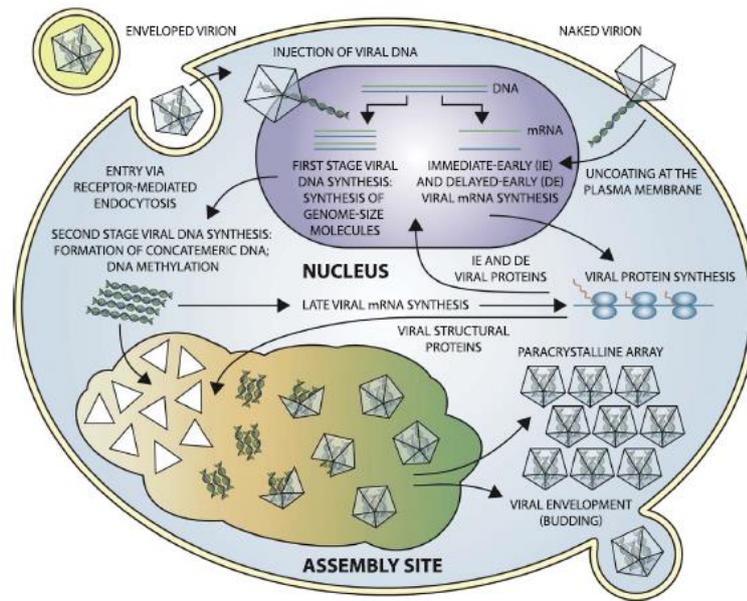


Figure 2 : Mécanismes de pénétration cellulaire et de répllication virale des Ranavirus

(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 *Iridovirus* 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 *Iridovirus*, sous famille *alpha-iridoviridae* (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 trois espèces (avec différentes souches) de ranavirus affectant les amphibiens (7 espèces tous hôtes confondus) reconnues par l'*International Committee on Taxonomy of Viruses* (2020) : **FV3, ATV & CMTV**.

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.

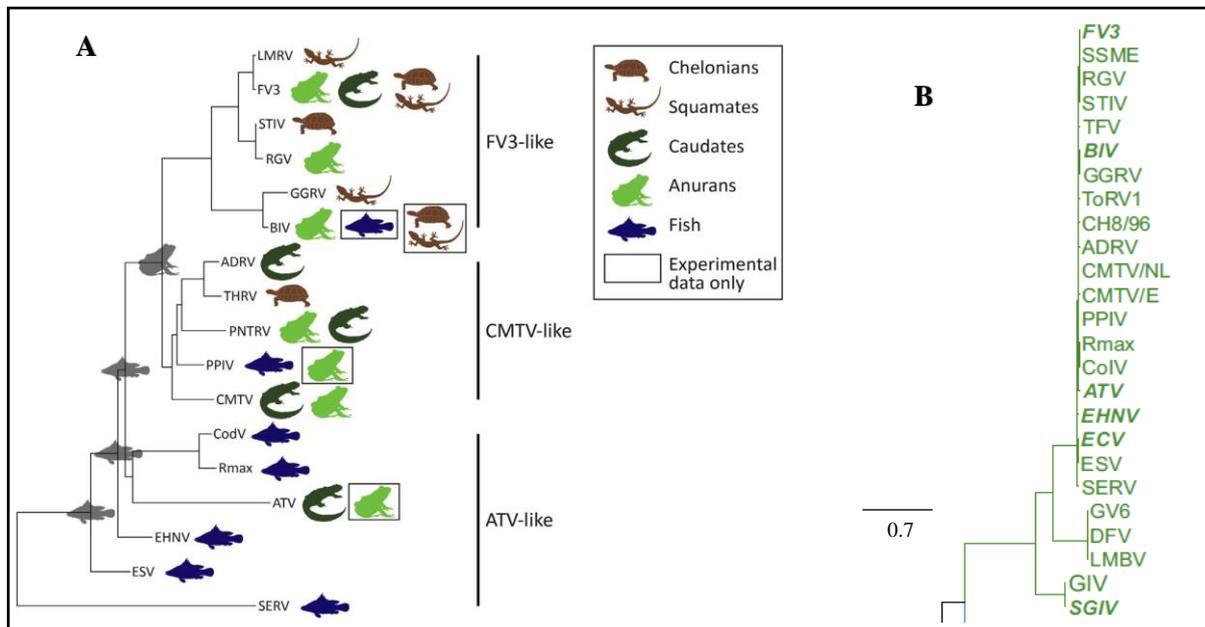


Figure 3 : Phylogénie des Ranavirus affectant les amphibiens.

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 virus ATV-like sont groupés avec les ranavirus de poissons en un groupe paraphylétique.

B) Phylogramme avec Maximum de Vraisemblance pour le genre *Ranavirus* basée 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 poikilothermes 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 ait 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'*Ambystoma Tigrinum Virus* (ATV), décrit suite à des mortalités massives et répétées 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).

Par ailleurs, 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 *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 des mortalités massives, 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 mortalité.

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). 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 mort de ranavirose, et sont considérées comme secondaires voire post-mortem (Cunningham et al. 2007; Balseiro et al. 2009).

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 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).

Tableau 1 : Principales caractéristiques épidémiolo-cliniques des syndromes ulcératifs, hémorragiques et mixtes 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%.

GNN : GraNulocytes Neutrophiles ; GNA : GN acidophiles ; GNB : GN basophiles ; L : lymphocytes

	Syndrome hémorragique (H)	Syndrome ulcératif (U)	Syndrome mixte (U+H)
Lésions externes	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Hémorragie généralisée ➤ Œdèmes sous-cutané (25%) 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Ulcérations du derme ➤ Nécroses postérieurs (stade avancé, 50%) +/- perte de phalanges ➤ Amyotrophie (30%) 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Ulcération Epidermiques et dermiques ➤ Œdèmes sous-cutané (30%)
Perte d'état, possibles érythèmes cutanés (50%) et linguaux, rougeurs de peau (50%)			
Lésions internes systémiques	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Hémorragie interne généralisée ➤ Pétéchies systémiques ➤ Ecchymoses hémorragiques musculaires (85%) 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Possibles saignements localisés (25%) ➤ Absence d'hémorragie ou d'érythème systémique 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Hémorragie interne généralisée ➤ Pétéchies systémiques
Atteinte des organes internes	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Pancréas : hémorragies et nécroses (5%) ➤ Foie : congestion (25%) ➤ Rate : Congestion +/- nécroses (15%) ➤ Gastro-entérite sévère +/- hémorragique 	Gastro-entérite légère (15%)	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Pancréas : hémorragies et nécroses (30%) ➤ Foie : congestion (40%) ➤ Vessie : congestion et hémorragies (40%) ➤ Rate : Congestion +/- nécroses (30%) ➤ Gastro-entérite sévère +/- hémorragique
Congestion pulmonaire (30%), congestion rénale (10% U, 25 %HS, 30% U+HS), (pétéchies et/ou érythème testiculaire / sur les oviductes (10% U, 75%HS, 95% U+HS))			
Histologie	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Nécrose extensive épidermique ➤ Foie : Inclusions cytoplasmiques (GNB + GNA) ➤ Nécroses rénales ➤ Gastro-entérite hémorragique et nécroses (75%) 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Zones d'ulcération dermique avec nécrose. Invasion (GNN + L) ➤ Rares nécroses rénales interstitielles (20%) 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Nécrose extensive épidermique ➤ Ulcération dermique avec nécrose. Invasion (GNN + L) ➤ Foie : Inclusions cytoplasmiques ➤ Nécroses rénales ➤ Gastro-entérite hémorragique et nécroses
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Nécroses focales : <i>stratum basale et s. spinosum</i> ➤ Poumons : congestion (70%), hémorragie +/- nécrose (1/2 des 70%) ➤ Foie : mélanomacrophages □ (25%), nécrose focale aiguë (25%) <ul style="list-style-type: none"> ➤ Lésions cardiaques (20%) ➤ Rate : nécrose focale aiguë (40%), congestion (50%), déplétion lymphoïde (50%) <ul style="list-style-type: none"> ➤ Reins : infiltration granulocytaire interstitielle et sous-capsulaire ➤ Congestion vésicale ➤ Langue : nécrose, inflammation granulocytaire, congestion, hémorragies 			
Mortalité	Elevée et mortalités massives	<25%, atteinte chronique	Elevée et massive
Epidémiologie	Environ 50% des cas Fortes doses virales Développement aiguë	Environ 50% des cas Doses virales faibles Subaiguë, évolution lente	Syndrome rare (<10-15%)
Modes de transmission : contact, ingestion (cannibalisme) ou bain dans eau contaminée			

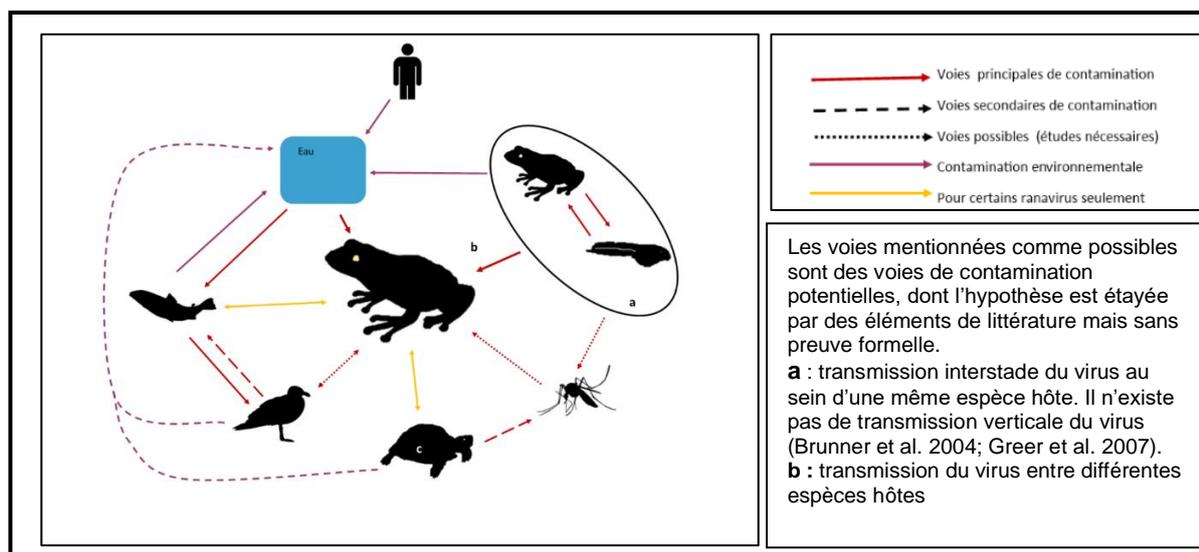


Figure 4 : Sources de contamination des amphibiens par des ranavirus.

Les anoures et urodèles sont représentés de la même façon à tous les stades par la grenouille centrale.
 La tortue (c) représente tous les reptiles porteurs de 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 (Brunner et al. 2004), ainsi que par la persistance longue du virus dans les eaux et sédiments (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 jusqu'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, de même que la recherche histologique de lésions évocatrices 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 des mortalités 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)(e.g. 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 et sont à l'origine d'un nombre important de mortalités massives (Allain et al. 2019). En 1991, une première description de cas de mortalité massive

d'amphibien « Ranavirus-like » est reportée 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 les mortalités soient décrites depuis les années 1980. Cette description a été faite au Royaume-Uni, suite à des mortalités de crapaud commun (*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 (Soares et al. 2003; 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 anoures 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) (Fig. 5).

