Ecole Nationale Supérieure
Agronomique de Rennes

DAA Génie de l'environnement
Préservation et aménagement des milieux
Ecologie Quantitative

Entente Interdépartementale
de lutte contre la Rage et les
autres Zoonoses (ERZ)

Identification des zones à risque de contamination humaine par *Echinococcus multilocularis*, par l'étude des hôtes porteurs : renards roux (*Vulpes vulpes*) et campagnols des champs et terrestre (*Microtus arvalis* et *Arvicola terrestris*)

Application sur l'agglomération d'Annemasse (Haute-Savoie)

Mémoire de fin d'étude
Pour l'obtention du diplôme d'agronomie approfondie, spécialisation génie de l'environnement

Claire Boyer
Septembre 2004

Identification des zones à risque de contamination humaine par *Echinococcus multilocularis*, par l'étude des hôtes porteurs : renards roux (*Vulpes vulpes*) et campagnols des champs et terrestre (*Microtus arvalis* et *Arvicola terrestris*)

Application sur l'agglomération d'Annemasse (Haute-Savoie)

Mémoire de fin d'étude
Pour l'obtention du diplôme d'agronomie approfondie, spécialisation génie de l'environnement

Claire Boyer
Septembre 2004

Jury :
Anne Le Ralec, Président du Jury, Agrocampus Rennes
Benoît Combes, Maître de stage, Directeur de l'ERZ
Yannick Outreman, Enseignant responsable du stage, Agrocampus Rennes
Alain Butet, Membre du jury, Université Rennes 1

Remerciements

Je remercie le président, M. Laurent, et plus particulièrement le directeur, M. Combes, pour m'avoir accueillie chaleureusement au sein de l'Entente interdépartementale de lutte contre la Rage et les autres Zoonoses (ERZ) et m'avoir permis de suivre un sujet de stage passionnant.

Je remercie également toute l'équipe : Frantz Catarelli, pour ses délicates attentions, Stéphanie Favier, pour les bons moments passés sur le terrain, Déborah Gottscheck, pour son aide sur ArcGIS.

Merci également à Jean-Philippe Petit, pour son aide précieuse dans le piégeage des renards, à Claude Fischer, pour ses conseils, à Leslie Repérant, pour sa démonstration de piégeage de campagnols, à Francis Raoul et Patrick Giraudoux, pour leur aide dans le protocole et l'analyse des données sur les campagnols, et à Yannick Outreman, pour ses conseils.
Merci à toute l'équipe de l'AFSSA de Nancy pour le travail effectué dans les laboratoires et plus particulièrement à Delphine Müller pour les ELISA.

Merci également aux stagiaires Clément et Vincent, pour leur aide et pour les bons moments passés ensemble.

Je remercie aussi toutes les personnes que j'ai rencontrées et qui ont pu me faire partager leurs connaissances sur le sujet comme les professeurs Marc Artois et Anne-Françoise Pétavy.

Sommaire

Introduction 4

I. L'ECHINOCOCCOSE ALVEOLAIRE ET SON ETUDE A ANNEMASSE 6
I.1. *Echinococcus multilocularis* et son cycle parasitaire 6
I.1.1. Biologie 6
I.1.2. Cycle parasitaire 6
I.1.3. Hôtes définitifs 9
I.1.4. Hôtes intermédiaires 9
I.1.5. Echinococcose alvéolaire : une zoonose mortelle chez l'homme 10
I.2. Le site d'étude : l'agglomération d'Annemasse 11

II. MATERIELS ET METHODES MIS EN ŒUVRE POUR ETUDIER *ECHINOCOCCUS MULTILOCULARIS* 13
II.1. Etude des populations hôtes sur Annemasse 13
II.1.1. Les populations de renards 13
II.1.2. Les populations de campagnols 15
II.2. Etude du parasite 17
II.2.1. Collecte du matériel potentiellement parasité 17
II.2.2. Analyses réalisées en laboratoire 19
II.2.3. Traitement des données 20

III. PRESENTATION ET INTERPRETATION DES RESULTATS OBTENUS 21
III.1. Présentation des données récoltées 21
III.1.1. Les renards suivis 21
III.1.2. Les transects réalisés 21
III.1.3. Les fèces récoltées et analysées 21
III.2. Analyse des données 22
III.2.1. Détermination de la surface du domaine vital d'un renard 22
III.2.2. Milieux propices aux campagnols 25
III.2.3. Influence de quelques facteurs sur la présence du parasite dans les fèces 27
III.3. Représentations cartographiques 29
III.3.1. Répartition des renards sur l'agglomération 29
III.3.3. Zones présentant le parasite 35
III.3.4. Zones à risque pour la population humaine 37

IV. DISCUSSION GENERALE ET PERSPECTIVES 39
IV.1. Discussion 39
IV.1.1. Le protocole suivi 39
IV.1.2. Les analyses en laboratoire 39
IV.1.3. L'analyse des données 40
IV.2. Perspectives 40

Conclusion 43
Bibliographie 44

Introduction

L'échinococcose alvéolaire, liée à l'infestation animale ou humaine par le tænia *Echinococcus multilocularis*, connaît une très large distribution mondiale. Sa localisation est limitée aux régions paléarctiques de l'hémisphère Nord. Cependant on observe, depuis quelques années, une extension de la zone d'endémie. En Europe, la répartition semblait être réduite à quelques régions rurales comprises entre l'Allemagne, l'est de la France, la Suisse et le nord-ouest de l'Autriche. Depuis 1990, de nombreuses études ont mis en évidence la présence du parasite dans d'autres pays. Les hypothèses de cette expansion géographique sont, soit une meilleure investigation, soit une réelle extension du parasite (Lucius R. *et al*., 1995).
Dans un environnement strictement naturel, le cycle parasitaire fait principalement intervenir le renard et les rongeurs, cependant on peut supposer qu'il s'est largement anthropisé. Certains auteurs, en effet, pensent que les zoonoses évoluent toujours dans le sens d'une anthropisation plus poussée (Garnahm P.C., 1959 in Laforge M.L. *et al*., 1992). L'enjeu est important pour la santé humaine mais aussi d'un point de vue économique car les coûts associés aux traitements de cette maladie sont loin d'être négligeables.

Cette parasitose semble donc s'étendre géographiquement partout en Europe. En outre, l'augmentation des populations de renards et leur présence de plus en plus fréquente en milieu urbain laissent penser que le parasite se rapproche de l'homme. L'Entente interdépartementale de lutte contre la Rage et les autres Zoonoses (ERZ), après avoir participé à l'éradication de la rage en France, s'est intéressée à l'échinococcose alvéolaire. Sa première mission, avec l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA) et l'Université de Franche-Comté (UFC), est de cartographier la présence du parasite sur le territoire des 39 départements français adhérents. Parallèlement l'ERZ étudie le parasite en milieu urbain.

Ainsi la localisation du parasite dans divers contextes urbanisés est une question que l'on peut se poser. Une étude sur le parasitisme en milieu urbain a donc commencé en 2003 à Annemasse (Haute-Savoie), mais aussi à Pontarlier (Doubs) en 2004. En effet, l'échinococcose alvéolaire est connue depuis un siècle dans les Alpes françaises et la Haute-Savoie est un foyer particulièrement actif de la maladie. De plus, la croissance démographique de ce département est importante et nettement supérieure à la moyenne nationale, amplifiant ainsi les phénomènes d'urbanisation. D'autre part, certains patients haut-savoyards touchés récemment par la maladie habitent des agglomérations d'importances diverses et sont peu en contact avec l'espace rural (Laforge M.L. *et al*., 1992).

Pour que la parasitose puisse se développer, il est nécessaire que coexistent, dans un contexte écologique approprié, des hôtes définitifs infestés (renards) et des hôtes intermédiaires en quantité suffisante (rongeurs réceptifs) afin de permettre le maintien du cycle parasitaire. Ainsi, il a été constaté une corrélation positive entre le taux de renards infestés et la densité des populations hôtes (Raoul F. *et al*., 2003).

L'objectif de cette étude est donc d'identifier des zones à risque de contamination humaine par *Echinococcus multilocularis* sur l'agglomération d'Annemasse. La première étape pour y parvenir consiste à prendre en compte l'ensemble du cycle parasitaire. La deuxième sera une évaluation des risques. Les questions qui se posent alors sont :

- y a t-il des renards sur la zone d'étude et comment se répartissent-ils ?
- quelles sont les densités et la répartition spatiale des campagnols ?
- le parasite est-il présent ?
- et enfin, quelles sont les zones où l'homme pourrait se contaminer ?

Dans une première partie, le cycle parasitaire sera décrit brièvement ainsi que le contexte de l'étude. Ensuite, les méthodes mises en œuvre pour étudier les hôtes et le parasite seront présentées dans une deuxième partie, suivies par les résultats obtenus d'un point de vue statistique et cartographique. Enfin, une discussion sera engagée ainsi qu'une présentation des perspectives de l'étude.

I. L'ECHINOCOCCOSE ALVEOLAIRE ET SON ETUDE A ANNEMASSE

I.1. *Echinococcus multilocularis* et son cycle parasitaire

Les zoonoses, maladies transmissibles entre les animaux et l'homme, peuvent poser de graves problèmes sanitaires. L'échinococcose alvéolaire, maladie grave mais rare, est transmise par l'intermédiaire des carnivores comme le renard mais aussi le chien ou le chat. L'agent infectieux, *Echinococcus multilocularis*, est un ver de la famille des ténias qui effectue son cycle parasitaire entre les carnivores et les rongeurs.

I.1.1. Biologie

La forme adulte d'*Echinococcus multilocularis* (figure 1) habite l'intestin grêle des carnivores. C'est un ver de petite taille, 2 mm en moyenne (Deblock S. *et al*., 1986). Le scolex, partie antérieure du ténia, possède quatre ventouses qui lui permettent de s'accrocher aux parois intestinales de l'hôte définitif et une couronne de crochets. Son corps est segmenté en plusieurs unités dont la dernière permet la production d'œufs, le ténia étant hermaphrodite.

Les œufs produits sont excrétés dans le milieu extérieur, c'est la seule forme libre du parasite. Ils sont de forme ovoïde (figure 2), constitués d'un embryon entouré de plusieurs enveloppes protectrices très résistantes.

La forme larvaire ou métacestode se situe dans le parenchyme hépatique de l'hôte intermédiaire, qui est généralement un rongeur, et se développe de manière asexuée.

I.1.2. Cycle parasitaire (figure 3)

Le cycle parasitaire d'*Echinococcus multilocularis* est dixène, c'est à dire à deux hôtes, qui sont :

- Les carnivores, comme hôtes définitifs hébergeant la forme adulte du parasite, avec principalement le renard (*Vulpes vulpes* et *Vulpes alopex*) mais aussi le loup, le coyote et également les carnivores domestiques comme le chien ou le chat.
- Les rongeurs, comme hôtes intermédiaires hébergeant la forme larvaire du ténia. Plus de trente espèces de rongeurs sont reconnues comme vecteurs possibles mais avec des sensibilités différentes selon l'espèce (Aubert M. *et al*., 1987). En Europe, les hôtes principaux sont (Hofer S. *et al*., 1999) : le campagnol des champs (*Microtus arvalis*) et le campagnol terrestre (*Arvicola terrestris*).

La forme adulte du parasite se développe dans l'intestin grêle des carnivores et produit des œufs échinocoques qui sont excrétés dans les fèces. Cette forme libre permet la dissémination dans l'environnement et est ingérée par des rongeurs lors de la consommation de végétaux infectés. Dans l'estomac et l'intestin grêle du rongeur, l'œuf est activé par des enzymes, il pénètre alors dans la paroi intestinale puis est transporté jusqu'au foie par l'intermédiaire des vaisseaux sanguins. Le métacestode se développe par bourgeonnement externe et envahit progressivement les organes de l'hôte, aboutissant à sa mort, au bout de 5 mois, en général. Les carnivores contractent alors le parasite en consommant des rongeurs parasités. La forme larvaire se dévagine et se fixe à la paroi du tube digestif et se développe en un ver adulte prêt à se reproduire.

Figure 1 : Forme adulte d'*Echinococcus multilocularis*
(Source : Sréter T. *et al*., 2003)

Figure 2 : Œuf échinocoque, taille réelle 20 µm
(Source : www.eurechinoreg.org, John Eckert et Martine Liance)

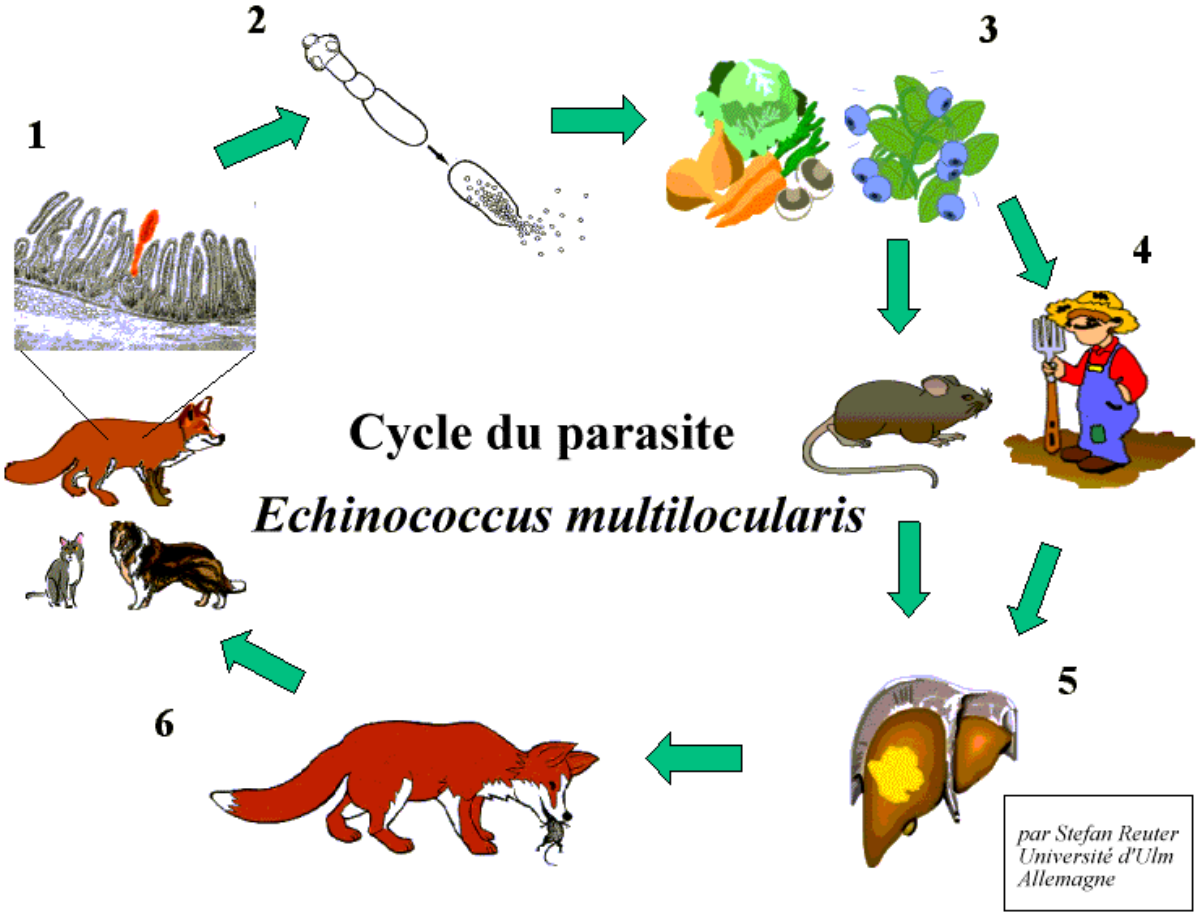


Figure 3 : Le cycle parasitaire d'*Echinococcus multilocularis*
(Source : www.eurechinoreg.org)

Cependant, certains hôtes accidentels peuvent se contaminer en ingérant des œufs échinocoques, c'est le cas de l'homme, qui est une impasse pour le parasite car il ne joue aucun rôle évolutif dans le cycle de celui-ci.