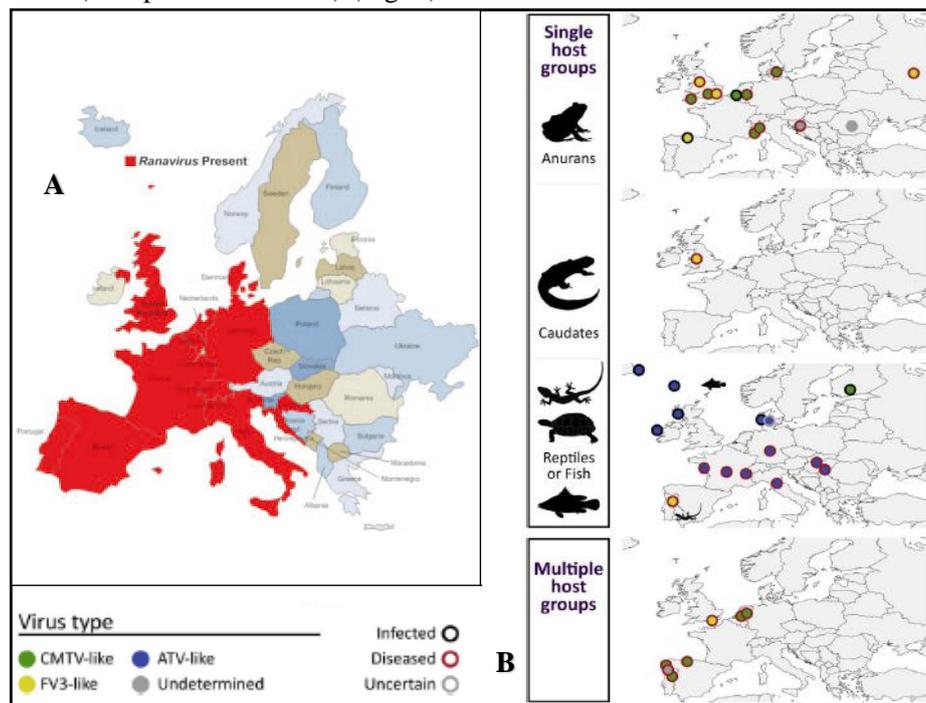


Figure 5 : Distribution des ranavirus en Europe.

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

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

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

La détection des ranavirus chez les amphibiens peut se faire à l'aide 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 récurrent 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), bien qu'actuellement la révélation par électrophorèse ai été 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.

Toutefois, la qPCR amplifiant les 530pb du gène MCP reste la technique de référence pour un diagnostic de ranavirus, 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 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 satisfaisant pour la recherche de ranavirus (M. J. Gray et al. 2012). Les seuls prélèvements vitaux 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 diagnostique largement satisfaisante (St-Amour et al. 2007; Greer et al. 2007; M. J. Gray et al. 2012), très proche 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 du 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 diagnostique. 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 screening pour la présence de ranavirus ainsi que d'autres pathogènes tels que les chytrides (Brannelly et al. 2020). Ces différents outils rendent la surveillance des populations d'amphibiens vis-à-vis des pathogènes possible à grande échelle, malgré des moyens humains et financiers limités.

Les différentes structures ayant pour mission la conservation des populations sauvages, tel que les PN français, 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 constituent un outil important dans le suivi de la santé globale des écosystèmes vis-à-vis de nombreuses menaces pour les populations sauvages (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 pathogènes qui font partie des causes de ce déclin. Pour améliorer cette compréhension et notre connaissance de ces différents pathogènes émergents (e.g. *Ranavirus*, *B. dendrobatidis* (*Bd*), *B. salamandrivorans* (*Bsal*), *Batrachovirus*), il est possible d'utiliser différents modèles. Cependant ces derniers nécessitent d'être correctement paramétrés, ce qui requiert de nombreuses données (Campbell et al. 2020), et idéalement sur le long terme (Teacher et al. 2010). De par leur nature et leurs attributions, les Parcs nationaux occupent théoriquement une place idéale pour fournir de telles données.

Par ailleurs, trois de ces 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 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 du chytride en cas d'introduction (Dalibard et al. 2020, p19).

En France, 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 des mortalités massives d'amphibiens et de la nécessité de surveiller la circulation de 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 rousse (*Rana temporaria*), concernant 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 est le CMTV. A l'issue de ces 2 phases de détection du virus, une expérience d'infection expérimentale a permis de compléter les postulats de Koch et de relier les mortalités massives observées au 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 Parcs possèdent tous une veille sanitaire qui comprend une surveillance et une investigation des mortalités massives 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 des mortalités individuelles de grenouille rousse (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 ne sont pas sans répercussion sur le poids global des maladies surveillées. En effet les 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 Parcs nationaux 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 dans le domaine 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 l'inclusion d'une évaluation d'efficacité économique de la surveillance est à inclure pour compléter la démarche (Calba et al. 2015).

Partie I : Analyse des facteurs de risque d'infection de grenouilles rouses (*Rana temporaria*) par un ranavirus, Parc National du Mercantour

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 rouses (*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 grenouille (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). En 2016, une étude a été menée sur le site par Claude Miaud, et des grenouilles (vivantes et mortes) ont été testées pour la présence de ranavirus selon le même protocole PCR que les échantillons issus de la surveillance (Miaud et al. 2019). Les données brutes récoltées lors de cette étude ont également été incluses dans la présente étude en complément.

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 de l'espèce et du stade de développement de l'hôte, ainsi qu'un effet négatif des fortes températures et des activités humaines (pêche, tourisme, élevage) sur le risque d'infection. Une corrélation du risque infectieux 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 et la composition paysagère (fig. 6) (dont la présence de plantes invasives (Maerz et al. 2005)) étaient également supposés.

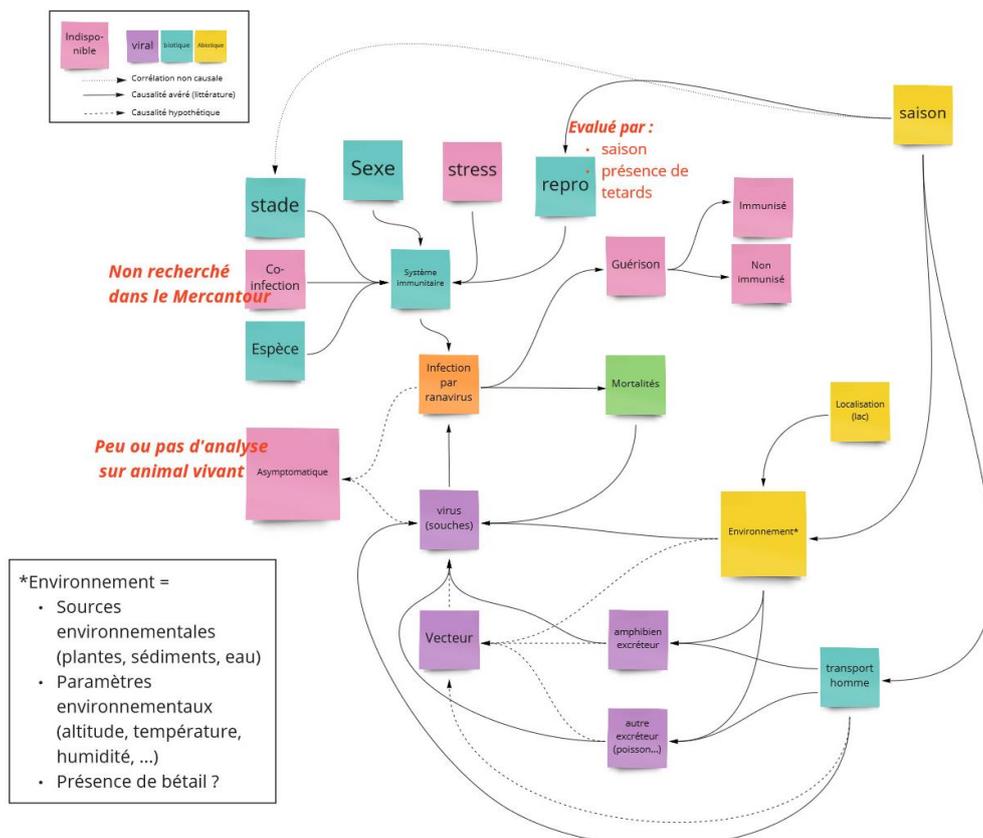


Figure 6 : Arbre causal hypothétique des infections d'amphibiens par des ranavirus, PNM.

Matériels et méthodes

Les prélèvements d'échantillons de grenouilles rouges 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 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 rouges (*Rana temporaria*) dans le PN du Mercantour.

	Protocole de surveillance PNM	Protocole de C. Miaud 2016
Points communs	- Réalisé sur le site du PNM - Amphibiens collectés : <i>Rana temporaria</i> - Recherche systématique de Ranavirus - Informations : sexe, stade de développement, localisation, date	
Différences	- Continu de 2011 à aujourd'hui - Ensemble des lacs - Surveillance événementielle - Effort d'échantillonnage faible à modéré - Individus morts seulement - Analyse PCR seulement sur organes internes - Analyse en culture cellulaire avant 2016	- Ponctuel été 2016 - 3 lacs : Balaour, Merveilles et Prals - Protocole de recherche - Effort d'échantillonnage intense - Individus morts ou vivants - Analyse PCR sur organes internes ou clips - Prélèvement et analyse de poissons

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 CEFE par amplification de la séquence incomplète du gène codant pour la protéine majeure de capsid, comme décrit précédemment (Miaud et al. 2019). Les analyses ont été réalisées sur ADN extrait à partir de prélèvements de foie ou sections de doigt. Chaque échantillon a été analysé en tripliquât (fig. 7), avec une règle de décision pour statuer du caractère sain ou infecté similaire à celle utilisée dans d'autres études (Hall et al. 2016).

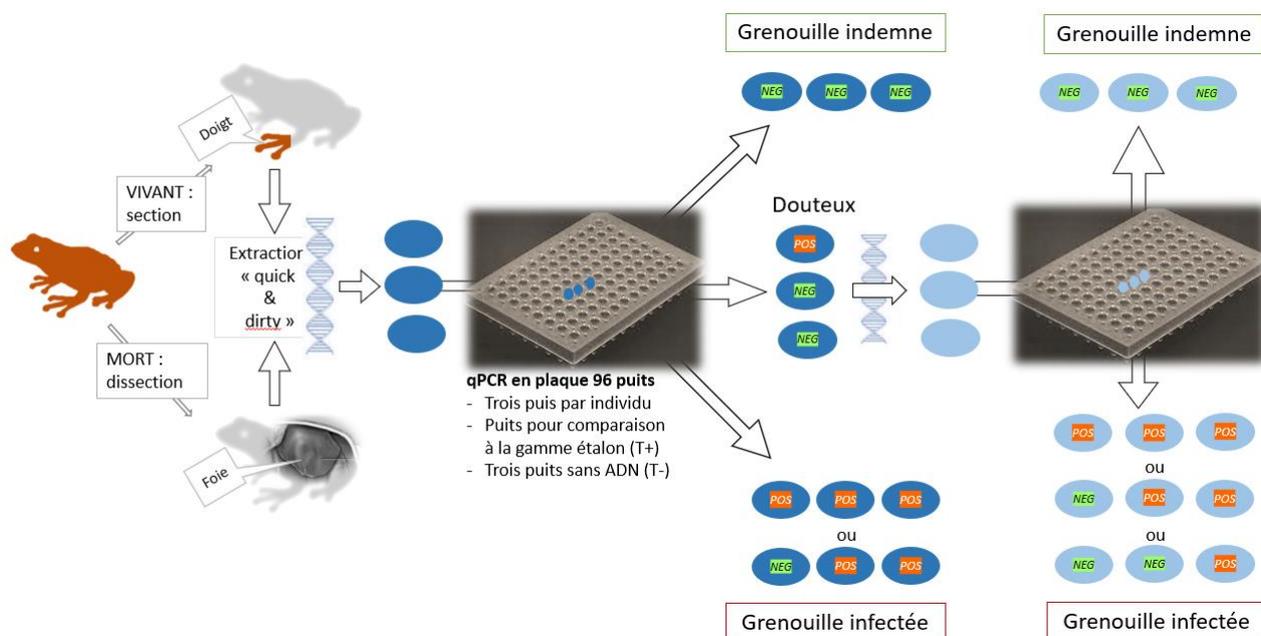


Figure 7 : Protocole d'analyse PCR de recherche de ranavirus, échantillons de grenouille rouge.

Les ronds bleus symbolisent les 3 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.

Les quatre catégories de facteurs de risque suspectées (caractéristiques de l'hôte, température, activité humaine et composition de l'écosystème) ont été explorés à travers 25 variables disponibles pour les sites et périodes de prélèvements (tableau 3). Les populations étudiées étant actives seulement de mai à octobre, la saisonnalité n'est pas un facteur pertinent dans notre étude et a été substituée par le mois de l'année. 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 dans le PNM.

Tableau 3 : Variables testées comme facteurs de risque d'infection de grenouilles rousses par des ranavirus dans le PNM.

Les variables marquées d'une * sont testées séparément comme possible biais pré-analytiques. Les données des recensements SILENE et études sur les invertébrés du PNM étaient trop parcellaires pour être incluses dans l'analyse.

Variable	Format	Origine des données	Facteur de risque testé
Mois de prélèvement		Fiche collecte	<i>Saisonnalité</i>
Espèce	<i>Genre espèce</i> (latin)	Fiche collecte (annexe 3)	Hôte (espèce, stade, ...)
Stade	Têtard ou métamorphosé		
Sexe	Male, femelle ou inconnu		
Température mensuelle de l'air	°C (Correction : -0.65°C par 100m d'altitude).	MétéoFrance SYNOP, moyenne des stations Embrun et Nice.	Température
Altitude	Mètre (m) <i>inclut dans la correction de température sur les données station météo</i>	Extraction SIG	
Qualité de l'eau	Bonne, moyenne, mauvaise	Fiches lac PNM (arrêt de mise à jour en 2014)	Site de collecte
Type de lac	Naturel, artificiel, surélevé		
Type de rives	Abruptes, irrégulières, plates		
Profondeur du lac	m (0 si loin point eau)		
Superficie du lac	m ²		
Gel complet	Possible ou non		
Assèchement	Possible ou non	Extraction SIG	Activité humaines
Zone	Zone cœur ou aire optimale d'adhésion		
Usage du lac	Baignade, pêche, mixte, aucune	Fiches lac PNM (arrêt de mise à jour en 2014)	
Fréquentation du lac	<10pers/j, >10pers/j		
Accessibilité au lac	4 modalités fonction du dénivelé et durée de marche		
Attrait pêcheurs	Catégorielle	Suivi PNM	
Utilisation piscicole	Oui, non		
Présence de bétail	Activité pastorale sur site ou non	Suivi PNM à jour 2021	Composition de l'écosystème local*
Alevinage	Alevinage l'année (n et/ou n-1) du prélèvement ou non		
Vairons	Présence / absence		
Autres poissons	Présence repro / absence		
Amphibiens	Densité (toutes espèces)	Fiches lac PNM (av 2014) + étude MRE + Données SILENE	
Couverture végétale du lac	Espèce majoritaire : Hélophytes, Hydrophyte, Bryophytes, Algues		
Provenance	Données issues de la surveillance du PNM ou de l'étude Miaud et al, 2019 (prélevé en 2016)		<i>Correction biais de protocole</i>
Etat de collecte *	Mort ou vivant	Fiche de collecte	<i>Biais pré-analytiques</i>
Organe analysé *	Foie, section doigt, autre organe		
Délai d'analyse *	Jours (entre prélèvement et analyse)		



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 2). 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.

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).

Une analyse structurelle du jeu de données a été conduite en évaluant pour chacune des 25 variables la proportion de données manquantes. De plus pour les variables catégorielles, la proportion d'observation pour la modalité la plus représentée a été évaluée. Les variables catégorielles ont ensuite été réparties selon quatre groupes (1 à 4) et les variables continues selon deux groupes (1 et 4) :

- Groupe 1 : < 20% données manquantes et répartition homogène entre modalités
- Groupe 2 : < 20% de données manquantes et une modalité sur-représentée ($\geq 50\%$)
- Groupe 3 : 20 à 50 % de données manquantes et une modalité sur-représentée ($\geq 30\%$)
- Groupe 4 : > 50% de données manquantes

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. 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 testé individuellement à l'aide de modèles linéaires généralisés (fonction de lien logistique, $\alpha=0.05$). Ils n'ont pas été inclus dans le modèle multivarié car ils agissent sur le résultat d'analyse et non sur le statut infectieux réellement, et sont fortement colinéaires à de nombreuses variables incluses.

L'effet de chacune des 25 variables (tableau 3) a été testé à l'aide d'un modèle linéaire généralisé univarié avec fonction de lien logistique. Les variables ayant un effet statistiquement significatif au seuil de 80% ($\alpha=0.2$) ont été incluses dans les modèles multivariés successifs. Puis, les données issues des deux protocoles ont été analysées séparément selon les mêmes modalités, et les variables ayant un effet significatif (alors que sans effet significatif lors du test regroupant toutes les observations) ont été incluses dans les modèles multivariés.

Les différentes variables conservées lors des étapes précédentes ont été incluses dans un modèle linéaire généralisé (fonction de lien logistique) multivarié. Ce modèle complet comprend l'ensemble des variables d'intérêt en additif. La non multi-colinéarité des variables explicatives a été vérifiée en retirant les variables parfaitement corrélées (fonction « alias » package « stats ») puis en vérifiant les valeurs du Variance Inflation Factor (fonction « vif » package « car » - Fox & Weisberg 2019). Les variables présentant un VIF > 5 (Kim 2019; Sarkar et al. 2019) ont été exclues successivement, en commençant par celles présentant la valeur de VIF la plus élevée.

A partir de ce modèle sans multi-colinéarité entre co-variables, une sélection mixte a été réalisée pour obtenir le modèle le plus parcimonieux expliquant au mieux les données. Cette sélection a consisté en une phase de sélection descendante de modèles sans interaction, suivi de l'inclusion des interactions au modèle obtenu et à nouveau une phase descendante. Pour réaliser cette sélection, les modèles emboîtés ont été comparés deux à deux grâce à un test de rapport de vraisemblance (LRT). Le passage d'un modèle au suivant reposant sur le retrait de la variable avec l'effet le moins significatif. Le biais d'échantillonnage résultant de la coexistence de deux protocoles de collecte a été pris en compte statistiquement dans l'analyse en incluant dans tous les modèles la variable *Provenance*. Enfin les conditions de validité de la régression logistique ont été vérifiées (indépendance, non-multicolinéarité en additif, absence de valeurs extrêmes influentes, résidus standards inférieurs à 3)

Résultats

Un grand nombre de variables présente une large proportion de données manquantes et/ou peu de variabilité (*ie* sur-représentation d'une modalité) (fig. 8)

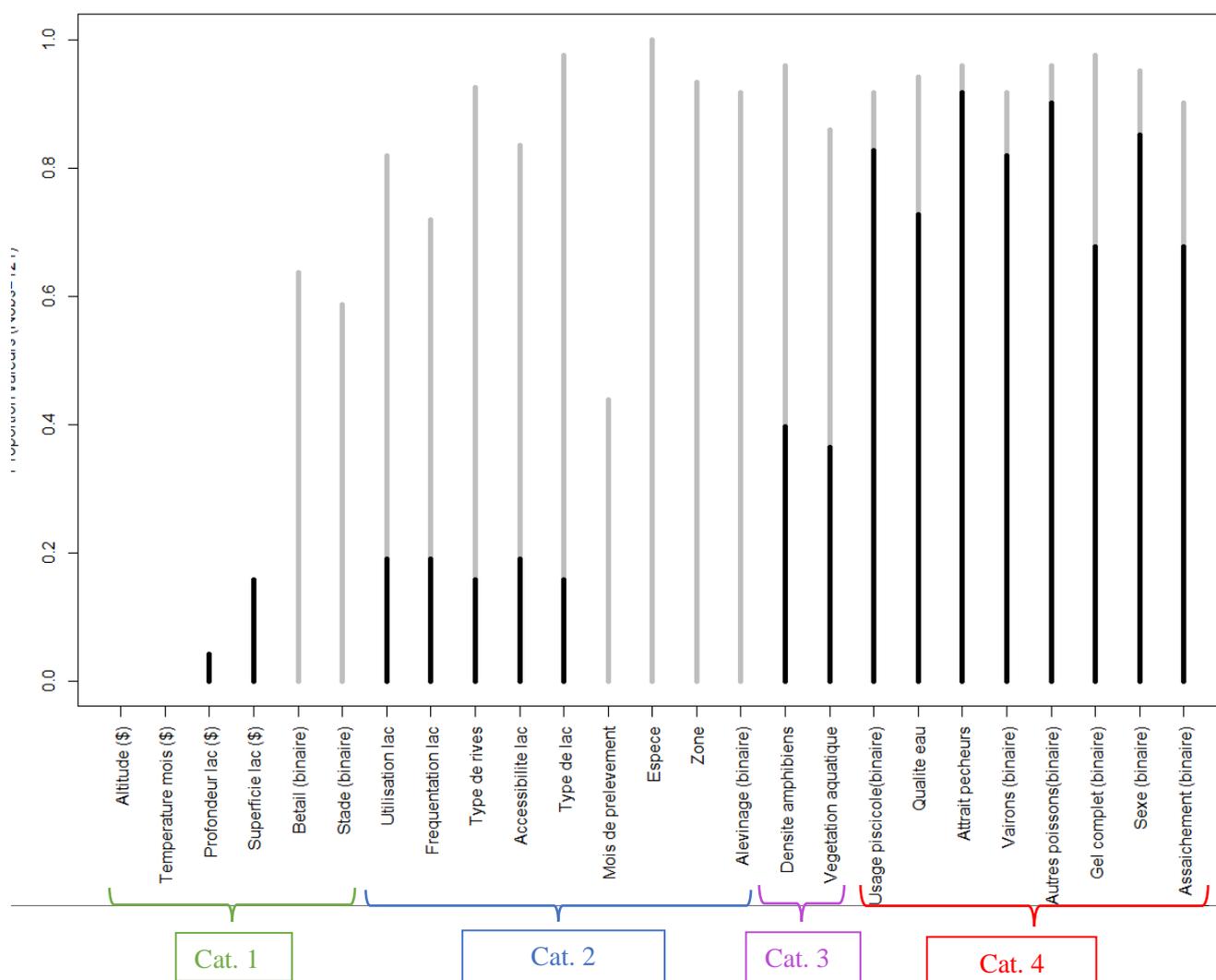


Figure 8 : Structure des données pour les 25 variables d'intérêt dans le modèle de détermination des facteurs de risque d'infection par des ranavirus chez des grenouilles rousses du PNM.

En noir la proportion de données manquantes et en gris la proportion d'observations correspondant à la modalité la plus représentée pour chacune des variables (modalité majoritaire non pertinente et donc non représentée pour les variables continues, repérées par le symbole \$).

Les 25 variables étudiées ont été classées selon les quatre groupes présentés précédemment :

- Groupe 1 - Variables avec des données compatibles avec l'analyse et pertinentes
- Groupe 2 - Variables non pertinente sur notre site
- Groupe 3 - Variables à explorer
- Groupe 4 - Variables avec des données incompatibles avec l'analyse

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 2 observations, et que 20 observations sont manquantes. Il s'agit donc d'une **variable peu pertinente** car très homogène, plus de 80% des lacs étant « naturels ».

Parmi les trois potentiels biais pré-analytiques testées, seul l'organe analysé présente une corrélation significative ($p=0.012$) avec le statut infectieux (les analyses de doigts étant corrélées à un risque plus faible d'infection que les analyses de foies, $OR = 0.26$).

Parmi les vingt-cinq variables d'intérêt, cinq ont un effet significatif sur le statut infectieux en analyse univariée sur l'ensemble des données : le mois de prélèvement, la température, la zone du parc, la présence de bétail (bovins) et l'assèchement du lac. L'analyse des données séparées selon protocole a conduit à conserver une variable supplémentaire : le stade de développement.