Jusqu'à présent, le cycle du parasite s'effectuait dans des milieux à dominante rurale, principalement entre le renard et les campagnols, désormais il se rencontre dans des villages et même des villes. En milieu urbain, les hôtes sont le renard, par l'accroissement des populations vulpines urbaines, le chien, le chat et les rongeurs.

I.1.3. Hôtes définitifs

Le renard et le chien sont beaucoup plus sensibles au parasite que le chat, mais le renard est plus parasité que le chien du fait de sa prédation importante sur les campagnols. Cependant le chien et le chat vivent au contact de l'homme, ils représentent donc une source d'infection non négligeable (Eckert J. *et al*., 2000). Mais pour l'instant, très peu d'études ont été réalisées sur l'infestation des animaux domestiques.

Les taux d'infestation des renards urbains par *Echinococcus multilocularis* sont très variables d'une ville à l'autre et dépendent également du caractère urbain ou semi-urbain des individus. A Zürich, des taux compris entre 20 et 47% ont été mis en évidence dans un parc de la ville, les taux les plus élevés (67%) étant retrouvés dans la zone rurale en périphérie de la ville (Hofer S. *et al*., 2000).
Ainsi, les taux d'infestation des renards par le parasite sont, en général, plus élevés en zone rurale ou semi-urbaine qu'en zone urbaine même (Deplazes P. *et al*., in press ; Stieger C. *et al*., 2002).

I.1.4. Hôtes intermédiaires

Les hôtes intermédiaires sont définis à partir de l'étude du régime alimentaire des renards.

A Zürich, il a été établi que le campagnol terrestre (*Arvicola terrestris*) est l'hôte intermédiaire le plus consommé (Contesse P. *et al*., 2003 in Hegglin D. *et al*., 2003). Dans le même parc, précédemment étudié pour l'infestation des renards, 14% des campagnols terrestres observés étaient infestés (Hofer S. *et al*., 2000). D'autres taux plus élevés, comme 26%, ont également été observés à Zürich (Deplazes P. *et al*. 1998 in Eckert J. & Deplazes P., 1999). Mais en général, les taux d'infestation chez les rongeurs restent faibles, du fait de la taille des populations. Les taux les plus élevés sont localisés sur des espaces précis et restreints.

Dans le Doubs, une étude (Delattre P. *et al*., 1985) souligne une préférence alimentaire du renard pour le campagnol des champs (*Microtus arvalis*), ce qui traduit une accessibilité différente de ces deux espèces de proies, le campagnol des champs (*M. arvalis*) ayant une activité de surface beaucoup plus importante que le campagnol terrestre (*A. terrestris*).
Le campagnol des champs (*M. arvalis*) est également une bonne proie pour les chats domestiques dans les zones semi-urbaines (Petavy A.F. *et al*., 1999).

Finalement, il est communément admis que ces deux espèces de campagnols sont les principaux hôtes intermédiaires du parasite. C'est leur association, du fait de leurs pullulations relativement asynchrones, qui assure de façon continue une forte densité de proies potentielles pour le renard et qui permettrait le maintien d'*Echinococcus multilocularis* sur un territoire (Delattre P. *et al*., 1985, Delattre P. *et al*., 1988, Pétavy A.F. *et al*., 1983).

I.1.5. Echinococcose alvéolaire : une zoonose mortelle chez l'homme

L'homme peut donc être un hôte accidentel d'*Echinococcus multilocularis* qui va se développer dans son foie et former une structure alvéolaire d'où le nom donné à cette maladie rare mais létale : l'échinococcose alvéolaire.

En 35 ans (1948 à 1983), environ 200 cas humains ont été reportés en France, depuis, 260 cas ont été détectés en 16 ans (1983 à 2000). Cette augmentation ne peut être uniquement attribuée à une incidence grandissante de la maladie, mais également à l'amélioration des techniques de diagnostic et à l'intérêt grandissant pour cette parasitose (Boucher J.M. *et al*., 2001).

L'homme se contamine par l'intermédiaire des œufs présents dans l'environnement. Les modes de contamination n'ont pas encore été démontrés mais plusieurs hypothèses apparaissent.
L'homme pourrait se contaminer par l'ingestion de végétaux crus, souillés par des fèces de carnivores parasités. La cuisson permet d'éliminer les risques de transmission du parasite, les œufs sont détruits par des températures supérieures à 60°C.
L'homme pourrait également se contaminer par contact avec des animaux parasités : renards, chiens et chats principalement.

Cependant, au vu du faible nombre de cas déclarés chaque année, entre 10 et 20 par an en France (Delattre P. *et al*., 1991), l'homme apparaît comme un mauvais hôte pour le parasite, son système immunitaire serait suffisamment efficace pour lutter contre *Echinococcus multilocularis*. Des contacts répétés et importants avec le parasite, susceptibles de déborder les capacités de défense, pourraient expliquer les cas humains (Vuitton D. *et al*., 1991 in Delattre P. *et al*., 1991).

Cette maladie pose encore de nombreuses interrogations. En effet, le diagnostic posé longtemps après la contamination ne permet pas d'identifier les facteurs de risque. Aucune relation n'a encore été faite entre le nombre de cas humains et le taux de présence des œufs dans l'environnement (Giraudoux P. *et al*., 2001). De plus, le risque de contamination n'est pas seulement encouru par les populations rurales mais aussi par les citadins qui conservent des habitudes rurales à la périphérie des villes (Aubert M. *et al*., 1987).

En conclusion, on peut supposer que le contexte parasitaire a évolué, notamment à cause de :
- l'augmentation des populations vulpines urbaines, les densités de renards en milieu urbain excèdent même souvent celles des milieux ruraux (Deplazes P. *et al*., in press ; Harris S., 1981),
- l'augmentation des cas humains en milieu urbain (Laforge M.L. *et al*., 1992),
- l'apparente extension géographique du parasite (Sréter T. *et al*., 2003).

Ceci pose de nombreuses interrogations sur la contamination en milieu urbain.
D'une manière générale, même si, à l'heure actuelle, les cas humains sont relativement rares, les spécialistes s'inquiètent de l'évolution future de la maladie en redoutant une augmentation importante des cas (Lucius R. *et al*., 1995 ; Kern P. *et al*., 2003). Il est vrai qu'en France la maladie reste relativement rare, mais certains pays recensent proportionnellement bien plus de malades. C'est le cas de la Suisse par exemple, mais aussi de la Chine où dans certaines zones plus de 4 % de la population est atteinte. Un maximum de 15,8 % est obtenu pour un village chinois (Craig P.S. et al., 2000).

I.2. Le site d'étude : l'agglomération d'Annemasse

L'étude de l'échinococcose alvéolaire à Annemasse a débuté en février 2003 (Sigaud F., 2003). L'agglomération d'Annemasse a été choisie pour diverses raisons. Elle se situe en pleine zone d'endémie. En effet, la Haute-Savoie est le premier département français où fut mis en évidence le portage du parasite par le renard. Le premier cas humain français a été observé en Haute-Savoie en 1890 (Boucher J.M. *et al*., 2001). Le premier chat infesté par *Echinococcus multilocularis* fut également découvert à Annemasse. De plus, une étude est menée à Genève (Reperant L., thèse en cours) sur le même sujet, et permettra d'effectuer des comparaisons. Enfin, l'agglomération est de taille raisonnable et bien adaptée à l'étude en zone urbaine. Du fait de la latitude suffisamment élevée de cette ville, *Echinococcus granulosus* (un autre ténia parasite du chien et du mouton, responsable de l'hydatidose chez l'homme) est absent, ce qui permettra de rechercher spécifiquement les copro-antigènes d'*Echinococcus multilocularis*, au cours des analyses en laboratoire.

Le site d'étude s'étend sur 7 communes : Annemasse, Gaillard, Ambilly, Vétraz-Monthoux, Ville-la- Grand, Cranves-Sales et Juvigny (figure 4), ce qui représente un peu moins de 37 km².
Au centre, se situe la ville d'Annemasse qui constitue la zone la plus urbanisée de l'agglomération. Une zone plus rurale se détache : le quartier des Monthouses et du Brouaz où se situent des serres, des champs cultivés et des prairies.
A l'ouest, la ville de Gaillard est comprise entre l'Arve et la frontière suisse. Les bords de l'Arve sont essentiellement occupés par une zone commerciale et d'importantes cultures maraîchères, et sont longés par un chemin et un parcours sportif. L'habitat est de type résidentiel constitué d'immeubles ou de maisons avec de vastes jardins.
Au nord, les villes d'Ambilly et de Ville-la-Grand sont limitées par le cours d'eau du Foron qui fait frontière avec la Suisse. Ambilly est une commune très urbanisée avec de nombreux lotissements et petits jardins. Ville-la-Grand, plus vaste, comprend une zone plus rurale avec des cultures maraîchères, des vignes, des bois et des chemins de promenade, on y trouve également une importante zone industrielle et des logements.
Au sud-est d'Annemasse, la commune de Vétraz-Monthoux s'étend sur un vaste territoire. L'habitat est dispersé et constitué principalement de maisons avec de grands jardins, qui laisse place à de vastes prairies et des cultures.
Une partie des communes de Cranves-Sales et de Juvigny fait également partie de la zone d'étude du fait de la continuité géographique et structurelle de leur territoire. La zone d'étude a été volontairement arrêtée au niveau de la départementale 903 et des cours d'eau de la Ménoge et de l'Arve qui constituent des limitent naturelles franches. Ces deux communes, notamment Juvigny, ont un caractère plus rural avec une surface de bâti réduite.

Finalement, c'est la situation privilégiée d'Annemasse, par rapport à *Echinococcus multilocularis*, ainsi que sa composition structurelle à la fois urbaine et rurale qui a fait le choix de ce site. Annemasse est une agglomération urbaine au sein de laquelle est insérée une mosaïque de zones vertes favorables aux espèces animales intervenant dans le cycle parasitaire.

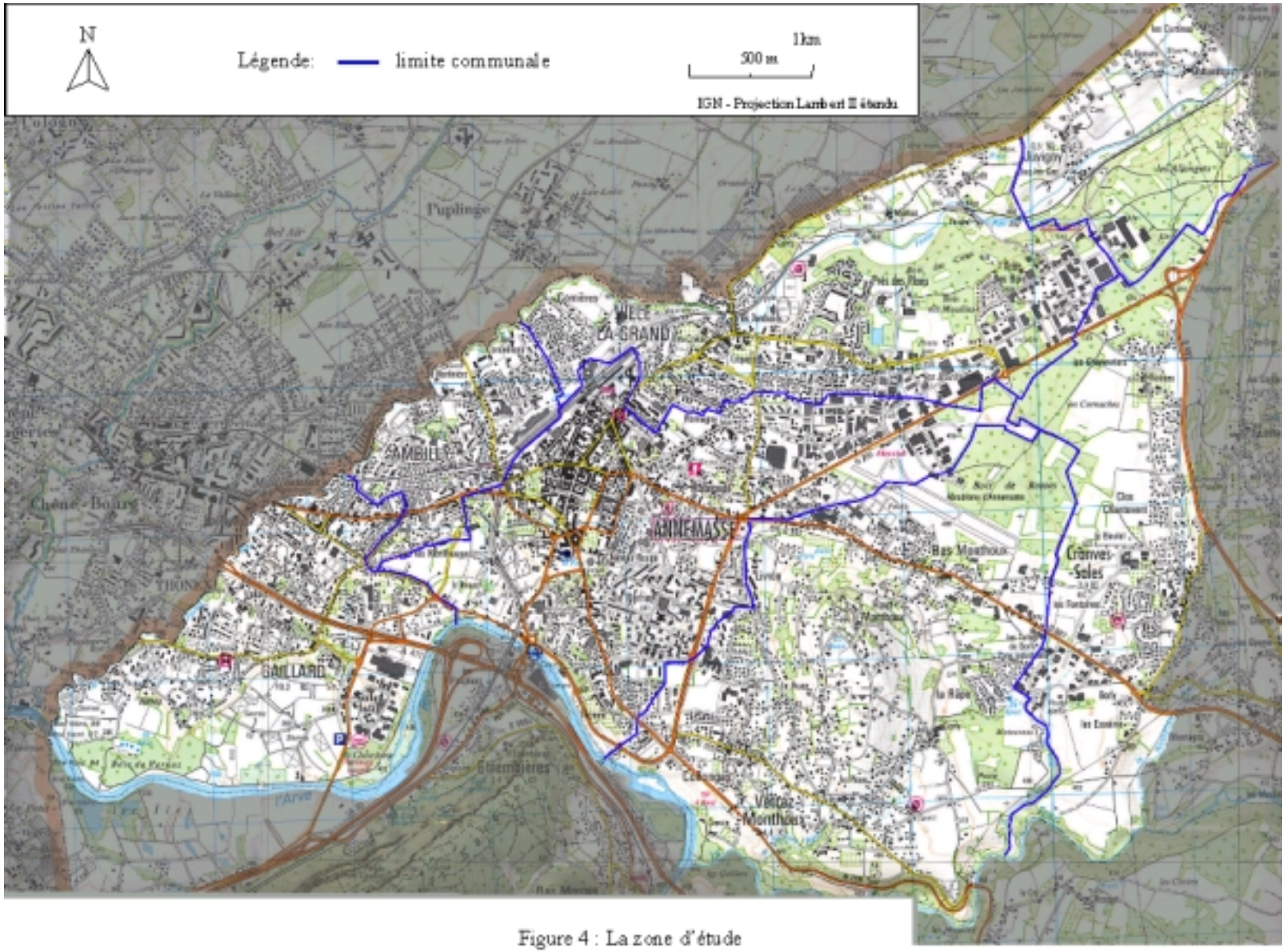


Figure 4 : La zone d'étude

II. MATERIELS ET METHODES MIS EN ŒUVRE POUR ETUDIER *ECHINOCOCCUS MULTILOCULARIS*

II.1. Etude des populations hôtes sur Annemasse

Pour que la parasitose puisse se développer, il est nécessaire que coexistent des hôtes définitifs infestés et des hôtes intermédiaires en quantité suffisante afin de permettre le maintien du cycle parasitaire. La première étape du travail consiste donc à identifier les hôtes porteurs et leur domaine de vie. Le renard est l'hôte définitif principal devant le chien et le chat. Il est le principal responsable de la contamination de l'environnement (Deplazes P. *et al.*, 2002), c'est donc lui qui sera étudié. Les hôtes intermédiaires, sous nos latitudes, sont principalement le campagnol des champs (*Microtus arvalis*), et la forme fouisseuse du campagnol terrestre (*Arvicola terrestris*).