La colinéarité forte entre l'altitude et la température, liée à la méthode de calcul de la température (tableau 3), a conduit à retirer la variable d'altitude du modèle (de même concernant le mois de prélèvement). De plus, la variable d'assèchement du lac a été retirée car présentant trop de données manquantes (82/121) et la variable de zone a été retirée car présentant trop peu de variabilité générant des erreurs liées à la faible taille d'un des groupes (8/121 AOA et 113/121 ZC). Concernant la présence de bétail : la présence de petit-ruminants, porcins ou équidés n'ont pas d'effet lors de l'analyse univariée.

A la suite de ces analyses préliminaires le modèle complet sans interactions (1) a été construit en incluant les 4 variables d'intérêt avec un effet individuel significatif (température, présence de bétail, stade, fréquentation du lac) et la variable de provenance (Annexe 4). Les co-variables de (1) sont non colinéaires. La sélection descendante à partir de (1) a conduit au modèle (2). Enfin, le modèle avec interactions entre les variables étant significativement plus vraisemblable que le modèle (2), il a été conservé comme modèle final (F) (tableau 4).

Tableau 4 : Modèle final (F) issu de la sélection du modèle explicatif du statut infectieux des grenouilles rousses par des ranavirus dans le PNM.

Ddl : degrés de liberté, **Déviante** : déviance expliquée par le modèle (deviance nulle – deviance résiduelle),

Hoslem : résultats du test d'Hosmer & Lemeshow

(Fonction « hoslem.test » package « ResourceSelection » : Lele, Keim & Solymos, 2019)

OR : Odd-ratio associé à la variable avec intervalle de confiance à 95% bilatéral [2.5% ; 97.5%]

	VARIABLES	OR	P-VALUE	AIC	DDL	DEVIANCE	HOSLEM
RESULTAT~	<i>Provenance</i>	2.1[0.7 ; 74.5].10 ²	2.3e-03				Df = 8
	+ <i>Température</i>	1.9[1.4 ; 2.8]	1.3e-04	151.02	117	18.65	p = 0.12
	+ <i>Provenance:Température</i>	5.5[3.7 ; 8.0].10 ⁻¹	2.3e-03				X ² = 13

Intercept ($p\text{-value} = 3.4.10^{-4}$) : $OR = 3.8[0.02 ; 70.9].10^{-3}$

La provenance a un effet statistiquement significatif ($p=2.3.10^{-3}$) sur le statut infectieux, avec une proportion d'individus Infecté/Sain plus importante dans les échantillons issus de la surveillance du PNM (fig. 9A). La température présente également un effet statistiquement significatif ($p=1.3.10^{-4}$) sur le statut infectieux, une température plus élevée étant corrélée à un risque plus important d'infection par les ranavirus (fig. 9B).

De plus, l'interaction entre la température et la provenance a un effet significatif ($p=2.3.10^{-3}$) sur le risque d'infection par des ranavirus. Pour des températures basses ($<10^{\circ}\text{C}$), on retrouve plus d'individus infectés dans les échantillons issus de la surveillance du PNM que dans les échantillons issus de l'étude de 2016. Pour des températures élevées ($>10^{\circ}\text{C}$) la relation s'inverse et on retrouve un risque plus élevé d'infection pour les échantillons issus de l'étude de 2016 (fig. 9B).

ATTENTION : les données analysées ne permettent pas une prédiction fiable, aussi les graphiques ne peuvent pas être interprétés numériquement, mais les tendances observées (statistiquement significatives) peuvent être interprétées.

A

Provenance	Surveillance du PNM	Étude de C. Miaud
Statut infectieux		
Infecté	29% (35/121)	32% (39/121)
Indemne	17% (20/121)	22% (27/121)

Note: Ratios x1.75 and x1.44 are indicated between the columns for 'Infecté' and 'Indemne' respectively.

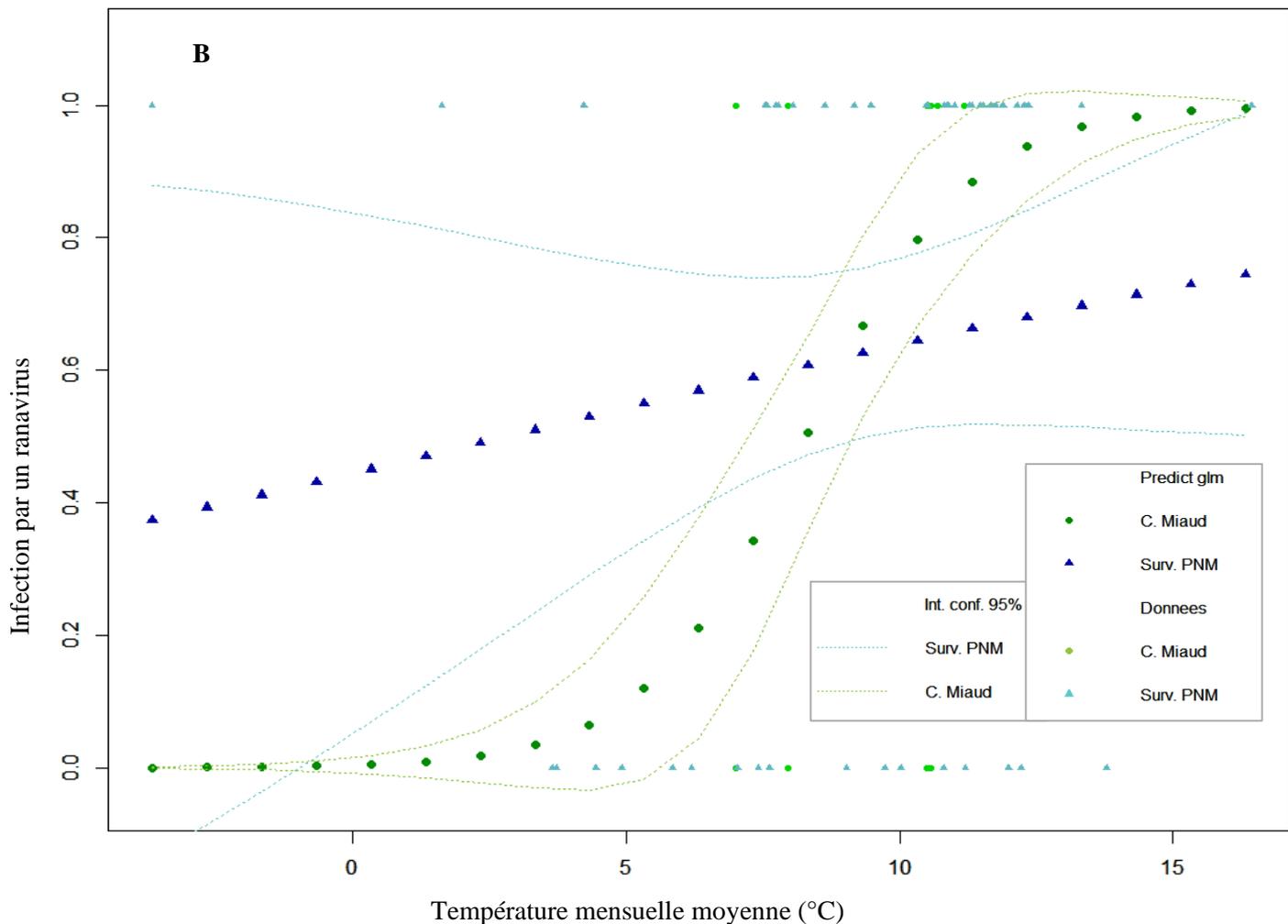


Figure 9 : Statut infectieux des grenouilles rousses du PNM vis-à-vis des ranavirus en fonction : (A) de la provenance ; (B) de l'interaction entre provenance et température (données réelles et prédictions par (F)).

Discussion

Qualité des données

Les données analysées présentent un caractère très parcellaire pour un grand nombre de variables (fig. 8), et de nombreuses co-variables ont été incluses aux données à partir d'étude ponctuelles et d'observations conduites au début des années 2000, soit plus de 10 ans avant les premiers prélèvements. Ceci limite la fiabilité de l'analyse de certains facteurs de risque potentiels. Ce n'est toutefois pas le cas pour la température (relevée le même mois que les prélèvements) et la provenance, seules variables significativement corrélées au risque d'infection.

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, 3 et 4, fig. 8). 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 globalement). Et 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.

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. 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; M. J. Gray et al. 2012). De plus, 100 % (n=20) des analyses par clipping proviennent de l'étude de 2016, pour laquelle on retrouve une plus faible prévalence d'infectés, ce qui pourrait expliquer l'effet observé. En outre, les sections d'extrémités ont exclusivement été réalisées sur des animaux vivants, donc avec une probabilité moindre d'infection *a priori*.

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 2). 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 et les données spatiales disponibles n'incluaient pas les relations 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, sans qu'il ne soit possible d'objectiver 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).

Pour une température donnée, la prévalence d'infection est significativement plus élevée pour les échantillons issus de la surveillance du parc. Cependant cette interaction est à considérer avec précaution, car les données issues de l'étude de 2016 ont été collectées sur une gamme de température très restreinte (Annexe 5A) avec 80% (45/56) des observations se répartissant sur deux températures

(7°C et 10.5°C). Cette répartition des observations est liée à la nature du protocole, avec l'ensemble des échantillons collectés entre juin et début septembre 2016 sur trois sites seulement, et du fait que la température considérée soit la température mensuelle. A cause de cette répartition des observations, il n'est pas possible d'interpréter de façon fiable la sortie du modèle (F) pour ces données (fig. 9B – vert). Il est donc impossible de conclure quant à une différence biologiquement pertinente de risque d'infection en fonction de la température selon que l'on considère l'un ou l'autre des protocoles.

L'interprétation des résultats s'est donc concentrée sur l'effet global de la température, similaire pour les deux protocoles, sans tenir compte des prédictions numériques, ni de la différence entre les deux protocoles. De cette façon, une augmentation du risque d'infection par des ranavirus quand les températures augmentent a été mise en évidence. 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 température propre à l'espace et au biotope considéré. 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 température rencontrée est donc inférieure à celles de la plupart des études antérieures. On constate aussi que l'ensemble des résultats semblent converger avec une augmentation du risque pour des températures entre 10 et 20°C. Cette gamme de température correspond à la température optimale 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 forte.

Conclusion

Il n'a pas été possible de déterminer avec fiabilité le rôle des 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, bien que des analyses complémentaires soient nécessaire pour le préciser. De plus, l'existence de facteurs pré-analytiques influençant le résultat des analyses PCR a été suspecté, et est à prendre en compte pour les analyses futures. Enfin cette étude a permis de déterminer différents paramètres biotiques et abiotiques dont le rôle ne pourra être évalué qu'en incluant leur recensement systématique dans le protocole de surveillance.

Partie II : Modélisation de la probabilité de détecter un épisode de mortalité massive de grenouille rousse dans les parcs nationaux.

Sur la base du constat relatif à la qualité des données disponibles (cf. partie I), la fiabilité de la détection d'épisodes de mortalité massive (EMMs) a été investiguée. L'hypothèse initiale était qu'une faible détection des épisodes de mortalité pouvait expliquer le faible nombre de données.

Le niveau de fiabilité de la détection des EMMs a été réalisé en se basant sur la méthodologie proposée par Brunner et son équipe (Brunner et al. 2021). L'objectif de cette modélisation n'était pas de déterminer avec précision les seuils de détection mais de déterminer si le niveau actuel de surveillance est susceptible de détecter les EMMs d'amphibiens, une probabilité supérieure ou égale à 80% étant considérée en adéquation avec les objectifs de la surveillance.

A cette fin, les paramètres utilisés pour la modélisation (tableau 5) n'ont pas été évalués avec précision lors d'observations expérimentales, mais ont été estimés sur la base des observations passées de mortalité dans le parc et par comparaison avec la situation prise en exemple par Brunner et al. Plusieurs scénarios ont été investigués correspondants aux situations extrêmes envisagées dans le cadre d'EMMs de grenouilles rousses dans le parc du Mercantour. Le phénomène considéré étant autocatalytique, un modèle de Laplace a été utilisé ((Brunner et al. 2021) :

$$P_n(\text{detect}|\alpha, \lambda) = 1 - \int_{x=0}^{\alpha} \prod_{i=0}^{n-1} \left(1 - \frac{2\alpha}{\lambda} f_t \left(\frac{i}{n-1} \middle| x, \lambda \right) \right) dx ; \text{ avec } f_t(z|x, \lambda) = \begin{cases} \frac{1}{2} \times \lambda e^{\lambda(x-z)} & z \geq x \\ \frac{1}{2} \times \lambda e^{\lambda(z-x)} & z < x \end{cases}$$

Ce modèle considère une augmentation exponentielle de l’observabilité jusqu’au pic α , puis une diminution exponentielle au même taux (λ). Les deux paramètres traduisent :

- α : probabilité de détecter l’évènement au pic de détectabilité (1 pour des espèces abondantes en terrain dégagé ; <0.5 pour des espèces cryptiques en zone difficile d’accès).
- λ : augmentation (puis la diminution) de la détectabilité de l’EMM. Dépend notamment des cinétiques de mortalité et de disparition des cadavres. La valeur utilisée dans le modèle est une valeur relative à T , la durée (en jours) de la saison sur laquelle est réalisée la surveillance

Tableau 5 : Paramètres du modèle de détection d’EMM dues à des ranavirus sur des grenouilles *Rana temporaria* du PNM, selon 3 scénarios (modèle de Laplace, Brunner et al 2021).

T : durée de surveillance, ici environ du 10/05 au 10/10 (saison d’activité des grenouilles rouges dans le PNM)
 n : nombre d’observations équiréparties sur la saison (ie une observation est faite tous les $T/(n-1)$ jours)
 $\alpha = 0.9$: moyenne de la probabilité de détection au pic entre tous les lacs (certains étant denses en végétation et moins accessibles), pour une espèce abondante et flottant en surface dans les lacs ou mourant sur berge.
 λ_{abs} : taux de modification de la détectabilité de l’épisode de mortalité (taux absolu, ie par jour). Dépend fortement des stades impliqués (les têtards présentant un comportement de cannibalisme). $\lambda = \lambda_{\text{abs}} * T$

Scénario	T	n	α	λ_{abs}
(a) Croissance puis diminution lente de l’observabilité (adultes)	154	Variable	0.9	0.022
(b) Situation moyenne (adultes + têtards)				0.04
(c) Augmentation de détectabilité et disparition des cadavres rapides (têtards)				0.1

Les résultats de la modélisation (fig. 10) permettent de conclure que pour obtenir une probabilité de détection de 80%, réaliser 10 observations sur la saison est suffisant (quel que soit le scénario envisagé). En additionnant les observations réalisées par les agents du parc et par les visiteurs (sensibilisés aux problématiques sanitaires dans le parc) on obtient 10 observations réparties sur la saison pour une majorité des sites. La surveillance actuelle permet donc à priori une détection fiable des EMMs.

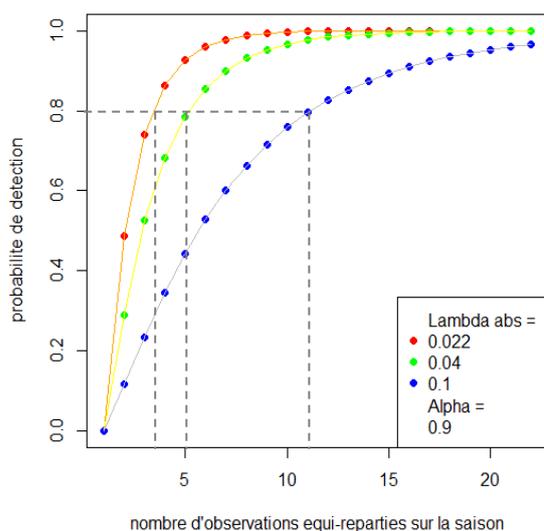


Figure 10 : Modélisation de la probabilité d’observer un évènement de mortalité massive de grenouille rouge dans le PNM, en fonction du nombre d’observations sur la saison.

La probabilité d’observer les évènements de mortalité massive étant en adéquation avec les objectifs, les améliorations pouvant être apportée à la surveillance sanitaire des amphibiens dans les Parcs nationaux sont à rechercher dans d’autres secteurs. C’est avec cet objectif que l’évaluation OASIS, présentée dans la partie III, a été menée.

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

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. 11) 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 6.

Toutefois les objectifs et pratiques des différents parcs étant supposés convergents et uniformisés, 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 présence d'amphibiens sur leurs territoires et de l'absence de surveillance qui en découle.

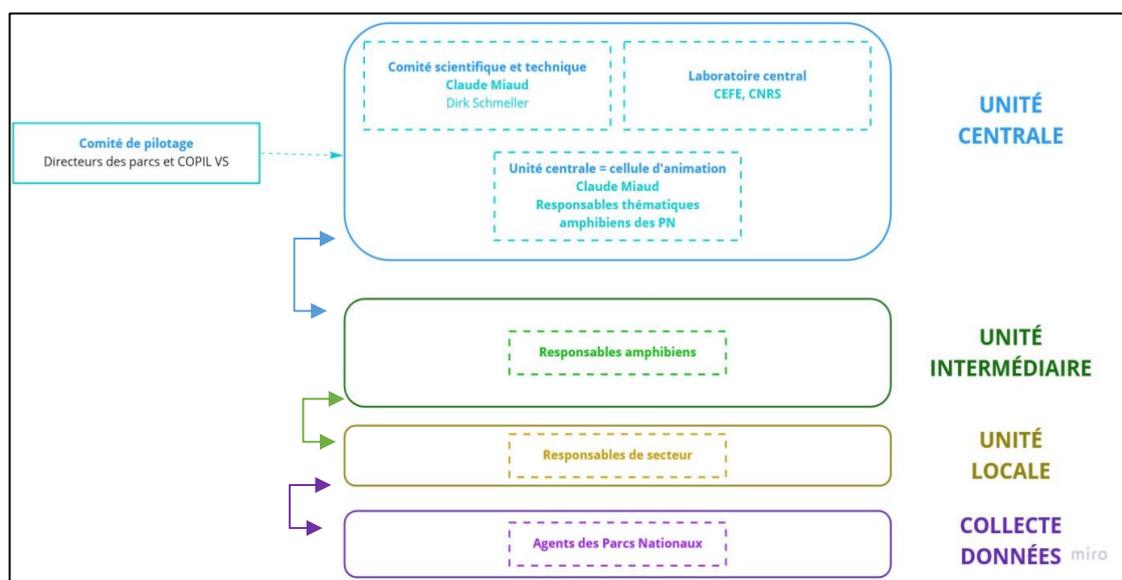


Figure 11 : Organisation actuelle de la surveillance sanitaire des amphibiens dans les PN de France. Le « comité de pilotage » est actuellement distinct de l'unité centrale et peu connecté à cette dernière. L'unité centrale constitue l'organe de direction et d'animation (nationale) de la surveillance, en lien avec les agents des parcs via les unités intermédiaires (actuellement les référents amphibiens des parcs, mais pourrait être supra-parc).

Outils et déroulement de l'évaluation

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 étant 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 (tableau 6).

Tableau 6 : Constitution de l'équipe d'évaluation

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

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 7) 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 8) a en plus 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, à remplir lors des 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 9) représentant les différents partenaires du réseau 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 du présent rapport et d'un diaporama de présentation des résultats et recommandations.

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 le PNF trop récent.

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 chacun des parcs, un échantillon représentatif de l'ensemble des agents.

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 amphibien 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 10. Les différentes personnes interviewées ont consenti à l'utilisation des informations collectées en remplissant un consentement éclairé.

Résultats

Les figures 12 à 14 montrent les résultats de l'évaluation OASIS de la surveillance sanitaire des amphibiens dans les parcs nationaux sous la forme de trois graphiques complémentaires, permettant une appréciation des différents éléments du réseau et de son fonctionnement :

- Le premier graphique (fig. 12) reprend les notes attribuées par section (détail des notes en annexe 11A)
- Le deuxième graphique (fig. 13) illustre les notes en les regroupant selon 7 points critiques (détail des notes considérées en annexe 11B)
- Le troisième (fig. 14) illustre 10 attributs du réseau (détail des notes considérées en annexe 11C)

L'évaluation portant sur la surveillance nationale inter-parcs des amphibiens, la représentation par section (fig. 12) 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 chytrides et les toxiques) 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. De plus le manque de formalisme et d'harmonisation qui en découle impacte 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 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 il souffre d'un manque de résilience, de par son mode de financement et donc de fonctionnement. Ce dernier occasionne souvent des délais de 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 forts 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

* 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

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 et 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 des démarches et d'implémentation d'un outil unique et simple.

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%) entre les différents agents d'un parc est actuellement bien en place. Cependant il existe un besoin d'amélioration de la communication inter-parcs, ainsi qu'un besoin de retour individuel des résultats d'analyses aux agents. Par ailleurs, la communication externe (à destination du public, des pêcheurs, éleveurs, ...) est 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.

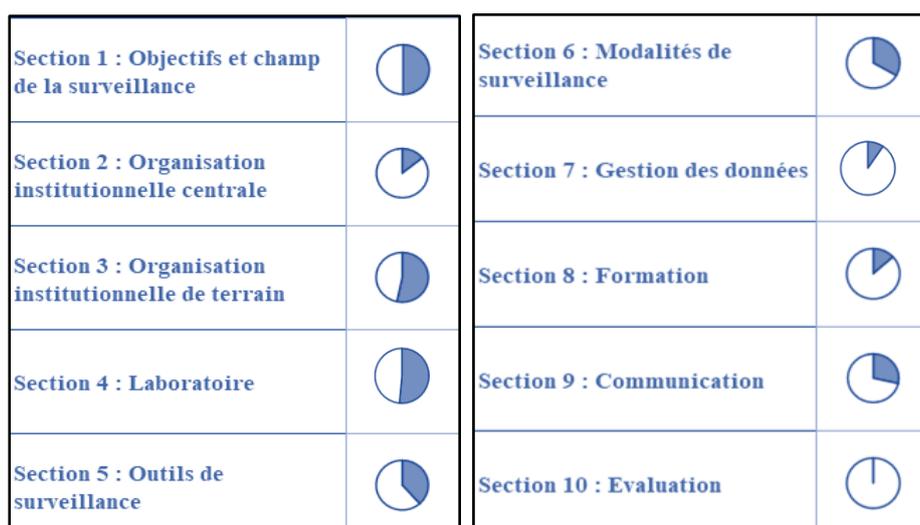


Figure 12 : Sortie 1 de l'outil OASIS – notes par sections de l'évaluation de la surveillance sanitaire des amphibiens dans les parcs nationaux métropolitains de montagne.

La représentation des points critiques du réseau (fig. 13) permet de mettre en évidence trois points satisfaisants (**Objectifs**, **Echantillonnage** et **Outils**) du réseau, 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** du réseau est, comme les points précédents limitée en l'absence d'unité centrale. Mais localement une animation existe de façon satisfaisante par les responsables des thématiques amphibiens et peut servir de base pour l'amélioration de l'animation générale et nationale du réseau.