II.1.1. Les populations de renards

Les premiers indices recherchés, pour mettre en évidence la présence des renards sur l'agglomération, ont été : les terriers (figure 5), les crottes, les traces ou les coulées. L'observation directe, généralement réalisée la nuit à l'aide d'un phare halogène, et renouvelée régulièrement, permet de confirmer leur présence. Ces indices sont recherchés de manière à couvrir l'ensemble de la zone d'étude. Ensuite, pour préciser les zones parcourues par les renards, il convient d'établir leur domaine de vie. L'étude des populations permettra de répondre à la question : sur quelles zones les renards sont-ils susceptibles de déposer des fèces contaminées ?

Ainsi, après avoir repéré les passages fréquentés par les renards, des collets sont tendus pour les capturer. Au moment de la capture, plusieurs mesures sont effectuées sur l'animal : pesée, détermination du sexe, prélèvement rectal, observation de l'état général. Puis, il est équipé d'un collier émetteur, d'une boucle à l'oreille et enfin il est relâché.

Ensuite, le suivi télémétrique peut commencer. Une antenne unidirectionnelle reliée à un récepteur permet de capter les ondes émises par le collier émetteur et donc de localiser le renard (figure 6). La direction obtenue par l'antenne est notée à l'aide d'une boussole et tracée sur la carte. Un renard est pointé trois fois de suite à des endroits différents pour obtenir trois droites sur la carte. Il se trouve alors à l'intersection (s'il est immobile) ou dans le triangle formé par celles-ci (s'il se déplace), cette méthode est nommée triangulation. Ce suivi est réalisé pendant la nuit, car le renard est un animal nocturne, ainsi la position du renard est mise en évidence plusieurs fois par nuit. Des pointages de jour sont aussi réalisés, pour localiser les lieux de repos diurne du renard.

Toutes les positions du renard sont ensuite saisies informatiquement à l'aide d'ArcGIS 8.2 pour établir le domaine vital du renard par la méthode du polygone convexe minimum, qui consiste à dessiner le plus petit polygone à angles convexes englobant l'ensemble des localisations (Meia J.S., 2003). Pour être sûr d'obtenir le domaine complet, des courbes d'évolution de la surface du domaine en fonction du nombre de localisations sont ensuite réalisées.

Figure 5 : Vieux terrier non utilisé

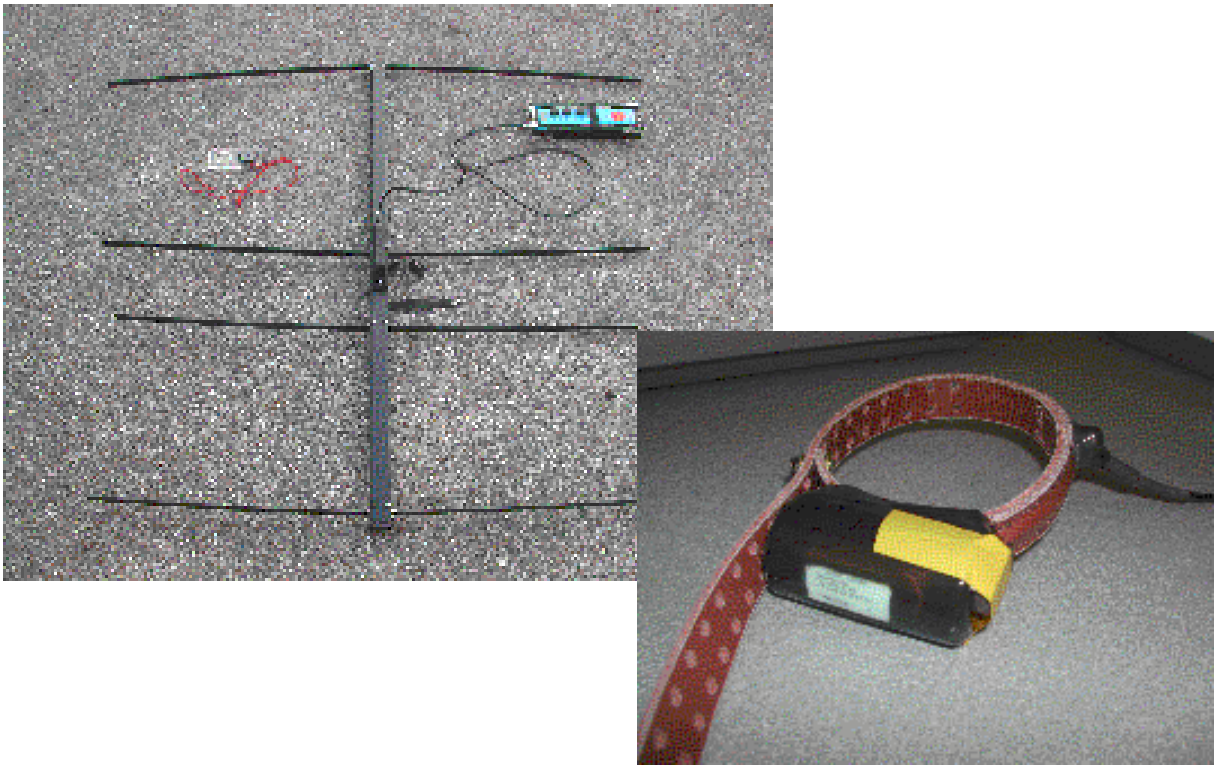


Figure 6 : Matériel de suivi des renards : antenne, récepteur et collier émetteur

II.1.2. Les populations de campagnols

La plupart des études entreprises sur les rongeurs ont été effectuées en utilisant des méthodes d'échantillonnage imposant la capture des animaux. Elles nécessitent en conséquence la mise en place d'un système de piégeage qui limite l'analyse à l'échelle locale, de l'ordre de quelques km². A la fois dispendieuse en temps (Pascal M., 1981), perturbatrice dans ses effets sur les populations et biaisée sous l'influence, notamment, de divers facteurs climatiques, cette méthode d'échantillonnage n'est que difficilement applicable à une échelle plus étendue. La méthode qui sera donc utilisée, pour étudier la répartition des campagnols sur la zone d'étude, sera fondée sur l'observation des traces ou des dégâts liés à la présence des animaux (Delattre P. *et al*., 1990).

Les indices recherchés pour mettre en évidence les deux populations de campagnols sont :

- pour le campagnol terrestre (*Arvicola terrestris*) : les tumulus de terre (figure 7) qui se distinguent des taupinières par leur taille, leur disposition et leur structure, la taille de la galerie souterraine permet également de différencier taupes et campagnols (Giraudoux P. *et al*., 1995 ; Meylan A., 1976),
- pour le campagnol des champs (*Microtus arvalis*) : les trous de sortie, les galeries de passage (figure 8), les fèces et l'herbe coupée tout autour (Delattre P. *et al*., 1990 ; Quéré J.P. *et al*., 2000).

Lors d'un transect traversant le milieu à échantillonner, la présence ou non de ces indices, le type de milieu traversé et les coordonnées géographiques obtenues à l'aide d'un GPS (Global Positionning System) sont notés tous les 10 mètres (annexe 1, Raoul F., communication personnelle, Delattre P. *et al*., 1996).
Les différents milieux traversés ont été regroupés en 7 catégories, qui permettent notamment d'identifier les activités humaines sur ces milieux :

- les bordures de cultures,
- les prairies de fauche,
- les prairies pâturées,
- les jachères,
- les clairières,
- les espaces verts, correspondant aux parcs et autres terrains entretenus,
- les terrains vagues ou friches, espaces non utilisés et laissés à l'abandon.

Ces données sont ensuite utilisées pour réaliser une modélisation spatiale qui permettra d'obtenir des cartes de répartition des campagnols sur la zone d'étude. Une surface de tendance sur la base d'une régression logistique des données de présence/absence sur les coordonnées géographiques est établie. Le modèle obtenu est ensuite utilisé pour prédire la probabilité de présence en un point :

$$P = f(x,y) + \varepsilon$$

P est la probabilité de présence du campagnol
x et y les coordonnées géographiques (longitude et latitude)
ε les résidus

La composante spatiale qui reste dans les résidus de la régression fait l'objet d'un kriging, et les prédictions obtenues sont ajoutées à celles provenant du modèle. Pour résumer, la surface de tendance donne une idée des gradients de probabilité de présence, mais le modèle est biaisé car l'autocorrélation spatiale n'est pas prise en compte à ce stade. Le kriging sur les résidus corrige en partie le biais (Giraudoux P., communication personnelle).

Figure 7 : Tumulus de terre de campagnol terrestre (*Arvicola terrestris*)

Figure 8 : Galerie de campagnol des champs (*Microtus arvalis*)

A l'aide des logiciels R et ArcGIS 8.2, on obtient alors différentes cartes, dont notamment la surface de tendance où sont représentées des courbes d'isodensité en campagnols, le variogramme, les résultats du kriging et la variance des estimations.

Enfin, une analyse supplémentaire, est réalisée pour déterminer si les campagnols se répartissent aléatoirement ou non sur les 7 différents milieux échantillonnés. Dans le cas général, un test du Khi-deux est utilisé, cependant si les effectifs sont inférieurs à 10 une correction de Yates est appliquée.

II.2. Etude du parasite

II.2.1. Collecte du matériel potentiellement parasité

Après avoir identifié les domaines de vie des hôtes porteurs d'*Echinococcus multilocularis*, une recherche plus précise du parasite a été effectuée. Celui-ci se retrouve dans les fèces du renard et dans le foie des campagnols.

L'étude du parasite chez les rongeurs présente l'avantage de ne pas être contaminant pour l'homme contrairement aux fèces. Cependant cela nécessite une forte pression de piégeage des campagnols, la dissection de ceux-ci, l'analyse macroscopique des foies et une analyse par la méthode de Polymerase Chain Reaction (PCR) de ceux présentant des lésions pour confirmer la présence du parasite. Ce protocole demande beaucoup de temps car il faut piéger un grand nombre de campagnols, de plus, les analyses par PCR sont assez coûteuses et lourdes à mettre en place (Delattre P. et al., 1985). Enfin, pour obtenir une vision d'ensemble de la distribution du parasite sur un territoire assez étendu, l'étude des campagnols parasités est inappropriée (Gilot B. et al., 1988).

Finalement, pour les différentes raisons évoquées, il a été choisi de l'étudier dans les fèces de renard plutôt que chez les rongeurs. La première étape consiste à les ramasser et donc à les identifier. Les fèces de renard (figure 9) sont reconnaissables par (Bang P. *et al*, 1999 ; Meia J.S., 2003) :

- la taille : 5 à 10 cm de long, 2 cm de diamètre,
- la forme : allongée, cylindrique, une extrémité est pointue et tournée en spirale,
- la couleur : du gris au noir,
- le contenu : poils, plumes, morceaux d'os, fragments de chitine, restes de baies ou de fruits,
- l'odeur : très forte et caractéristique,
- la position : étant donné que le renard se sert de ses excréments pour marquer son territoire, ils sont souvent disposés sur une souche, une pierre… d'où l'odeur peut se répandre facilement, ils se trouvent également sur les chemins ou dans les coulées suivies par l'animal.

Figure 9 : Fèces de renard

Toutes les fèces trouvées sur l'agglomération d'Annemasse sont ramassées avec précaution, car potentiellement porteuses d'œufs échinocoques et référencées. Les caractéristiques notées sont :

- la date de ramassage,
- la commune (7 communes sur la zone d'étude),
- le type de milieux sur lequel elle a été ramassée (prairie, forêt…),
- sa position sur le paysage : linéaire (par exemple, le long d'une coulée, en bordure de culture…) ou surfacique (au milieu d'une prairie),
- sa fraîcheur, de 1 (très fraîche) à 5 (vieille),
- et ses coordonnées géographiques données à l'aide d'un GPS (annexe 2).

Des crottes sont également ramassées en milieu rural sur 10 placettes de 16 km² réparties autour d'Annemasse. Elles se situent à plus de 10 km du périmètre de la zone d'étude (annexe 3). Sur chaque placette, 5 fèces sont ramassées à chaque saison. Les 5 fèces sont ramassées les plus éloignées les unes des autres pour éviter le ramassage de fèces provenant d'un même renard.
De plus, si des renards sont retrouvés morts ou prélevés au cours de tirs de nuit organisés, les intestins de ceux-ci sont récupérés.

Les fèces et les intestins sont ensuite décontaminés par une congélation à -80°C pendant une semaine.

II.2.2. Analyses réalisées en laboratoire

Les fèces sont ensuite analysées à l'aide du CHEKIT-Echinotest, qui est un test immunoenzymatique (ELISA) pour la détection d'anticorps dirigés contre *Echinococcus granulosus* et *Echinococcus multilocularis*. Les cupules de microtitration sont sensibilisées avec un anticorps polyclonal qui se lie spécifiquement aux antigènes d'*E. granulosus* et d'*E. multilocularis*. Si l'échantillon contient les antigènes correspondants, ceux-ci se combinent avec l'anticorps polyclonal fixé dans les cupules. Les antigènes de l'échantillon liés aux cupules sont détectés avec le conjugué CHEKIT-Anti-Echinococcus marqué à la peroxydase qui oxyde le substrat CHEKIT-TMB, ce qui donne une coloration bleue. Lorsque la réaction est stoppée avec la solution d'arrêt CHEKIT-TMB, la coloration devient jaune.
La coloration est proportionnelle à la quantité d'anticorps spécifiques de l'échantillon. Le mode opératoire détaillé se trouve en annexe 4.

Les résultats des réactions colorimétriques sont lus sur un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 450 nm.
Les échantillons étant testés en double, ce sont les moyennes des valeurs de densité optique des échantillons ($DO_{échantillon}$) et du contrôle positif ($DO_{positif}$) qui sont corrigées par soustraction de la valeur moyenne de densité optique du contrôle négatif ($DO_{négatif}$). La valeur corrigée de l'échantillon est divisée par la valeur corrigée du contrôle positif :

$$\text{Valeur de l'échantillon} = (DO_{échantillon} - DO_{négatif})/(DO_{positif} - DO_{négatif})$$

L'interprétation des résultats est définie dans le mode opératoire du CHEKIT-Echinotest. Lorsque sa valeur, en pourcentage, est inférieure à 30 %, l'échantillon est considéré négatif. Il est considéré positif au-dessus de 40 % et douteux entre les deux.
Compte tenu du manque de spécificité du test, les résultats douteux sont considérés comme négatifs.

Toutes les méthodes de détection du parasite sont définies par :

- leur sensibilité, qui correspond à la proportion d'individus détectés parasités par rapport à la méthode de référence,
- leur spécificité, définie par la proportion d'individus détectés non parasités par rapport à la méthode de référence (Eckert J., 2003).

Pour les intestins de renard, préalablement décontaminés, la méthode de sédimentation et de recherche visuelle par comptage du parasite est utilisée. C'est la méthode de référence, sa sensibilité et sa spécificité sont donc très proches de 100 %. Elle consiste à prélever la muqueuse intestinale qui est ensuite laissée à sédimenter. Le matériel intestinal est analysé à la loupe binoculaire pour déterminer la présence et la charge parasitaire de l'animal (Eckert J., 2003). Cette méthode permet d'obtenir le réel taux d'infestation des renards, contrairement à l'analyse des fèces.

II.2.3. Traitement des données

Les fèces analysées sont localisées sur la zone d'étude, à l'aide d'ArcGIS 8.2, pour déterminer la répartition des fèces contaminées et indemnes.

A l'aide d'un test du Khi-deux, on teste l'influence de la position des fèces en milieu urbain ou rural sur la présence du parasite. On s'interroge sur la contamination en milieu urbain : est-elle plus ou moins importante qu'en milieu rural ?