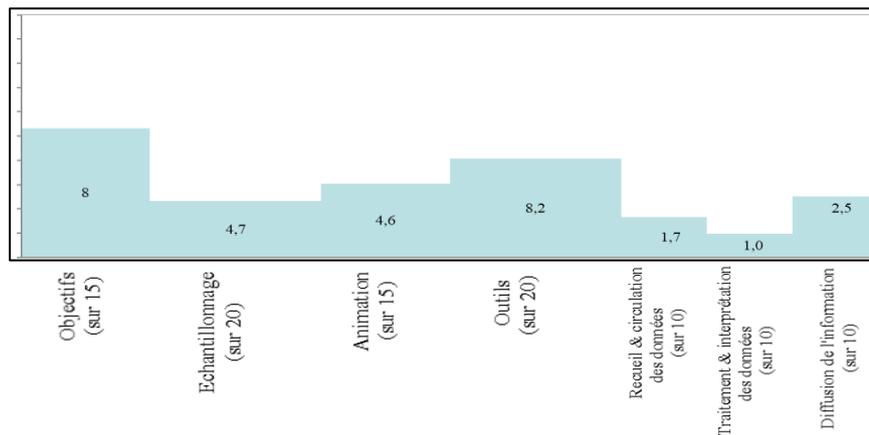


Figure 13 : Sortie 2 de l'outil OASIS – notes de l'évaluation par points critiques de la surveillance sanitaire des amphibiens dans les parcs nationaux métropolitains de montagne, maladies présentes.

La représentation par attributs (fig. 14) 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 amphibiens 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. Cette utilité est actuellement essentiellement le reflet de l'utilité locale, le réseau ayant 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 mode de financement du laboratoire et le mode de fonctionnement qui en découle. En effet, la partie laboratoire du réseau dispose de personnel en nombre limité entraînant, entre autres, des délais de résultats incompatibles avec les objectifs du réseau. 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 des analyses groupées) ce qui augmente encore les délais.

Les quatre derniers attributs : **acceptabilité**, **stabilité**, **fiabilité** et **flexibilité** présentent des notes faibles, qui sont liées au manque de moyens humains et financiers du réseau, qui est actuellement fortement financé par 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. Ces quatre attributs 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.

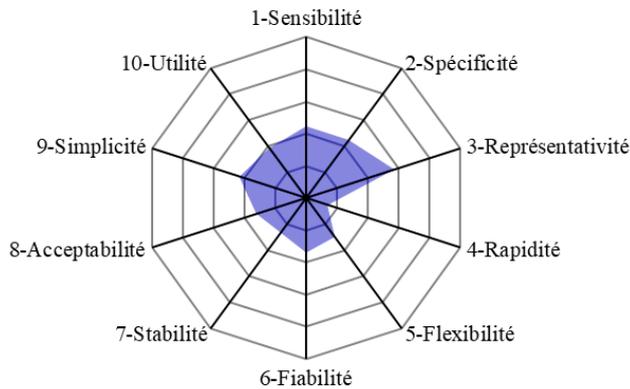


Figure 14 : Sortie 3 de l'outil OASIS – Diagramme en toile d'araignée de l'évaluation de la surveillance sanitaire des amphibiens dans les parcs nationaux métropolitains de montagne.

Recommandations

A l'issu 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 (tableau 7) proposent deux scénarios possibles et sont basées sur les besoins identifiés lors des entretiens (annexe 12). La mise en place des recommandations sera toutefois à réaliser en fonction des objectifs clairement définis par l'ensemble des partenaires. En plus des recommandations, cette évaluation a conduit à une proposition de modification de l'organisation générale de la surveillance (fig. 15) et 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 ne soit pas prévu pour inclure les amphibiens, cette démarche constitue une piste d'amélioration nationale pour le réseau dans un contexte de moyens 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 sentinelles**. 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 de ranavirus 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 événements 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), peut constituer 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 pour ne pas participer à la dissémination d'agents pathogènes.

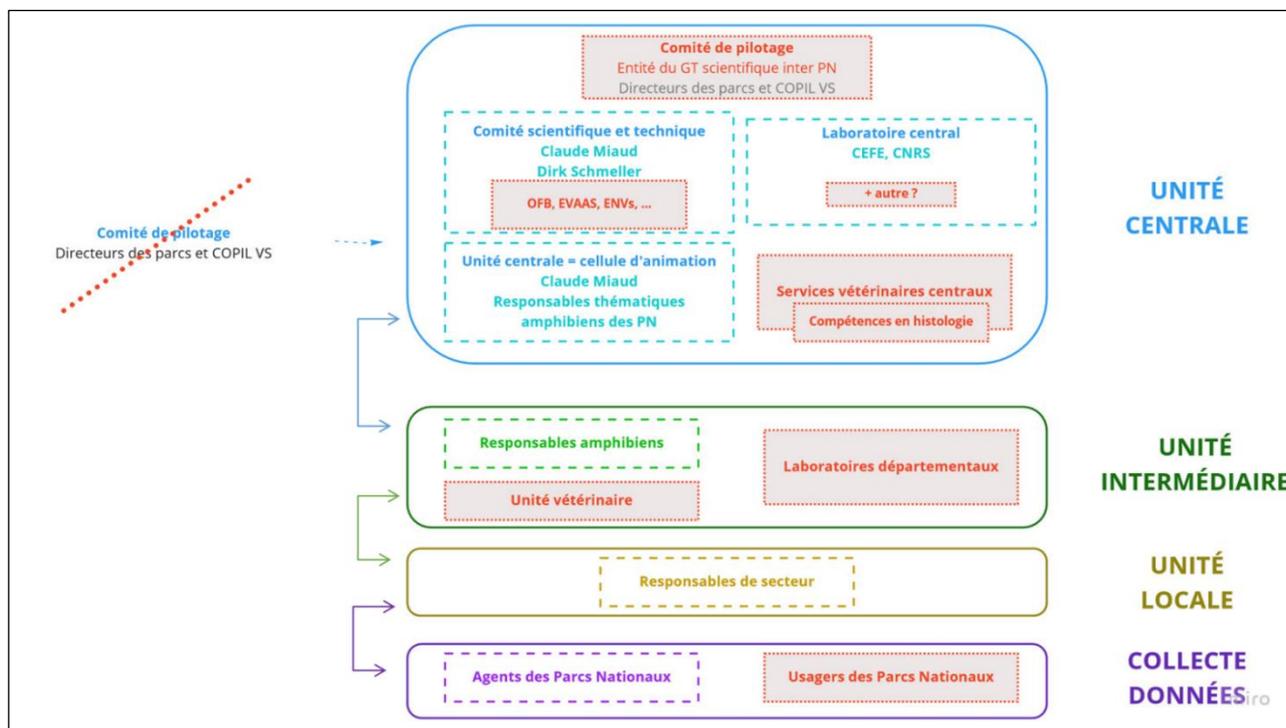


Figure 15 : Proposition de modification de l'organisation de la surveillance sanitaire des amphibiens dans les PN pour améliorer le fonctionnement et la pérennité du réseau.

Les propositions de modifications sont figurées en orange.

Concernant les recommandations générales, le premier scénario nécessiterait de repenser le réseau actuel dans le cadre d'un partenariat central entre les parcs nationaux métropolitains et le réseau SAGIR de l'Office Français pour la Biodiversité (OFB). Ce scénario permettrait au réseau 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 épifaune (et les fiches de terrain associées) pour la collecte et la gestion des données. Ce partenariat permettrait également à plus long-terme de pouvoir intégrer facilement d'autres espaces protégés (parc 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 (et reptiles, voire aux poissons), ainsi qu'une adaptation d'épifaune et des fiches commémoratives. 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. Par ailleurs, le développement (à l'échelon central) d'outils de gestion et collecte de données reste utile.

En outre, dans les deux scénarios, la formalisation du rôle des différents partenaires est à envisager.

Tableau 7 : Recommandations pour l'amélioration du réseau de surveillance des amphibiens

Le 1^{er} scénario comprend une inclusion du présent réseau dans le réseau SAGIR de l'OFB et le 2nd scénario prévoit un maintien de son autonomie. La priorisation des recommandations est comme suit : **prioritaire**, *moyen à long terme*.

SECTION	SCENARIO 1	SCENARIO 2
1 : Objectifs et champs de surveillance	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). Ces objectifs sont à définir en adéquation avec des actions de gestion en cas de mortalité détectée.	
2 : Organisation institutionnelle centrale	2) Travailler à une coordination des P.N., par exemple par la formalisation d'un groupe de travail inter-parcs sur les amphibiens.	
	3) Prévoir des créneaux et interventions d'experts sur les thématiques amphibiens dans les CoPil VS et les conseils scientifiques des PN.	
2 : Organisation institutionnelle centrale	4) Repenser l'organisation centrale avec 2 partenaires majeurs : SAGIR (OFB) et les parcs nationaux. S'appuyer sur le réseau de partenaire SAGIR et les partenaires déjà existants dans le réseau pour composer l'échelon central.	4) Créer une unité centrale avec une activité amphibiens ou formaliser la thématique sanitaire amphibiens dans les échanges entre CM des PN
		4') Inclure des partenaires compétents dans le comité scientifique et technique (ENV, pôle EVAAS, C. Miaud, D. Schmeller).
3 : Organisation institutionnelle de terrain	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.	
	6) Prévoir un budget temps des agents de terrain alloué à cette surveillance en accord avec les objectifs. Cela peut nécessiter le recrutement de nouveaux agents	
4 : Laboratoire	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, afin de ne pas exclure des causes possibles tout en limitant les frais d'analyse.	
	8) Diagnostic (PCR, anatomopathologie et histologie) par les laboratoires compétents du réseau partenaire de SAGIR.	8) Convention financière entre les parcs et le CEFÉ pour recrutement de personnel de laboratoire (CDD) compétent en PCR, autopsies et histologie ; ET/OU
	8') Formation de nouveaux laboratoires partenaires aux techniques utilisées si nécessaire.	8') Inclusion et formation de laboratoires d'analyse (non de recherche) dans le réseau
	9) Inclure des ENV et UMR (e.g. équipe de C. Miaud au CEFÉ, 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.	
5 : Outils de surveillance	10) Développer et utiliser des fiches de recueil d'information et des protocoles standardisés (nécessite un travail inter-parc).	



	<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>11) Repenser la nature des prélèvements et techniques de conservation pour permettre la recherche de toutes causes de mortalité</p> <p>12) <i>Les différentes actions de veille écologique (suivi démographique, CMR, suivi de reproduction, ...) pourraient être standardisées et valorisées dans le cadre de la surveillance sanitaire.</i></p> <p><i>Il est important qu'elles ne contribuent pas à la dispersion d'agents pathogènes.</i></p>
6 : Modalités de surveillance	<p>13) Revoir et standardiser, en inter-parcs, les modalités de surveillance et les définitions de cas. 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>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.</p> <p>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.</p> <p>16) <i>Inclure une surveillance des espèces non-amphibiens sensibles aux agents pathogènes considérés (poissons et reptiles pour les ranavirus).</i></p>
7 : Gestion des données	<p>17) Généraliser l'utilisation d'Epifaune pour la gestion des données.</p> <p>17) Sélectionner ou développer un outil de gestion et une base de données uniques et simples.</p> <p>18) Exploiter les données issues de la surveillance en accord avec les objectifs fixés, de façon régulière et standardisée. Cela nécessiterait le recrutement ou la formation d'un(e) (groupe de) personne(s) compétente(s) en épidémiologie et gestion des données sanitaires.</p>
8 : Formation	<p>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. 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>20) Développer des supports et des créneaux de formation continue (par exemple une actualisation à chaque mise à jour de la formation initiale).</p>
9 : Communication	<p>21) Faciliter la communication inter-parcs et formaliser des créneaux de communication (horizontale et verticale). Cela doit tenir compte des contraintes humaines du réseau et du faible temps agent disponible.</p> <p>22) Faire parvenir des résultats individuels aux agents de terrain, dans un délai court (pas seulement lors des bilans annuels).</p> <p>23) Standardiser la politique et les supports de communication externe, ainsi que les actions à destination des usagers des parcs (public, pêcheurs, chercheurs).</p>
10 : Evaluation	<p>24) Suivre et évaluer la surveillance en interne à l'aide d'indicateurs de performances simples et efficaces, par exemple :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Taux annuel de résultats fournis dans les délais compatibles avec les objectifs de surveillance et de gestion (1 mois post échantillonnage) - Largeur de l'intervalle de confiance à 95% de la présence d'agents pathogènes sur les populations à enjeu de conservation (surveillance programmée) - Comparaison du nombre de mortalités observées par espèce avec la démographie des populations locales – observée ou estimée- (surveillance événementielle) <p>25) <i>Reconduire une évaluation externe dans 5 ans.</i></p>



Discussion

Dans le cadre de cette évaluation, la méthode OASIS – initialement orientée vers l'évaluation de réseau épidémiologique 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 adaptées à ces contextes de par sa flexibilité d'usage et de 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 sur des contextes similaires (Hadibi et al. 2019) conduit toutefois à des résultats d'évaluation devant être interprétés avec prudence, car dissimulant une grande hétérogénéité.

Dans une perspective d'amélioration de l'évaluation des réseaux de surveillance de la faune sauvage il serait toutefois pertinent de compléter l'approche OASIS, à la fois 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. (Tiwari et al. 2019) permettant à la fois de déterminer les facteurs humains impliqués dans la dynamique des pathogènes surveillés, mais aussi afin 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 complexifiée 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, ...) 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.

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. Ce qui a conduit à de nombreuses recommandations et propositions d'amélioration pour continuer la surveillance sanitaire des amphibiens dans les espaces protégés le plus utilement et efficacement possible.

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. J. Whittington, C. Kearns, A. D. Hyatt, S. Hengstberger, et T. Rutzou. 1996. « Spread of epizootic haematopoietic necrosis virus (EHNV) in redfin perch (*Perca fluviatilis*) in southern Australia ». *Australian Veterinary Journal* 73 (3): 112-14.

- R. A. Gonser, 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).
- 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).
- 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.
- P. Daszak, A. A. Cunningham, et A. D. Hyatt. 2003. « Infectious disease and amphibian population declines ». *Diversity and Distributions* 9 (2): 141-50.
- C. Soares, A. Alves de Matos, J. W. Arntzen, M. Carretero, et A. Loureiro. 2003. « Amphibian mortality in a National Park in the North of Portugal ». *Froglog - Newsletter of the declining Amphibian Populations Task Force* 56.
- 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.

- J. C. Maerz, C. J. Brown, C. T. Chapin, et B. Blossey. 2005. « Can secondary compounds of an invasive plant affect larval amphibians? » *Functional Ecology* 19 (6): 970-75.
- 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).
- 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.
- 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.
- 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.
- 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. Hendriks, 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.
- 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. Hendriks. 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.

- 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).
- J. P. Amat, P. Hendrikx, 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.
- C. Calba, F. L. Goutard, L. Hoinville, P. Hendrikx, 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” ».
- 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.
- 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).
- 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).
- 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).

- 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 » 5 (août): 598-614.
- 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 commission. 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.
- J. L. Brunner, et J. M. Calabrese. 2021. « Modelling the Probability of Detecting Mass Mortality Events ». Preprint. Biorxiv.org.
- 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.
- 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 : Sigles et acronymes

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

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

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

ST : Service territorial (d'un PN)

OFB : Office français de la biodiversité

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

UMR : Unité Mixte de Recherche

LDA : Laboratoire Départemental d'Analyses (vétérinaire)

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

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

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

ENVT : Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

ENSAT : Ecole Nationale Supérieur d'Agronomie de Toulouse

AOA : Aire Optimale d'Adhésion au PN

ZC : zone cœur du PN

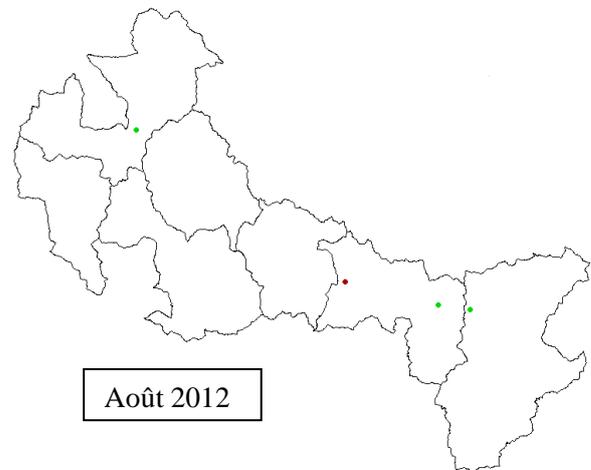
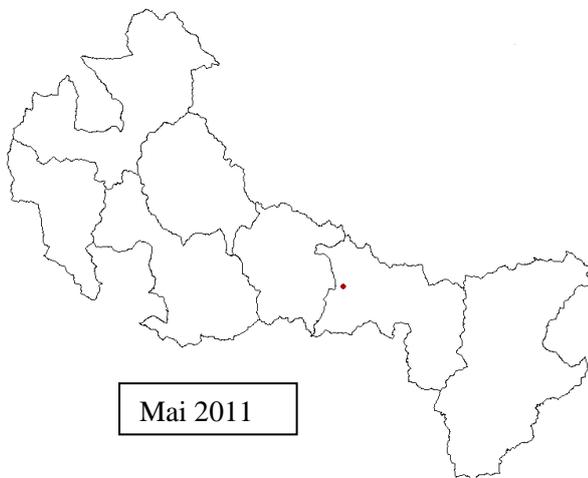
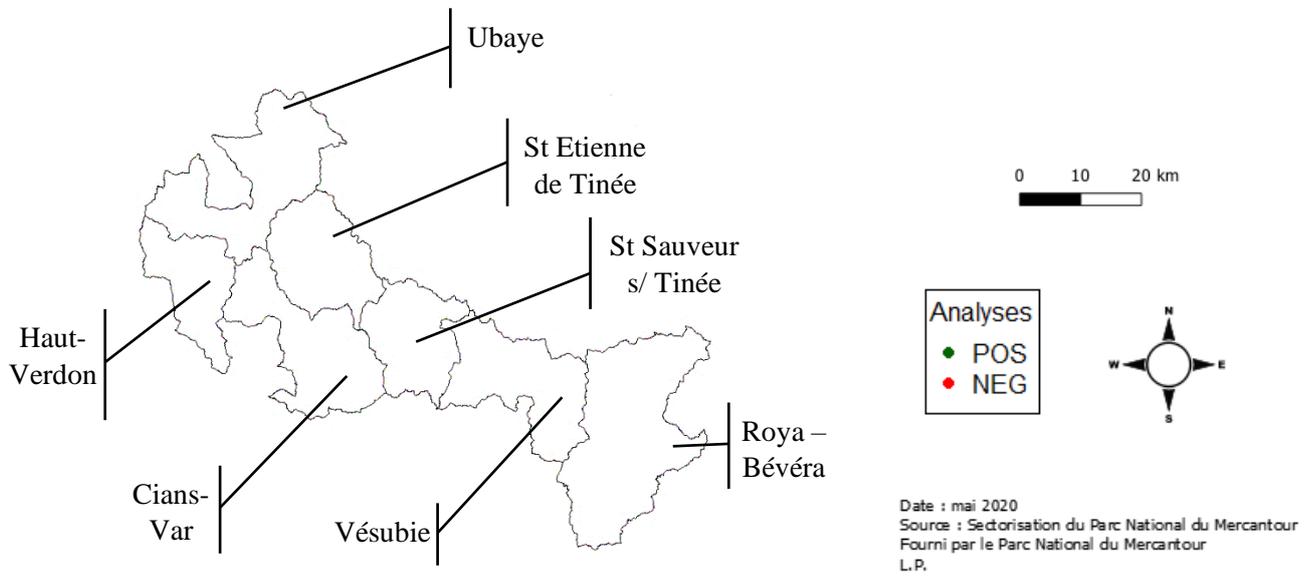
SIG : Science de l'Information Géographique

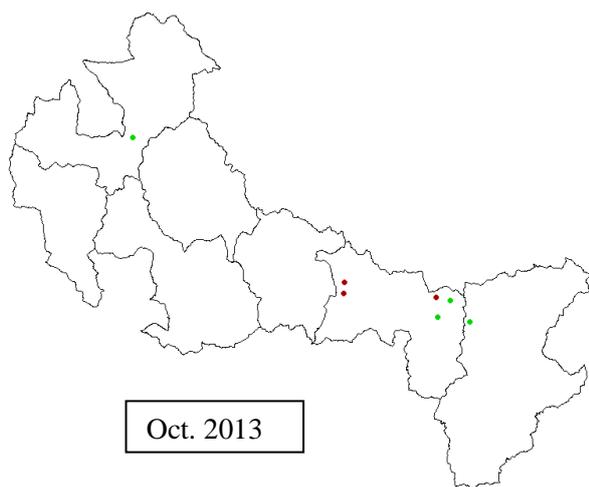
CDD : Contrat à Durée Déterminée

(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

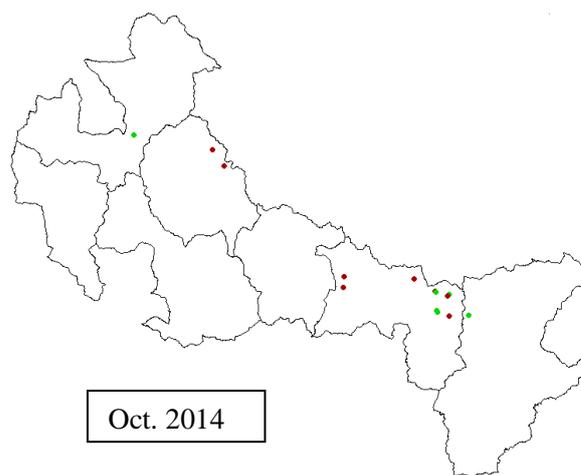


Annexe 2 : Évolution spatio-temporelle des analyses de mortalité d'amphibiens en fonction du statut infectieux ranavirus dans le PNM