L'influence des facteurs saisons de ramassage, fraîcheur des fèces et position en centre urbain ou en périphérie, sur la présence du parasite, est également testée à l'aide d'un modèle linéaire généralisé, réalisé avec le logiciel R. Pour cela le centre urbain a été défini par les communes les plus urbaines : Annemasse, Ambilly et la partie la plus urbaine de Ville-la Grand, la zone périphérique étant le reste de la zone d'étude.

$$P = f(\text{saison}, \text{fraîcheur}, \text{position}) + \varepsilon$$

P la probabilité de présence du parasite
ε les résidus
La fonction de lien : $\ln(p/(1-p))$

III. PRESENTATION ET INTERPRETATION DES RESULTATS OBTENUS

III.1. Présentation des données récoltées

III.1.1. Les renards suivis

L'étude qui avait débuté en février 2003 avait permis de piéger 7 renards (annexe 5) :

- le 30 avril 2003, un renard nommé Rainman est piégé, il est toujours suivi régulièrement,
- le 12 juin 2003, une jeune renarde la Cruée, elle disparaît une semaine plus tard,
- le 16 juin 2003, une renarde nommée Rosy sera suivie pendant 8 mois,
- le 22 juin 2003, un renard Gilbert, suivi pendant 10 mois,
- le 23 juin 2003, un renard Manu, suivi pendant 7 mois,
- 18 février 2004, un renard le Galeux, suivi pendant 1 mois,
- 19 février 2004, une renarde la Flèche, toujours suivie.

Dernièrement une nouvelle renarde a été capturée, après plus de 3 semaines de piégeage, le 22 juin 2004, elle a été nommée Corlie, mais elle n'a pu être suivie qu'un mois.

III.1.2. Les transects réalisés

Pour le suivi des populations de campagnols, 126 transects (soit une longueur de 44,86 km) ont été effectués de façon à parcourir au mieux la zone d'étude. Certains secteurs très urbanisés n'ont pu être échantillonnés du fait du protocole choisi, basé sur la recherche des traces. Sur la période échantillonnée, de début mai à fin juin 2004, et sur l'ensemble de la zone, les densités en campagnol terrestre (*Arvicola terrestris*) sont plus importantes : 29,8 % des intervalles de 10 m présentent des signes de présence d'*Arvicola terrestris* contre 8,2 % pour *Microtus arvalis* (annexe 6).

III.1.3. Les fèces récoltées et analysées

L'étude précédente avait permis d'analyser 93 fèces en zone urbaine et 50 en zone rurale sur les placettes autour d'Annemasse (Sigaud F., 2003).
Depuis 193 fèces urbaines de plus, ont été ramassées, ainsi que 198 fèces rurales. Pour des raisons de disponibilité des plaques ELISA, les fèces nouvellement récoltées n'ont, pour l'instant, pas pu être analysées. Les quelques échantillons analysés ont montré des résultats impossibles à valider, certainement dû à un défaut de fabrication des plaques.
L'analyse des données portera donc sur les fèces déjà analysées en 2003.
Pour l'instant, l'étude précédente a permis d'analyser 2 intestins de renard, qui se sont révélés indemnes de parasites. Par la suite cette donnée ne sera pas utilisée, du fait de son caractère très peu significatif.

III.2. Analyse des données

III.2.1. Détermination de la surface du domaine vital d'un renard

La représentation de la surface du domaine vital d'un renard, en fonction du nombre de pointages où il a été localisé, permet d'estimer la surface finale de son territoire.
En effet, il faut effectuer un certain nombre de pointages pour cerner complètement le domaine vital de l'animal. Quand la surface n'augmente plus avec le nombre de sites où il a été localisé, on peut supposer que le domaine complet est obtenu.

Sur les 7 renards suivis, seul le domaine de Rainman semble nettement atteint (figure 10). Son domaine atteint 1,68 km², il a été identifié sur 96 sites différents. De part la taille relativement importante de son domaine, Rainman apparaît comme un renard plutôt rural. Le milieu dans lequel il vit est peu urbanisé et se compose de vastes surfaces maraîchères, de forêts et de quelques lotissements. En effet, dans les zones rurales et industrielles, les domaines vitaux sont typiquement compris entre 1 et 2 km² (Meia J.S., 2003).

Le domaine de Manu (figure 11) aurait nécessité quelques points supplémentaires pour s'assurer que la courbe tend bien vers une asymptote. Manu avait un domaine supposé de 0,74 km² obtenu après 65 pointages différents. Il vivait dans un secteur très urbanisé, c'est un des renards étudiés le plus urbain, malheureusement il est mort prématurément d'une collision avec une voiture, alors qu'il sortait de son territoire habituel pendant la période de reproduction.

Les domaines de Gilbert et Rosy (figures 12 et 13) auraient également nécessité quelques pointages supplémentaires. Avec 65 pointages différents la surface du domaine de Rosy a été évaluée à 1,25 km², celle de Gilbert à 1,45 km² pour 62 pointages. Les domaines de vie de ces deux renards sont plutôt ruraux, de part leur taille et leur localisation (annexe 5).

Pour l'instant, le domaine de la Flèche (figure 14) atteint 0,83 km² pour 35 sites différents, des pointages supplémentaires permettront de mieux le déterminer.

Enfin, rien ne peut être dit sur les domaines du Galeux (figure 15), qui est mort rapidement de la gale (0,38 km² pour 7 pointages), de la Cruée, disparue une semaine après sa capture, et de Corlie (figure 16) récemment équipée d'un collier émetteur et retrouvée morte un mois après (0,25 km² pour 7 pointages).

Dans l'ensemble, il apparaît qu'une centaine de pointages différents soit nécessaire pour déterminer le domaine de vie d'un renard urbain.
De plus, du fait de l'hétérogénéité de l'urbanisation sur la zone d'étude, une diversité de la taille des domaines est observée. En effet, sur un milieu urbanisé un renard a besoin d'une surface moins grande, du fait d'une plus grande richesse alimentaire du site, générée par les détritus (Meia J.S., 2003).

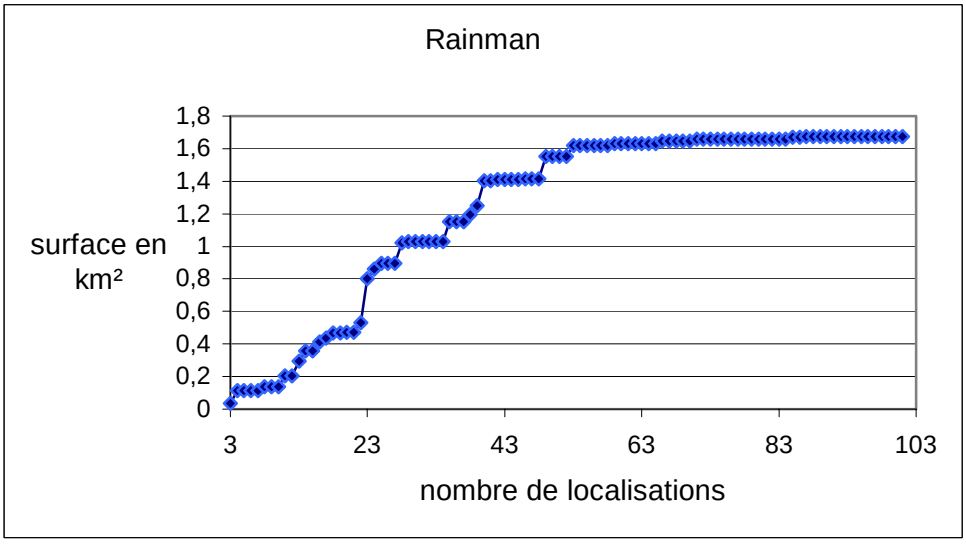


Figure 10 : Evolution de la surface du domaine de Rainman en fonction du nombre de localisations

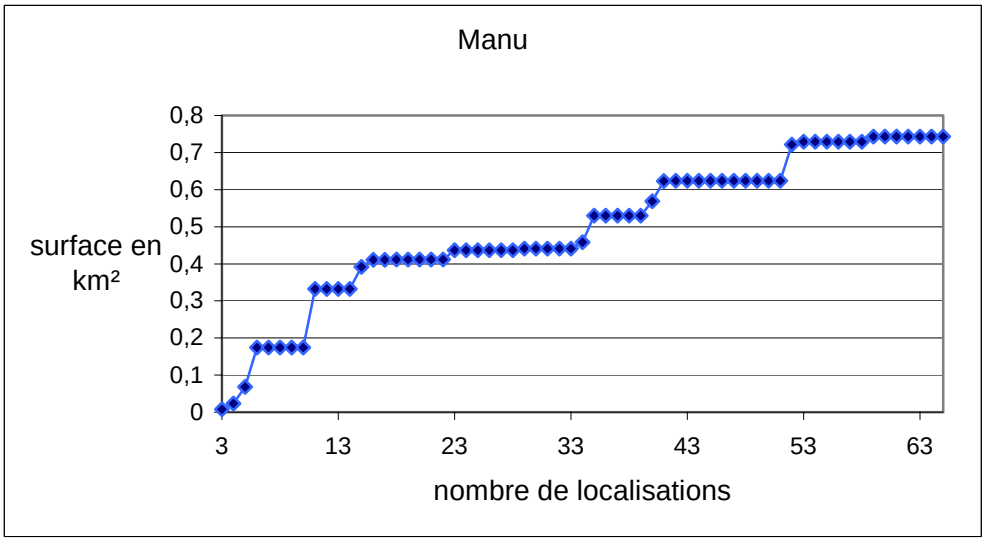


Figure 11 : Evolution de la surface du domaine de Manu en fonction du nombre de localisations

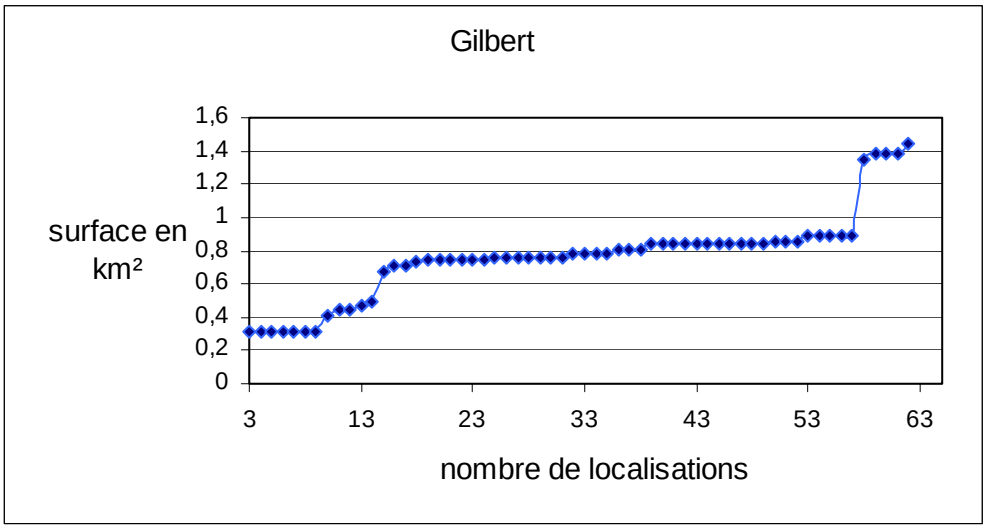


Figure 12 : Evolution de la surface du domaine de Gilbert en fonction du nombre de localisations

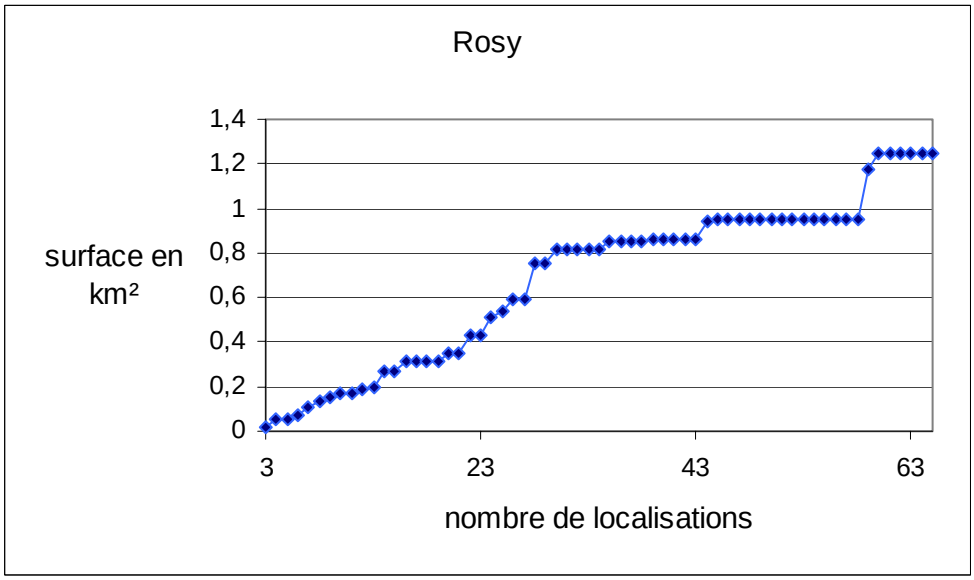


Figure 13 : Evolution de la surface du domaine de Rosy en fonction du nombre de localisations

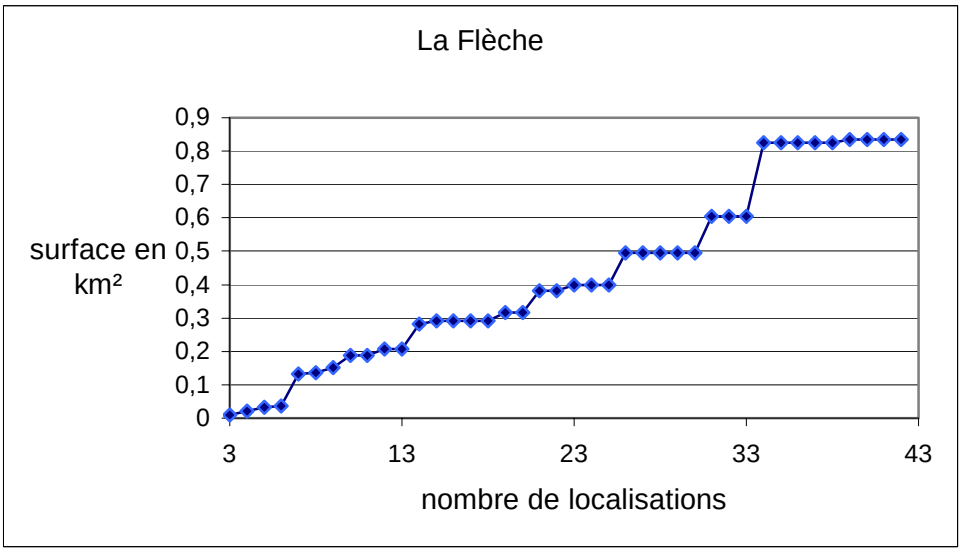
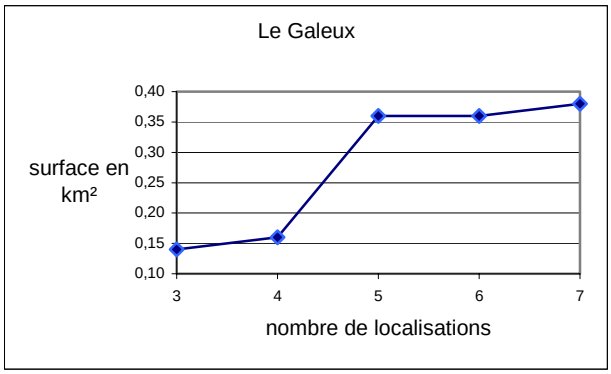
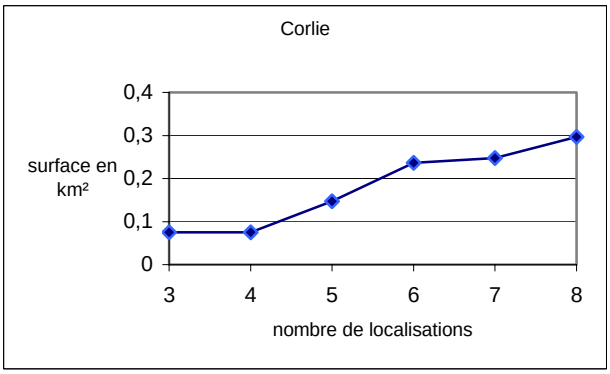


Figure 14 : Evolution de la surface du domaine de la Flèche en fonction du nombre de localisations





Figures 15 et 16 : Evolution de la surface du domaine du Galeux et de Corlie en fonction du nombre de localisations

III.2.2. Milieux propices aux campagnols

L'étude des populations de campagnols, par la réalisation de transects, a permis de noter la présence/absence des deux espèces sur des intervalles de dix mètres.
Dans un premier temps on compare les deux populations de campagnols.

	présence	absence
A. terrestris	669	1574
M. arvalis	184	2059

Tableau I : comparaison des fréquences des deux espèces de campagnol

La comparaison de ces fréquences (tableau I) par un test du Khi-deux montre une différence significative ($p = 4{,}9.10^{-76}$, ddl = 1), il y a donc bien plus d'*Arvicola terrestris* que de *Microtus arvalis* sur la zone d'étude, pour la période étudiée.

Dans un deuxième temps, on s'intéresse à la répartition des campagnols en fonction des 7 milieux échantillonnés.

	bordure	clairière	espace vert	jachère	prairie de fauche	pâture	terrain vague
présence d'A. terrestris	30	2	30	7	390	173	32
absence d'A. terrestris	33	14	314	107	686	243	143

Tableau II : comparaison des fréquences d'*Arvicola terrestris* en fonction du milieu

	bordure	clairière	espace vert	jachère	prairie de fauche	pâture	terrain vague
présence de M. arvalis	0	0	3	3	153	10	14
absence de M. arvalis	63	16	341	111	923	406	161

Tableau III : comparaison des fréquences de *Microtus arvalis* en fonction du milieu

La comparaison des fréquences selon les milieux (tableau II et III) par un test du Khi-deux donne une différence significative pour *A. terrestris* ($p=5{,}5.10^{-35}$, ddl = 6). Pour *M. arvalis*, de nombreux effectifs sont inférieurs à 10, une correction de Yates est donc utilisée. On obtient aussi une différence significative ($p<0{,}001$, ddl = 6 , $\chi^2 = 100$). Les campagnols ne sont donc pas répartis au hasard mais se trouvent sur certains milieux préférentiels.

A partir de la figure 17, on observe qu'*Arvicola terrestris* se retrouve, principalement, au niveau des bordures de cultures, des pâtures et des prairies de fauche. Il est moins présent dans les espaces verts et les jachères.
Microtus arvalis, quant à lui, se trouve principalement dans les prairies de fauche. Sa présence n'a pas été notée dans les bordures de cultures et dans les clairières. Les espaces verts sont aussi peu fréquentés.

Des études ont montré, qu'en règle générale, les bordures et les cultures hébergent les plus fortes densités de populations de rongeurs (Delattre P. *et al*., 1988). C'est bien ce que l'on constate pour *Arvicola terrestris* mais pas pour *Microtus arvalis* pour le milieu bordure. Cependant, dans cette étude, les cultures n'ont pas été échantillonnées car relever les traces de présence n'est pas une méthode adaptée à ce type de milieu. En effet, les labours fréquents effacent les indices laissés par les campagnols. Ainsi les cultures sont généralement échantillonnées à l'aide des méthodes de piégeage.

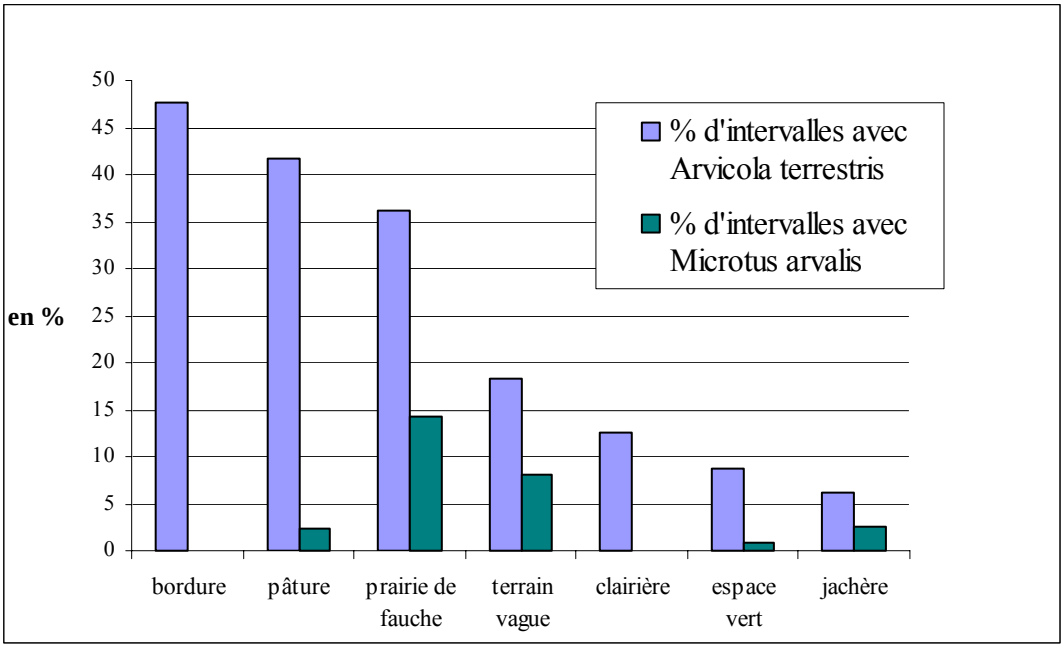


Figure 17 : Répartition des deux campagnols selon le milieu

Les prairies de fauche hébergent, généralement, plus de campagnols que les pâtures, du fait du piétinement par les animaux (Raoul F., communication personnelle). Ce qui n'est pas constaté pour *Arvicola terrestris*. On peut penser qu'il est moins dérangé, du fait de son activité souterraine. Contrairement à *Microtus arvalis*, qui est moins présent sur les pâtures.

Ainsi, on observe des milieux plus propices à chaque espèce. D'une manière générale, les bordures de culture et les prairies hébergent les plus fortes densités de campagnols.

III.2.3. Influence de quelques facteurs sur la présence du parasite dans les fèces

Sur les fèces ramassées en 2003, il avait été montré que :

- 29 % des fèces urbaines étaient porteuses du parasite,
- contre 58 % des fèces rurales (tableau IV).

	fèces urbaines	fèces rurales
test elisa positif	28	29
test elisa négatif	65	21

Tableau IV : répartition du parasite dans les fèces urbaines et rurales

L'analyse de la répartition du parasite en zone urbaine ou rurale, par un test du Khi-deux montre une différence significative ($p = 0,0012$, ddl = 1, $\chi^2 = 10,55$). Le parasite est donc plus présent dans les fèces des zones rurales. Ceci peut s'expliquer par la différence de régime alimentaire qui existe entre les renards urbains et ruraux. En effet, le renard est très généraliste et opportuniste dans sa quête de nourriture. Dans les zones urbaines, les déchets laissés par l'homme peuvent représenter 60 % du régime alimentaire contre 25 % en zone rurale (Meia J.S., 2003). Les renards ruraux consommeraient donc plus de campagnols que les urbains et auraient ainsi plus de chance d'être contaminés par le parasite. L'étude du régime alimentaire des renards urbains d'Annemasse a montré que les déchets représentent un peu moins de 30 % de leur alimentation (Sigaud F., 2003), cependant l'étude en zone rurale n'a pas été menée et ne permet donc pas de réaliser une comparaison.

Ensuite une analyse supplémentaire a été effectuée sur les fèces urbaines dont on connaît la saison de ramassage, la fraîcheur et la position sur la zone. Ces trois variables ont été testées pour déterminer leur rôle sur la présence du parasite, à partir d'un modèle linéaire généralisé. Sur les fèces analysées, seules 3 saisons sont représentées : été, hiver et printemps.
Les premiers résultats permettent de montrer que la saison de ramassage et la fraîcheur des fèces influencent significativement la présence du parasite (respectivement $p = 0,004$, ddl = 2, $\chi^2 = 10,93$ et $p = 0,002$, ddl = 4, $\chi^2 = 17,24$), alors que la position en centre urbain ou en périphérie n'a pas d'importance significative ($p = 0,442$, ddl = 1, $\chi^2 = 0,59$) et est, par la suite, retirée du modèle.

Pour le facteur saison, on s'aperçoit qu'en hiver les fèces ont plus de chance d'être contaminées par le parasite qu'en été et au printemps.
Certaines études ont, en effet, montré que les renards sont plus infestés pendant la période hivernale, de novembre à mars (Pétavy A.F. *et al.*, 1980 ; Coudert J. *et al.*, 1970 in Gilot B. *et al.*, 1988). Cependant, aucune différence significative, entre les saisons, n'a été trouvée sur l'île japonaise d'Hokkaido (Morishima Y. *et al.*, 1999).

Pour l'instant, ce résultat est une première constatation et devra être confirmé par l'analyse des autres fèces ramassées, ce qui permettra de représenter au mieux toutes les saisons.

Pour le facteur fraîcheur, on observe une probabilité de présence du parasite plus importante dans les fèces classées dans la catégorie de fraîcheur 1 (ce qui correspond aux fèces les plus fraîches) et relativement moins importante dans les fèces les plus vielles (fraîcheur 5).
Ce qui voudrait dire qu'au fil du temps l'œuf échinocoque se retrouve moins dans les fèces. Sachant qu'il ne possède aucun système particulier pour se fixer, il pourrait être lessivé par les pluies ou complètement détruit par l'activité de micro-organismes divers (Pesson B. *et al.*, 1989).
Aucune différence significative n'a été observée entre les catégories de conservation « humide », « intermédiaire » et « sec » des fèces de l'Est de la France, établies dans la thèse de Raoul F. en 2001. Toutefois une diminution, peu marquée, des densités optiques issues des tests ELISA, a tout de même été signalée.
Le résultat obtenu, bien qu'à confirmer par l'analyse des autres fèces récoltées, remettrait en cause le ramassage des fèces les plus vieilles.

En résumé, les crottes de la zone urbaine d'Annemasse sont moins contaminées que celles des zones rurales. Il apparaîtrait que l'hiver, les fèces urbaines sont plus contaminées et qu'il faut travailler sur du matériel frais pour avoir une meilleure estimation de la prévalence.

III.3. Représentations cartographiques

III.3.1. Répartition des renards sur l'agglomération (figure 18, annexe 5)

Les domaines des renards étudiés couvrent une bonne partie de la zone d'étude. Sur quelques zones le piégeage n'a abouti à aucune capture, notamment sur les communes d'Ambilly et de Ville-la-Grand. Cependant des fèces ont été ramassées sur ces communes et attestent donc le passage de renards. Parfois des renards y ont également été repérés lors des tournées nocturnes.

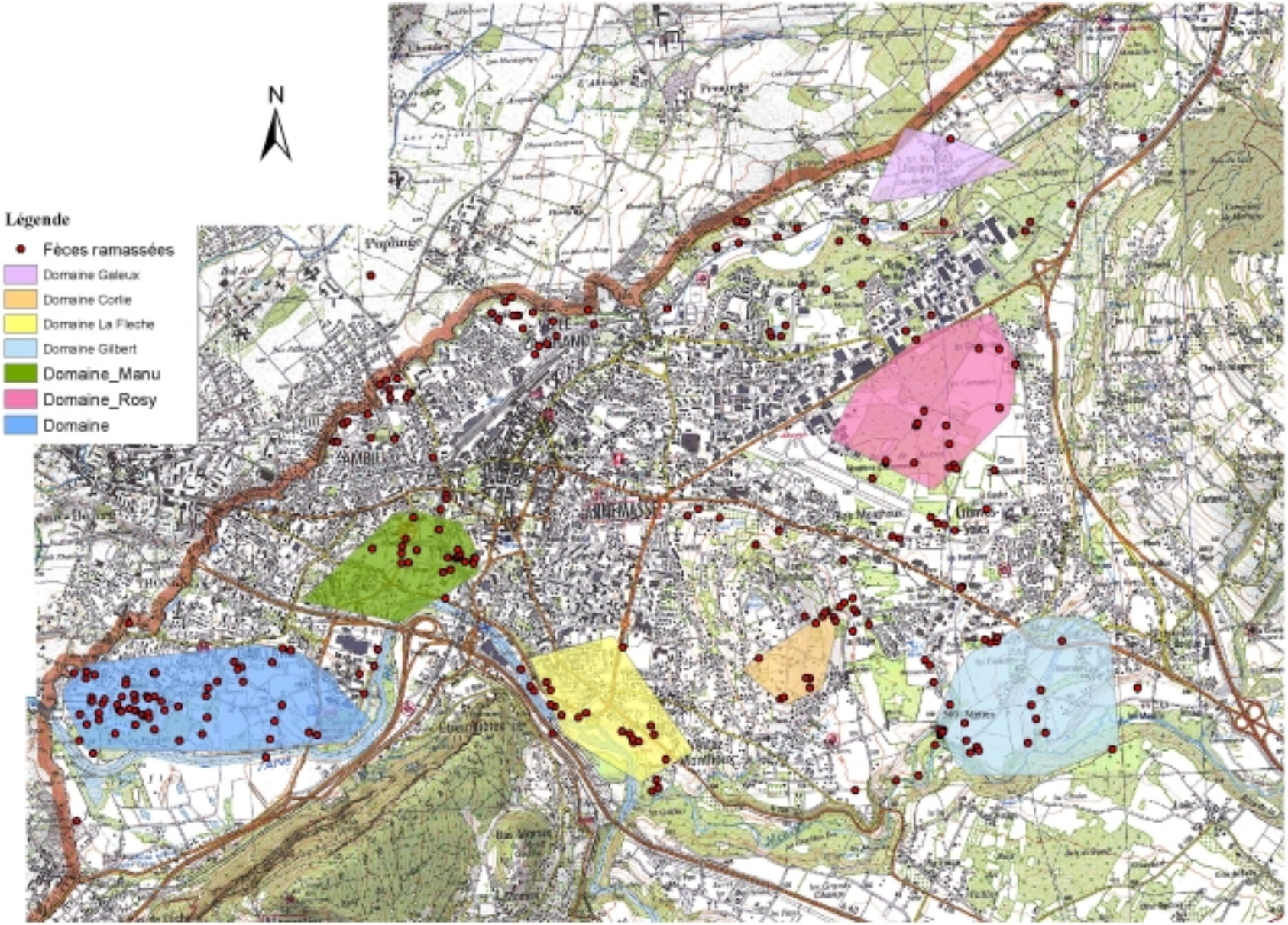
En superposant les domaines de vie des renards capturés et les fèces récoltées, on obtient une bonne image des zones fréquentées par les renards. Finalement, les renards sont bien présents sur l'agglomération sauf au centre même d'Annemasse, quartier le plus urbanisé, où aucune crotte n'a été ramassée. Toutefois, cela ne permet pas d'affirmer qu'aucun renard n'est présent. La collecte de fèces en ville est difficile du fait de la confusion possible avec les nombreux excréments de chiens déjà présents.