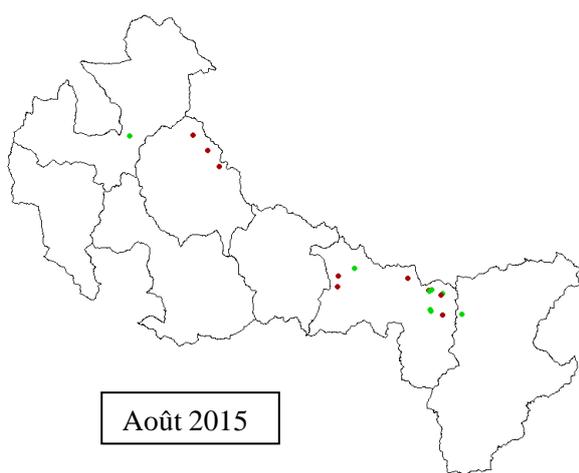




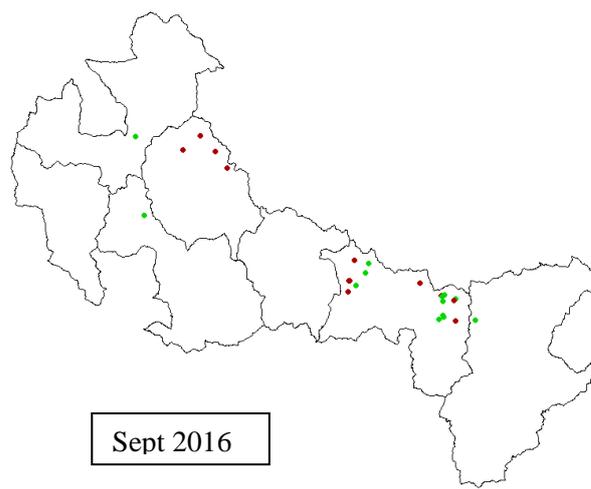
Oct. 2013



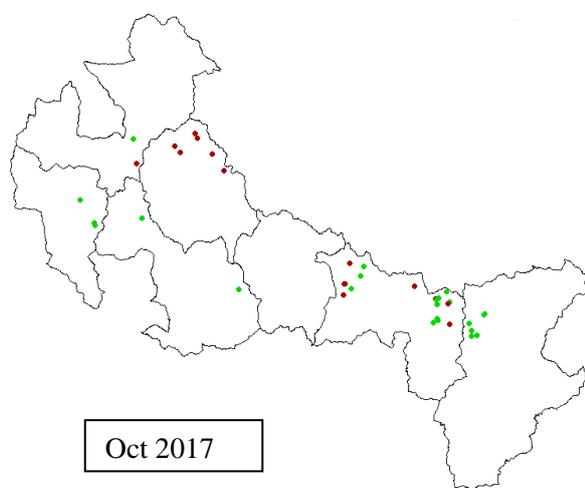
Oct. 2014



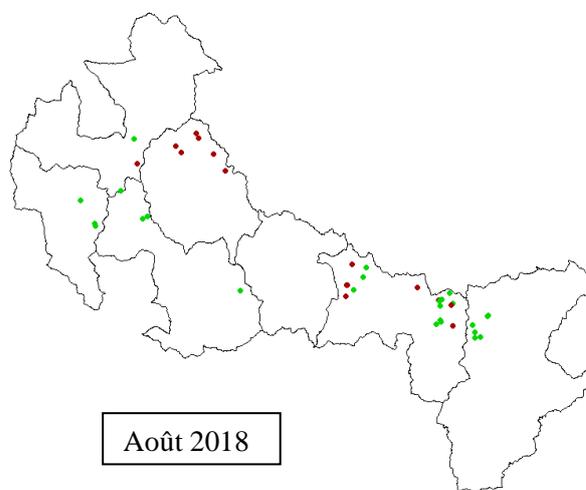
Août 2015



Sept 2016



Oct 2017



Août 2018



Annexe 4 : Sélection de modèle linéaire généralisé (logistique) investiguant l'effet de différentes variables sur le statut infectieux (approximé par le Résultat d'analyse qPCR)

Le modèle nul (0) est le modèle ne comprenant que la variable de *Provenance*, variable correctrice de protocoles. Le modèle (3) est présenté en détail dans le tableau 4 du rapport.

AIC : valeur du critère d'Akaike pour le modèle (ΔAIC),

N_{obs} : Nombre observation incluses (ie sans données manquantes sur les variables explicatives), N_{tot} = 121

Colinéarité : variables présentant des multi-colinéarités (colinéarité parfaite ou valeur de vif >5)

– Les valeurs de Vif pour les variables avec interactions ne sont pas considérées –,

Deviance : Déviance expliquée par le modèle (deviance nulle – deviance résiduelle) (Δdev si déviance nulle identique au modèle précédent),

Ddl : degrés de liberté

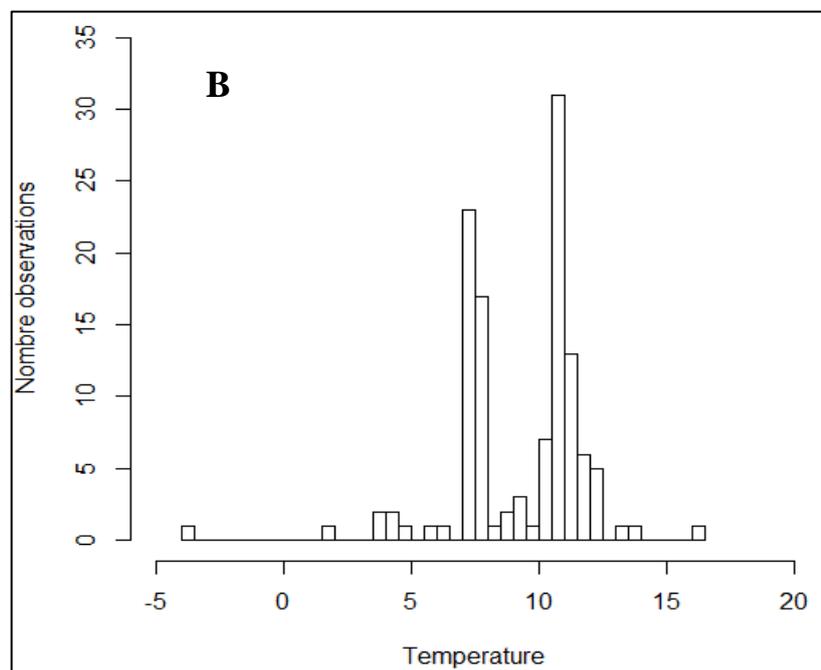
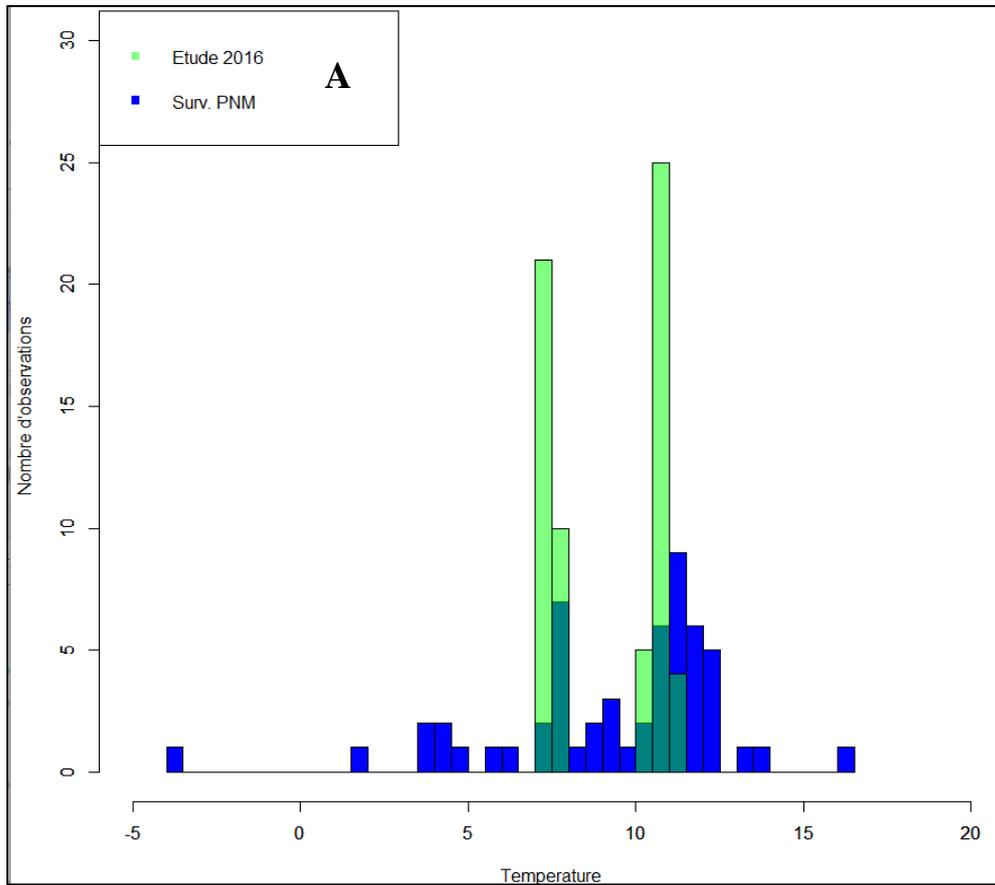
LRT : p-value du test de rapport de vraisemblance ($\alpha = 5\%$), # : différence significative.

Variables		AIC	DEVIANCE	ddl	LRT	N _{obs}
Provenance	(0)	165.59	0.08 (nulle = 161.67)	119	-	121
Provenance + Température + Bétail + Stade	(1)	162.16	9.51	116	-	121
Provenance + Température + Bétail		160.16 (-2)	9.51 (=)	117	0.99	121
Provenance + Température	(2)	159.24 (-0.92)	8.43 (-1.08)	118	0.30	121
Provenance * Température	(F)	151.02 (-8.22)	18.65 (-10.22)	117	0.0014 #	121

Annexe 5 : Distribution des observations en fonction des températures

(A) En fonction de la provenance

(B) Toutes données confondues



Annexe 6 : 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 7 : Termes et conditions de l'évaluation, transmis par mail aux responsables du réseau pour validation de la démarche avant mise en application

Projet d'évaluation de l'épidémiologie 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'épidémiologie 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. Durand¹, C. Miaud², S. Larrat³, 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 épidémiologie ANSES sur l'outil OASIS.

¹ Directeur adjoint PN Ecrins et interlocuteur pour la stratégie sanitaire des PN

² Directeur d'études EPHE, UMR 5175, CEFE, Montpellier

³ 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^{ème} partie.

2^{ème} 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 consacrée ? 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 9 : Panel de validation de l'évaluation après attribution des notes et commentaires par l'équipe d'évaluation

La réunion de validation a eu lieu en visio-conférence le 19/05/21, en présence de 3 membres de l'équipe d'évaluation (Thierry Durand étant absent).

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
Benoit 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 10 : Liste des personnes interviewées et modalités de réalisation des entretiens

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

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 11 : Détail des critères et notes pris en compte pour le calcul des sorties graphiques

(A) Sortie 1 : par section

Section 1 : Objectifs et champ de la surveillance		Mettre le pointeur sur la case à noter pour voir le guide de notation
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.

Section 2 : Organisation institutionnelle centrale		Mettre le pointeur sur la case à noter pour voir le guide de notation
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	

Section 3 : Organisation institutionnelle de terrain		Mettre le pointeur sur la case à noter pour voir le guide de notation
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

Section 4 : Laboratoire		Mettre le pointeur sur la case à noter pour voir le guide de notation
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 tableaux 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.

Section 5 : Outils de surveillance		Mettre le pointeur sur la case à noter pour voir le guide de notation
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 épousettes). 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	



Section 6 : Modalités de surveillance		Mettre le pointeur sur la case à noter pour voir le guide de notation
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	

Section 7 : Gestion des données		Mettre le pointeur sur la case à noter pour voir le guide de notation
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.

Section 8 : Formation		Mettre le pointeur sur la case à noter pour voir le guide de notation
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.



Section 9 : Communication		Mettre le pointeur sur la case à noter pour voir le guide de notation
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

Section 10 : Evaluation		Mettre le pointeur sur la case à noter pour voir le guide de notation
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) Sortie 2 : par points critiques

Objectifs	Notes
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

Échantillonnage	Notes
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

Animation et sensibilisation	Notes
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

Outils utilisés	
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
Recueil et circulation des données	
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
Recueil et circulation des données	
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
Traitement et interprétation des données	
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
Diffusion de l'information	
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

(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 (évènementielle) dont les résultats montrent des résultats exhaustifs ou représentatifs	1
6.3. Existence d'actions de sensibilisation des sources de données en réseau passif (évènementiel)	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
Spécificité	
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 (évènementiel)	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
Représentativité	
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 (évènementielle) 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
Rapidité	
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
Flexibilité	
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



Fiabilité	
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

Stabilité	
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. Édition 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

Acceptabilité	
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

Simplicité	
2.1. Existence d'une structure d'animation fonctionnelle (unité centrale)	1
4.1.1. 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

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

<p>Section 1 : Objectifs et champ de la surveillance</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>Section 2 : Organisation institutionnelle centrale</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>Section 3 : Organisation institutionnelle de terrain</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 -biosecrété-).</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>Section 4 : Laboratoire</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>Section 5 : Outils de surveillance</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>Section 6 : Modalités de surveillance</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>Section 7 : Gestion des données</p>	<p>14) Besoin d'utiliser un outil unique et simple pour la gestion des données.</p> <p>15) Besoin d'exploiter ces dernières 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>Section 8 : Formation</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>Section 9 : Communication</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. Comprenant une standardisation des actions à destination des usagers : public, pêcheurs, chercheurs.</p>
<p>Section 10 : Evaluation</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 (1mois après échantillonnage) - Intervalle de confiance de la présence des pathogènes sur les populations à enjeu de conservation (surveillance programmée) - Pour la surveillance élémentaire... 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>