Certains domaines représentés sur la carte sont des domaines de renards morts (le Galeux, Rosy, Gilbert, Manu, Corlie), cependant, généralement un renard ne vit pas seul sur son domaine (Meia J.S., 2003). En effet, d'autres renards ont pu être observés notamment sur le territoire de Gilbert, de Corlie ou de Rainman. Des études en milieu urbain ont estimé la densité des populations vulpines autour de 10 individus par km² (Deplazes P. *et al*., in press).
De plus, même si le domaine est laissé vide, il est très souvent vite recolonisé par de nouveaux renards en quête de territoire ou par les renards voisins. Quatre mois après la mort de Manu et de Rosy, de nouvelles fèces ont été trouvées sur leur domaine.

Rainman occupe la zone verte de Gaillard qui comporte principalement des cultures maraîchères mais aussi des parcs et un parcours sportif.
Manu vivait sur la commune d'Annemasse au niveau d'un espace de cultures maraîchères et de prairies inséré dans l'espace urbain.
La Flèche se déplace, principalement, sur la commune de Vétraz-Monthoux sur des prairies et des cultures mais on la retrouve aussi souvent sur le sentier qui longe l'Arve et aussi dans les lotissements proches de son domaine.
Les autres renards étaient un peu moins en contact avec l'homme :

- Rosy vivait principalement au niveau du Bois des Rosses et sur les cultures alentours, elle a été repérée plusieurs fois dans les granges ou près des fermes,
- Corlie, principalement sur des prairies et des zones de cultures situées au milieu d'un habitat diffus, elle a été retrouvée morte dans une cabane de jardin abandonnée,
- Gilbert sur des prairies, des cultures mais aussi quelques petites zones maraîchères,
- Enfin, le Galeux sur des prairies et des cultures, il a été retrouvé dans le village de Juvigny dans une grange.

Ainsi, les renards sont bien présents et bien établis sur l'ensemble de la zone d'étude, en effet les renards suivis sont sédentaires, ce ne sont pas de renards itinérants qui passent occasionnellement en milieu urbain. Les 7 renards suivis représentent une petite partie de la population de renards de la zone et de nouvelles tentatives de piégeage, notamment sur Ambilly et Ville-le-Grand, permettront de compléter cette cartographie.



IGN - Projection Lambert II étendu

Figure 18 : Localisation des zones fréquentées par les renards

III.3.2. Mise en évidence des foyers de campagnols

Les méthodes de géostatistique ont permis d'établir des cartes de répartition des campagnols sur la zone d'étude.

Tout d'abord, pour avoir une idée des gradients de probabilité de présence des campagnols, une surface de tendance est réalisée, sur la base d'une régression logistique des données présence/absence sur les coordonnées géographiques (figure 19). Pour les deux espèces de campagnols, on observe nettement les gradients de probabilité. Plus on s'éloigne du centre ville et plus les densités sont élevées.

Cependant ce modèle ne prend pas en compte la corrélation spatiale des données, il est alors complété par une méthode de krigeage.

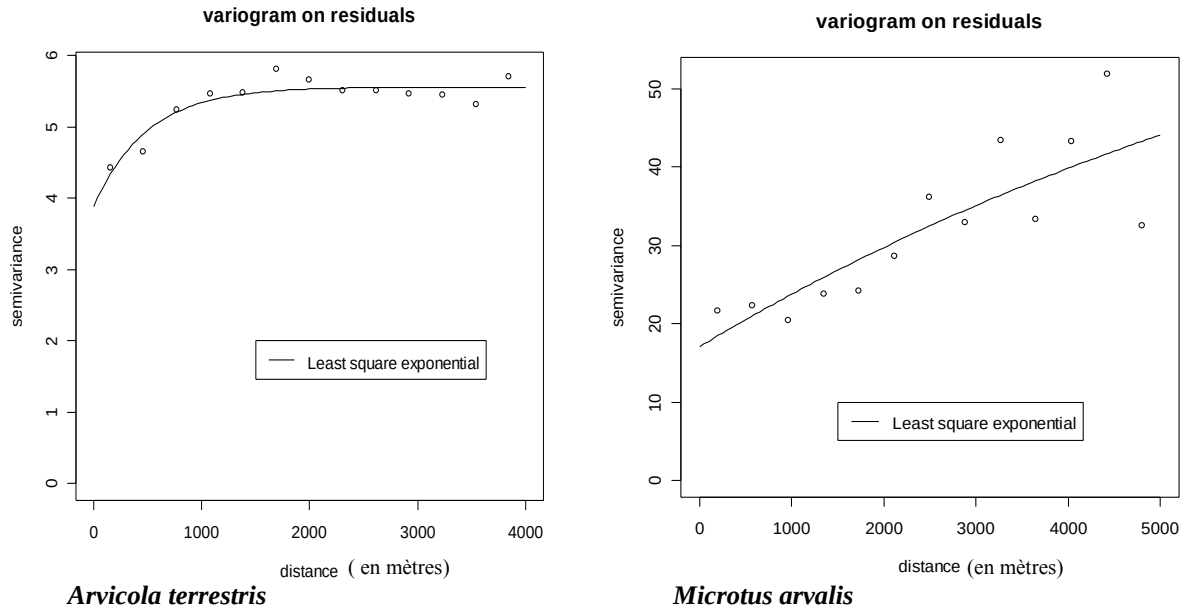


Figure 20 : Variogrammes

Ensuite, l'étude du variogramme (figure 20) permet d'analyser la façon dont se détériore l'information acquise en un point au fur et à mesure que l'on s'en éloigne.

Pour le campagnol terrestre (*Arvicola terrestris*), l'indépendance spatiale entre les observations est atteinte à partir de 1 500 m, et le modèle exponentiel choisi peut être utilisé pour l'estimation par krigeage.

Pour le campagnol des champs (*Microtus arvalis*), l'allure du variogramme est différente, on n'observe pas vraiment de palier, un modèle exponentiel peut tout de même être utilisé.

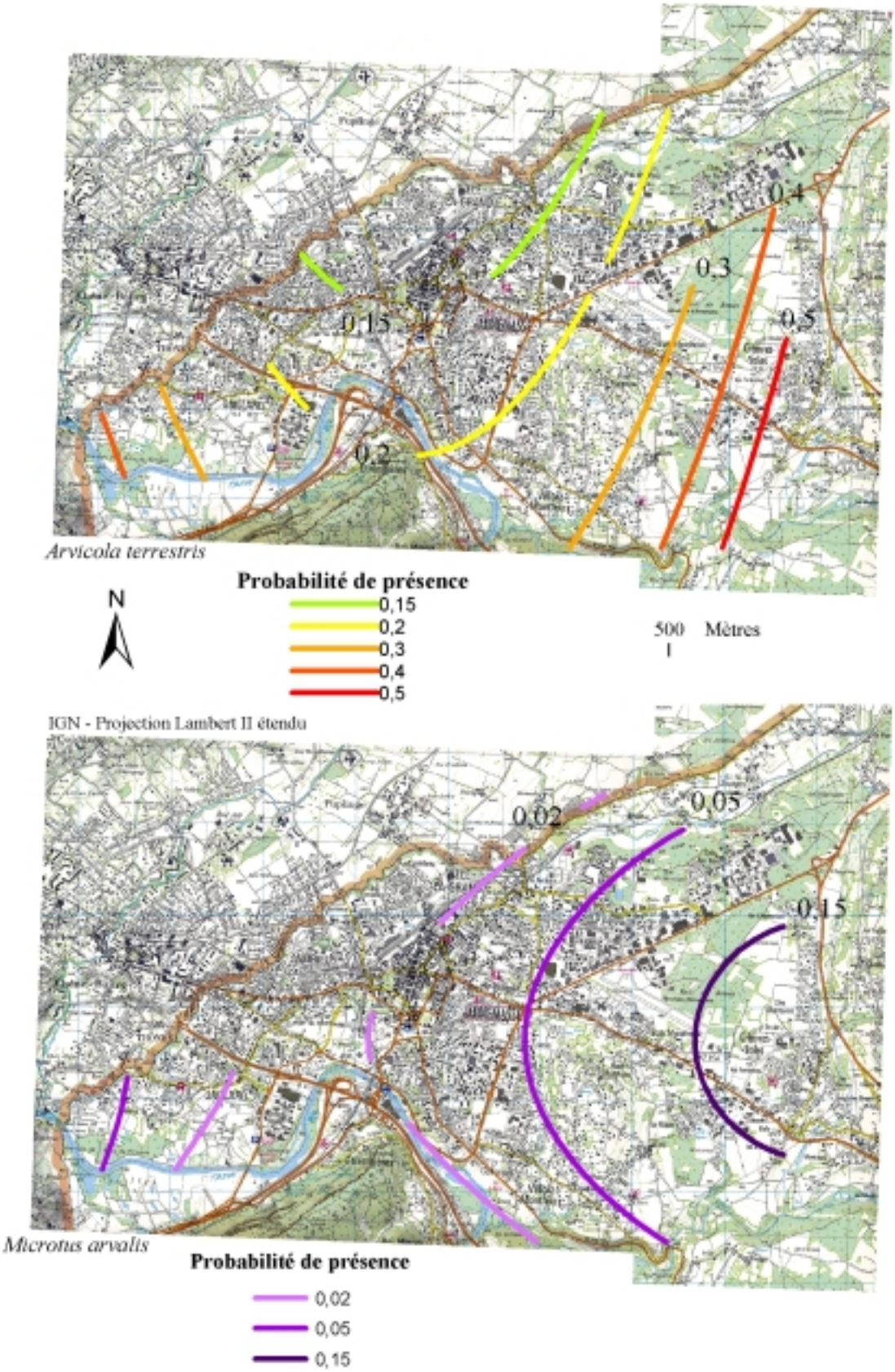


Figure 19 : Courbes de tendance de la répartition des campagnols

Une cartographie de la zone est alors réalisée à partir des informations fournies par le variogramme. Les cartes obtenues après krigeage (figure 21) sont plus précises par rapport aux surfaces de tendance et illustrent des changements abrupts de densité relative. Dans les deux cas, les courbes, représentant la probabilité de présence des campagnols (0,1 et 0,4 pour *Arvicola terrestris* ; 0,01 et 0,1 pour *Microtus arvalis*) sont très proches et marquent une transition très rapide entre des zones de forte et de plus faible densité.
Arvicola terrestris, plus présent sur la zone d'étude, présente des foyers de plus fortes densités qui sont situés :

- en partie sur les zones maraîchères de Gaillard et Annemasse,
- sur le bois des Rosses,
- sur le Haut-Monthoux,
- et sur un secteur un peu plus urbanisé d'Annemasse.

Microtus arvalis présente également des foyers de plus fortes densités :

- en partie sur les zones maraîchères de Gaillard et Annemasse,
- au sud-est du bois des Rosses,
- au sud de Vétraz-Monthoux,
- aux alentours de Marsaz sur la commune de Ville-la-Grand,
- et dans quelques petites zones dans Annemasse.

Ces cartes sont complétées par des cartes de la variance d'estimation qui permettent de visualiser les secteurs où les estimations sont plus ou moins précises (annexe 7), sachant que plus on s'éloigne des points échantillonnés et moins l'estimation est précise.

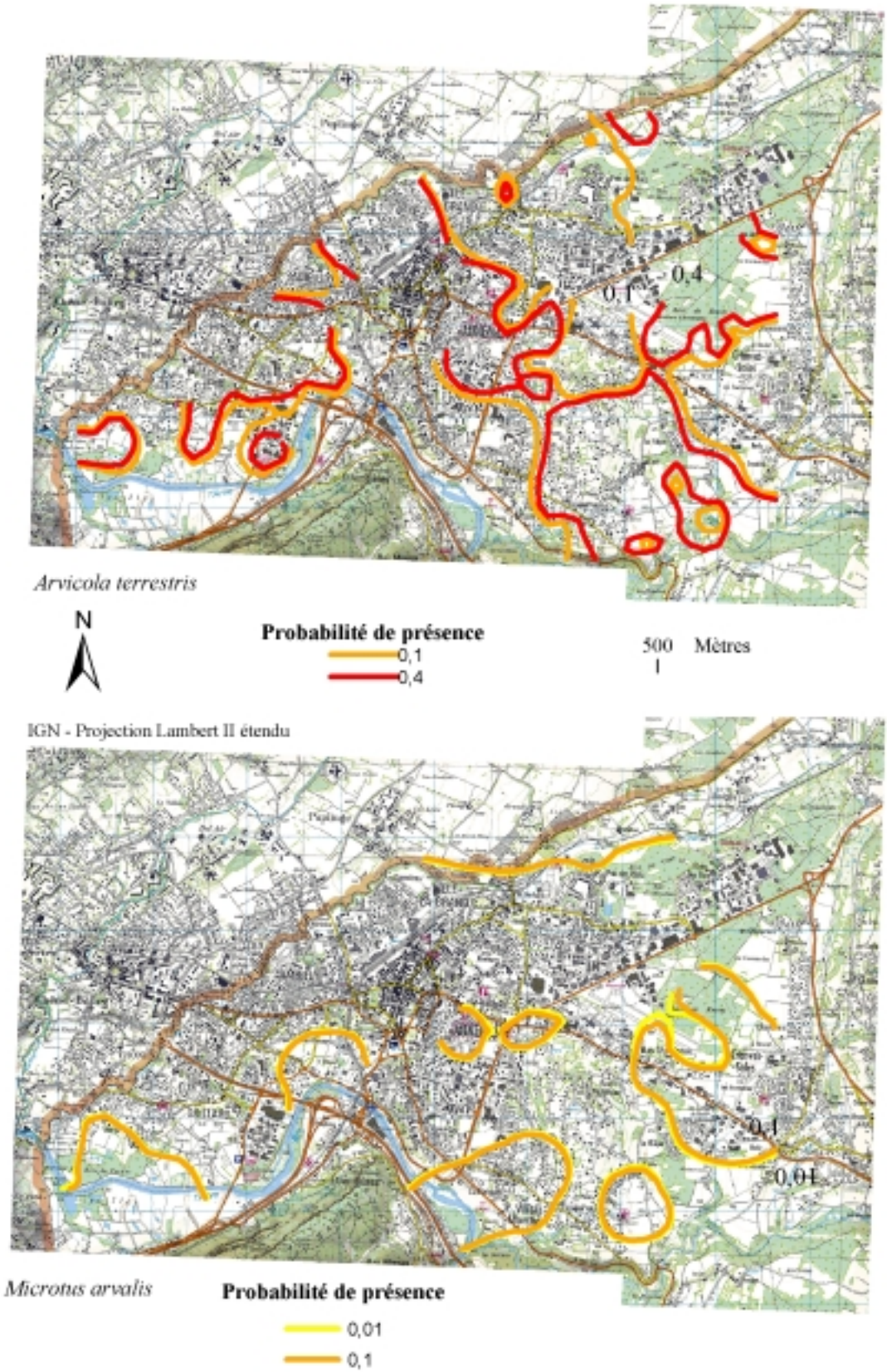


Figure 21 : Estimation cartographique des zones de présence des campagnols

III.3.3. Zones présentant le parasite

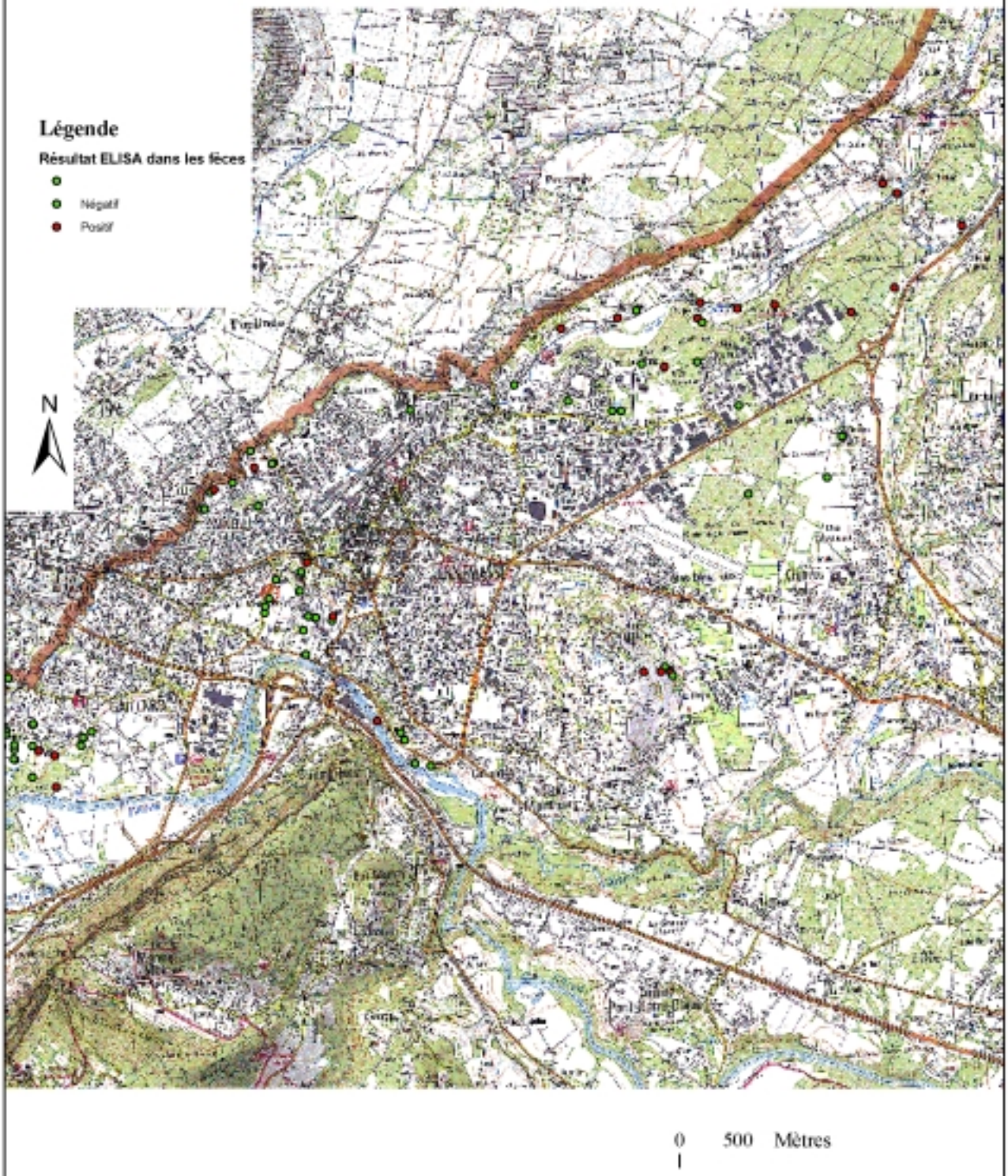
Sur les 93 fèces ramassées et analysées en 2003, 28 étaient porteuses du parasite, soit 29 % (Sigaud F., 2003).

En observant la répartition des fèces positives, on s'aperçoit qu'elles sont bien réparties sur l'ensemble de la zone d'étude, et même très proches du centre urbain (figure 22).
Le parasite est retrouvé :

- dans les deux zones maraîchères de Gaillard et Annemasse,
- dans les espaces verts d'Ambilly,
- le long du Foron de Ville-la-Grand à Juvigny,
- sur le Haut-Monthoux,
- et le long de l'Arve, sur un sentier de promenade.

Finalement le parasite est présent sur l'ensemble de la zone d'étude, visuellement il semblerait qu'il soit plus présent en périphérie qu'au centre urbain. Cependant cela n'a pas été confirmé statistiquement (voir III.2.3. Influence de quelques facteurs sur la présence du parasite dans les fèces). Des études ont, toutefois, montré un taux d'infestation des renards plus élevé en périphérie des zones urbaines par rapport au centre urbain (Stieger C. *et al*., 2002 ; Hofer S. *et al*., 2000).
L'analyse supplémentaire des nouvelles fèces récoltées apportera un complément d'information très important pour définir non seulement la présence du parasite, mais aussi l'infestation du milieu.

Figure 22 : Localisation du parasite dans les fèces récoltées



III.3.4. Zones à risque pour la population humaine

Les zones à risque pour la population humaine sont définies par la superposition des cartes établies précédemment. Ce sont des zones sur lesquelles les deux populations hôtes du parasite sont présentes et où le parasite a également été mis en évidence. Cet aspect est l'aléa du risque qu'il faut associer à la vulnérabilité, c'est-à-dire, l'activité humaine sur ces zones. En effet, même si le parasite est présent en centre ville, il y a peu de chance, malgré une densité de population humaine plus élevée, qu'il entre en contact direct avec l'homme. Il y a plus de risque dans les zones maraîchères ou de loisirs. Le parasite étant présent à la surface et dans le sol, ce sont les zones où l'homme aura un contact fréquent avec le sol ou avec les végétaux contaminés qui seront à risque.

La zone d'étude, avec de nombreux espaces verts et agricoles insérés au sein même de la ville, possède ainsi un habitat assez diffus et permet donc aux populations de renards et de campagnols de s'y implanter. Vu la répartition des populations hôtes et du parasite sur l'ensemble de la zone d'étude, les zones les plus à risque sont (figure 23 et 24) :

- Toutes les zones maraîchères et les potagers de la zone étudiée, notamment pour les agriculteurs et cultivateurs qui vont manipuler la terre et les plants mais également pour les consommateurs qui vont consommer les produits,

- Les espaces de loisirs et de détente. Ces zones sont souvent fréquentées par les promeneurs et leurs chiens qui peuvent alors se contaminer en ingérant des rongeurs parasités, que ces rongeurs soient vivants ou morts. Par la suite, ils pourront transmettre le parasite à leur maître. C'est également dans les parcs que les enfants vont jouer dans l'herbe ou le sable et se contaminer, par exemple, en mettant leur main à la bouche.

Ce sont sur ces zones qu'il faudra agir prioritairement pour mettre en place une méthode de lutte contre le parasite.

Zone maraîchère de Gaillard

Parc du Bois de Vernaz

Figure 24 : Morphologie des zones à risque

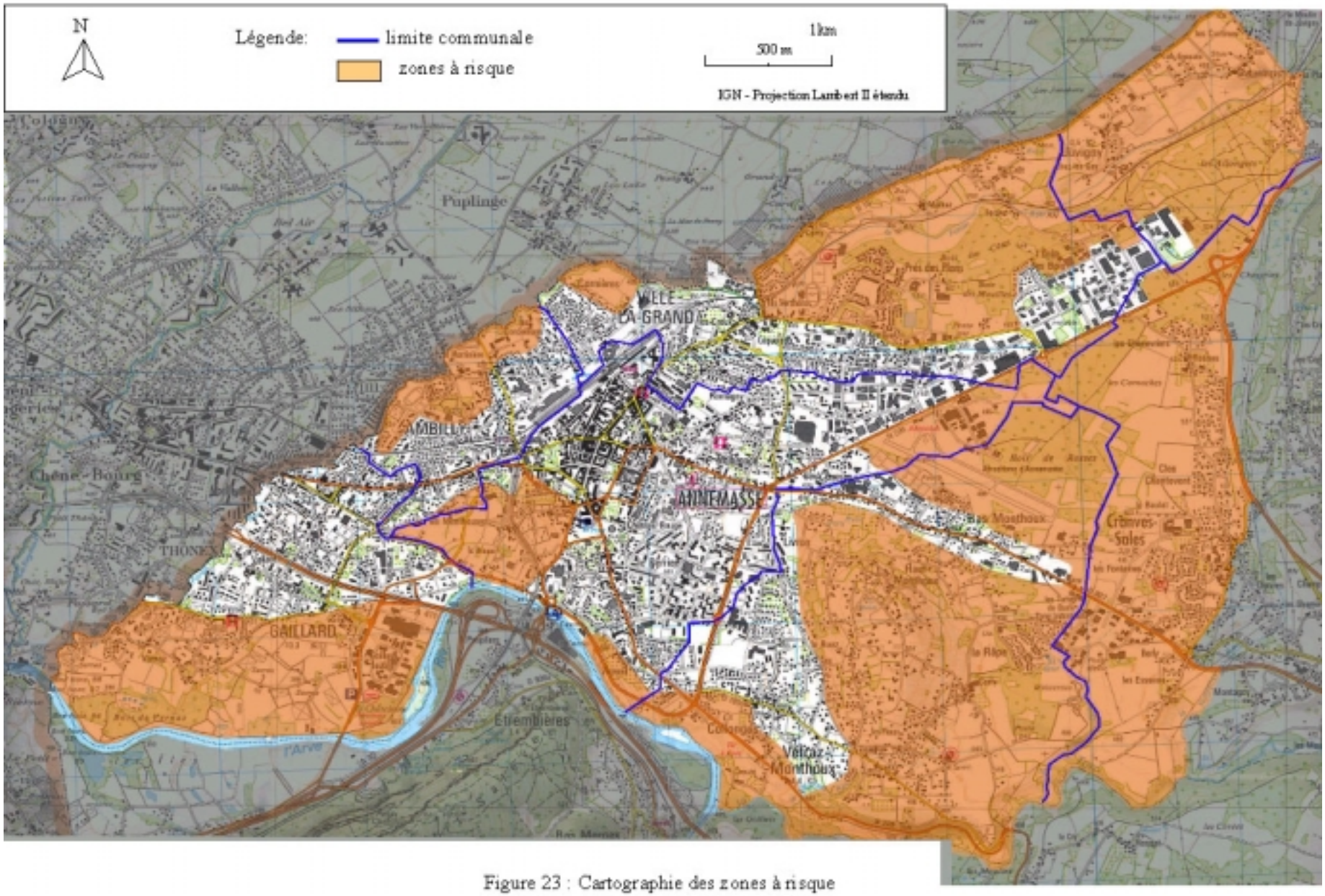


Figure 23 : Cartographie des zones à risque

IV. DISCUSSION GENERALE ET PERSPECTIVES

IV.1. Discussion

IV.1.1. Le protocole suivi

Les deux principaux campagnols définis comme hôtes intermédiaires ont été étudiés mais, en France, 6 espèces de rongeurs ont été trouvées porteuses du parasite dans des proportions relativement différentes (Viel J.F. *et al.*, 1999) :

- *Microtus arvalis* (le campagnol des champs),
- *Arvicola terrestris* (le campagnol terrestre),
- *Microtus subterraneus* (le campagnol souterrain),
- *Clethrionomys glareolus* (le campagnol roussâtre),
- *Ondatra zibethicus* (le rat musqué),
- *Mus musculus* (la souris domestique).

Ainsi tous les hôtes intermédiaires du parasite n'ont pas été étudiés et les deux campagnols étudiés l'ont été d'un point de vue de leur population mais pas de la parasitologie. Cela n'a pas été jugé nécessaire, sachant que l'on sait que le parasite est présent. Le taux d'infestation des campagnols n'aurait finalement pas apporté beaucoup plus d'information par rapport au taux d'infestation des fèces, et par rapport à la volonté de cartographier les zones à risque. Bien sûr cela aurait permis de préciser la dynamique du parasite et les taux de transmission entre les hôtes primaires et secondaires. Cela sera peut-être envisagé ultérieurement.

De même les animaux domestiques n'ont pas été étudiés, il serait intéressant de les intégrer dans l'étude, pour identifier la situation à Annemasse. Le cycle domestique entre le chat et la souris peut exister mais il ne permet pas à lui seul de maintenir le parasite. Le chat est peu sensible au parasite et il enterre ses déjections défavorisant ainsi la transmission à la souris. Ce cycle nécessite d'être alimenté par l'intermédiaire d'hôtes beaucoup plus réceptifs comme le renard ou le chien et les campagnols. Le chien peut avoir un rôle important surtout dans les milieux ruraux où il vagabonde librement, ce qui est, tout de même, peu la situation en milieu purement urbain. Dans tous les cas, les animaux domestiques interviennent peu dans la dissémination du parasite à l'échelle d'une ville, mais ils sont à prendre en compte, en tant que facteur de risque, car ils véhiculent le parasite directement au contact de l'homme.

Le protocole suivi pour l'étude des campagnols, basé sur la recherche des indices de présence, a été établi pour une période comprise entre octobre et avril, lorsque la hauteur d'herbe n'excède pas les 15 cm (Delattre P. *et al.*, 1990). Cependant les relevés effectués se sont déroulés de mai à juin, de ce fait, certaines parcelles n'ont pas pu être échantillonnées, la végétation étant trop haute, tandis que d'autres ont pu être sous-estimées.

IV.1.2. Les analyses en laboratoire

Les tests ELISA effectués sur les fèces de renard ne sont pas très spécifiques, ce qui veut dire que certains échantillons détectés comme porteur du parasite sont en fait des faux positifs, le test a tendance à surestimer le nombre d'échantillons positifs. En effet, il donne 77,5 % de faux positifs. Inversement sa sensibilité est très bonne ce qui lui permet d'éliminer les fèces vraiment négatives (Cliquet F., Boué F., communication personnelle).

Pour confirmer la présence du parasite, les positifs ELISA seront ensuite analysés grâce à un test de biologie moléculaire la PCR (Polymerase Chain Reaction). Cette méthode nécessite plusieurs étapes : la flottaison des fèces permettant l'extraction des œufs échinocoques, l'extraction de l'ADN, l'amplification par PCR et la séparation sur gel d'agarose. La PCR est à la fois sensible et spécifique, les seuls inconvénients résident dans le coût et le temps nécessaire à l'analyse.

IV.1.3. L'analyse des données

L'étude qui porte sur les deux populations hôtes : renard et campagnol, a débuté en 2003 par le suivi des populations de renard et le ramassage des fèces. En 2004, est venue se rajouter l'étude des populations de campagnols. Ainsi, il y a un décalage temporel des données récoltées, cependant les populations de renard ont été suivies continuellement et elles sont assez stables. L'analyse de toutes les fèces récoltées, sur plus d'un an, permettra également d'observer ou non une évolution du parasite.

Cette étude a permis d'identifier des zones à risque sur l'agglomération d'Annemasse. Ce sont des secteurs sur lesquels le cycle est maintenu et sur lesquels une activité humaine potentiellement risquée est pratiquée. Toutefois, il est important de signaler que définir ces « zones à risque » ne signifie pas qu'une activité dites à risque (consommation de végétaux crus potentiellement parasités, contact avec les carnivores porteurs) ne soit pas dangereuse ailleurs.
Un aspect, également important et peu connu est la transmission de la maladie par les animaux domestiques. Le chien et le chat sont également porteurs du parasite, le chat est, tout de même, moins sensible que le chien. Ils peuvent donc être infestés et contaminer soit le potager ou directement le maître par les œufs qu'ils transportent sur leur pelage.
Dans tous les cas cette étude s'appuie sur des suppositions quant à la transmission du parasite à l'homme car pour l'instant rien n'a pu être démontré.

IV.2. Perspectives

L'étape de l'identification des zones à risque est partiellement terminée. Il reste à les affiner par :

- principalement, l'analyse de toutes les fèces ramassées, ce qui représente au total plus de 280 fèces urbaines et 264 fèces rurales,
- l'analyse des récents transects effectués cet été,
- et par le suivi des renards encore équipés de collier mais également par le piégeage dans des zones où aucun renard n'a pu être capturé (Ambilly et Ville-la-Grand).

L'étape suivante sera de mettre en place une stratégie de lutte adaptée contre le parasite, et d'évaluer son efficacité.
Différentes méthodes de lutte ont été expérimentées (Gottscheck D., 2002) mais aucune n'a permis d'éradiquer le parasite. Parmi ces méthodes on peut citer :

- les tentatives d'éradication des hôtes porteurs comme le renard, qui ont été un échec. Il est impossible de supprimer une espèce opportuniste telle que le renard que ce soit d'un point de vue pratique, économique et éthique. Les essais menés, dans le cadre de la rage, ont montré que le virus était véhiculé encore plus rapidement d'une zone à l'autre, du fait des mouvements plus importants des populations, sous la pression de la chasse. Les déplacements, liés à la colonisation des zones vides, étaient ainsi amplifiés.

- la gestion des populations de campagnols n'a pas fait l'objet de beaucoup d'essais car très difficile à mettre en place et la régulation chimique à l'aide de la bromadiolone n'est pas écologiquement soutenable (Thonnerieux Y., 2000). Il a été montré que l'augmentation des surfaces en prairies permanentes et la diminution des champs cultivés, des haies et des forêts favorisent les pullulations de rongeurs (Delattre P. *et al*., 1996). Les haies ont un rôle important dans la régulation des populations, notamment en interdisant la connexion entre populations et elles hébergent également de nombreux prédateurs des rongeurs tels que les Mustélidés, les Rapaces ou les Reptiles (Quéré J.P. *et al*., 1991 ; Delattre P. *et al*., 1992), qui eux ne sont pas réceptifs au parasite (Deblock S. *et al*., 1986).

- la vermifugation des carnivores, avec des appâts contenant une molécule active : le praziquantel, permet de déparasiter l'animal mais ne tue pas les œufs échinocoques. Cette méthode a donné de bons résultats sur Zürich (Hegglin D. *et al*., 2003) et montre que la contamination du milieu urbain peut être réduite à un niveau bas par une distribution manuelle et mensuelle d'appâts.

Cependant dans tous les cas, il conviendra de faire une étude du coût de la méthode de lutte choisie et de le comparer à celui engendré par le traitement de la maladie humaine, qui est estimé entre 5 000 et 15 000 euros par patient et par an.

Dans le cas où une méthode de lutte, comme la vermifugation, se mettrait en place, elle pourrait s'appuyer sur les variations saisonnières des taux d'infestation des différents hôtes (figure 25). En effet, la période d'infestation maximale des renards se situerait de novembre à mars (Gilot B. *et al*., 1988). Les œufs échinocoques sont ensuite dispersés, par l'intermédiaire des fèces dans l'environnement. Leur survie étant meilleure en hiver, on peut estimer que l'environnement est le plus contaminé de décembre à juin. Après, une partie des œufs est détruite sous l'effet des conditions estivales, peu propices à leur survie. Les rongeurs entreraient donc en contact avec le parasite durant la saison hivernale (Delattre P. *et al*., 1988). Après la maturation du parasite chez l'hôte intermédiaire (2 à 3 mois, Deblock S. *et al*., 1986), les rongeurs deviennent majoritairement infestants au printemps. Les renards se contaminent alors à cette époque. Après une période de maturation du parasite chez l'hôte définitif (environ 2 mois, Deblock S. *et al*., 1986), les œufs sont de nouveau excrétés dans l'environnement.
C'est au moment où les renards sont les plus parasités qu'on pourrait envisager de distribuer des appâts pour les vermifuger.

Les méthodes actuelles ne permettant pas de se débarrasser du parasite, il apparaît primordial d'informer la population sur la maladie et sur les mesures simples à respecter pour diminuer les risques de contamination telles que :
- vermifuger les animaux domestiques,
- clôturer les potagers,
- cuire les aliments à risque,
- se laver les mains après contact avec le sol ou les animaux potentiellement contaminés.

En effet, la prospection sur le terrain a montré que peu de personnes connaissent vraiment cette maladie rare mais mortelle, alors qu'elles habitent en pleine zone d'endémie.

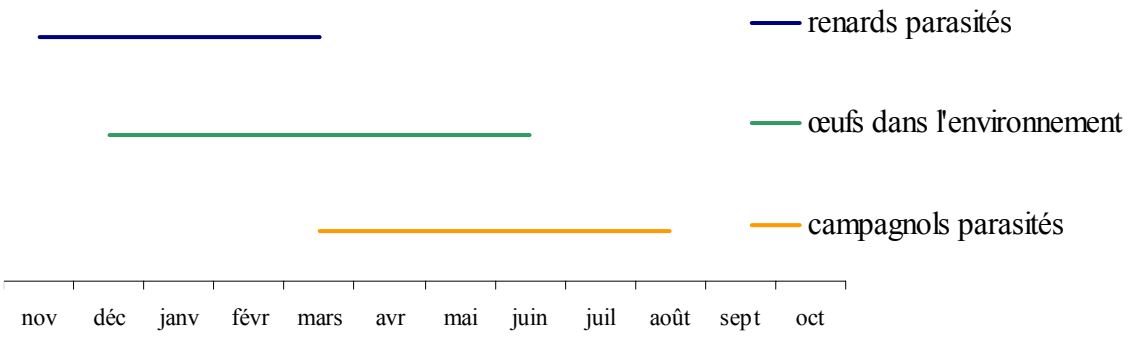


Figure 25 : Représentation schématique de la transmission du parasite au cours d'une année

Conclusion

L'échinococcose alvéolaire est une zoonose d'importance en santé publique. Les mécanismes aboutissant à la contamination humaine sont complexes et posent encore de nombreuses interrogations. Le rôle des animaux domestiques n'est également pas bien identifié. De nombreuses études sont encore en cours pour parvenir à mieux cerner cette maladie (Hansen F. *et al*., 2003). Cependant la présente étude a pu être mise en œuvre en s'appuyant sur les hypothèses communément admises.

Cette étude, sur l'agglomération d'Annemasse a pu mettre en évidence la présence et la répartition des renards sur la zone par un suivi régulier, mais également les foyers de campagnols terrestres et de campagnols des champs. Les deux hôtes vecteurs du parasite sont donc bien présents sur le secteur urbain. Ensuite, l'étude des fèces de renard, par la méthode ELISA, a pu également montrer la présence du parasite (à confirmer par la PCR). Les zones à risque sont déterminées par la superposition des cartes de présence des hôtes, du parasite et des activités humaines.

Finalement, cette étude a permis d'appuyer certaines hypothèses habituellement posées :

- le cycle parasitaire d'*Echinococcus multilocularis*, généralement rural, peut également s'effectuer en milieu urbain,
- le périmètre urbain est moins contaminé que les zones rurales.

D'autres observations, quant à la présence différentielle du parasite selon la saison et la fraîcheur des fèces, restent à confirmer.

Ces zones à risque ont été définies dans le but futur de tester l'efficacité d'un traitement, pour éviter la contamination humaine. Pour l'instant la mise en place d'une méthode de lutte n'est pas prioritaire, mais elle pourrait le devenir si la parasitose se développe de manière inquiétante. Cependant, à l'heure actuelle, il paraît impossible de se débarrasser définitivement du parasite, les œufs sont très résistants et les hôtes sont très divers. Des méthodes de lutte permettent, toutefois, de maintenir un taux de contamination de l'environnement bas. Il faut, tout de même, garder à l'esprit qu'une action locale ne sera pas très efficace et devra être continue dans le temps.

L'idéal serait une combinaison de plusieurs méthodes de lutte menée à grande échelle. Les solutions pour limiter les populations de campagnols sont d'ordre prophylactique et visent le long terme (Le Louarn H. *et al*., 2003):

- maintenir les milieux urbains défavorables aux populations de rongeurs,
- modifier les pratiques agronomiques qui engendrent des explosions démographiques,
- protéger les prédateurs en vue de rétablir des agroécosystèmes en équilibre.

En complément, les carnivores sauvages et domestiques seraient vermifugés selon un calendrier de déparasitage précis.

Dans tous les cas, on peut espérer que les nombreux travaux en cours sur cette zoonose permettront de trouver des traitements efficaces contre la maladie humaine ou des moyens de lutte performants pour éviter la contamination.

Bibliographie

Aubert M., Jacquier P., Artois M., Barrat M.J., Basile A.M., 1987, Le portage d'*Echinococcus multilocularis* par le renard (*Vulpes vulpes*) en Lorraine, *Recueil de Médecine Vétérinaire*, **163**, 839-843.

Bang P., Dahlström P., 1999, Guide des traces d'animaux, Les indices de présence de la faune sauvage, Delachaux et Niestlé, 264 p.

Boucher J.M., Vuitton D., Cliquet F., 2001, Echinococcose alvéolaire : une zoonose en extension, *Le Point Vétérinaire*, **220**, 46-49.

Craig .S., Giraudoux P., Shi D., Bartholomot B., Barnish G., Delattre P., Quéré J.P., Harraga S., *et al*., 2000, An epidemiological and ecological study of human alveolar echinococcosis transmission in south Gansu, China, *Acta Tropica*, **77**, 167-177.

Deblock S., Pétavy A.F., Gilot B., Duriez T., 1986, Epidémiologie de l'échinococcose alvéolaire en France, *Symbioses*, **18**, n°1, 19-43.

Delattre P., Pascal M., Damange J.P., 1985, Vers une stratégie d'étude épidémiologique de l'échinococcose alvéolaire, A propos de cas d'infestation observés chez *Microtus arvalis* P. dans le Doubs, *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, **60**, n°4, 386-405.

Delattre P., Pascal M., Le Pesteur M.H., Giraudoux P., Damange J.P., 1988, Caractéristiques écologiques et épidémiologiques de l'*Echinococcus multilocularis* au cours du cycle complet des populations d'un hôte intermédiaire (*Microtus arvalis*), *Canadian Journal of Zoology*, 66, n°12, 2740-2750.

Delattre P., Giraudoux P., Damange J.P., Quéré J.P., 1990, Recherche d'un indicateur de la cinétique démographique des populations du campagnol des champs (*Microtus arvalis*), *Rev. Ecol. (Terre Vie)*, **45**, 375-384.

Delattre P., Giraudoux P., Pascal M., 1991, L'échinococcose alvéolaire, *La Recherche*, vol.**22**, n°230, 294-303.

Delattre P., Giraudoux P., Baudry J., Musard P., Toussaint M., Truchetet D., Stahl P., Lazarine Poule M., Artois M., Damange J.P., Quéré J.P., 1992, Land use patterns and types of common vole (*Microtus arvalis*) population kinetics, *Agriculture, Ecosystems and Environment*, **39**, 153-169.

Delattre P., Giraudoux P., Baudry J., Quéré J.P., Fichet E., 1996, Effect of landscape structure on Common Vole (*Microtus arvalis*) distribution and abundance at several space scales, *Landscape Ecology*, **11**, 279-288.

Deplazes P., Hegglin D., Gloor S., Romig T., in press, Wilderness in the city : urbanization of *Echinococcus multilocularis*, *Parasitology*.

Deplazes P., Gloor S., Stieger C., Hegglin D., 2002, Urban transmission of *Echinococcus multilocularis*, *IOS Press*, 287-297.

Eckert J., Deplazes P., 1999, Alveolar Echinococcosis in Humans : the current situation in central Europe and the need for countermeasures, *Parasitology Today*, vol.**15**, n°8, 315-319.

Eckert J., Conraths F.J., Tackmann K., 2000, Echinococcosis: an emerging or re-emerging zoonosis ?, *International Journal for Parasitology*, **30**, 1283-1294.

Eckert J., 2003, Predictive values and quality control of techniques for the diagnosis of *Echinococcus multilocularis* in definitive hosts, *Acta Tropica*, **85**, 157-163.

Gilot B., Doche B., Deblock S., Pétavy A.F., 1988, Eléments pour la cartographie écologique de l'échinococcose alvéolaire dans le Massif central (France) : essai de délimitation d'un foyer, *Canadian Journal of Zoology*, **66**, 696-702.

Giraudoux P., Pradier B., Delattre P., Deblay S., Salvi D., Defaut R., 1995, Estimation of water vole abundance by using surface indices, *Acta Theriologica*, **40** (1), 77-96.

Giraudoux P., Raoul F., Bardonnet K., Vuillaume P., Tourneux F., Cliquet F., Delattre P., Vuitton D.A., 2001, Alveolar echinococcosis : characteristics of a possible emergence and new perspectives in epidemiosurveillance, *Méd. Mal. Infect.*, **31**, 247-256.

Gottscheck D., 2002, Echinococcose alvéolaire : recherche et propositions de moyens de contrôle sur le terrain, Mémoire d'ingénieur, Ecole Supérieure d'Ingénieurs et de Techniciens Pour l'Agriculture de Rouen, 56 p.

Hansen F., Jeltsch F., Tackmann K., Staubach C., Thulke H.H., 2004, Processes leading to a spatial aggregation of *Echinococcus multilocularis* in its natural intermediate host *Microtus arvalis*, *International Journal for Parasitology*, **34**, 37-44.

Harris S., 1981, An estimation of the number of foxes (*Vulpes vulpes*) in the city of Bristol, and some possible factors affecting their distribution, *Journal of Applied Ecology*, **18**, 455-465.

Hegglin D., Ward P.I., Deplazes P., 2003, Anthelmintic baiting of foxes against urban contamination with *Echinococcus multilocularis*, *Emerging Infectious Diseases*, vol.**9**, n°10.

Hofer S., Gloor S., Müller U., Mathis A., Hegglin D., Deplazes P., 2000, High prevalence of *Echinococcus multilocularis* in urban red foxes (*Vulpes vulpes*) and voles (*Arvicola terrestris*) in the city of Zürich, Switzerland, *Parasitology*, **120**, 135-142.

Kern P., Bardonnet K., Renner E., Auer H., Pawlowski Z., Ammann R.W., Vuitton D.A., Kern P., and the European Echinococcosis Registry, 2003, European echinococcosis registry : human alveolar echinococcosis, Europe 1982-2000, *Emerging Infectious Diseases*, vol.**9**, n°3.

Laforge M.L., Gilot B., Doche B., Deblock., Pétavy A.F., 1992, Urbanisation et populations de microtides dans le foyer Haut-Savoyard d'échinococcose alvéolaire (Alpes françaises du Nord) : l'exemple de La-Roche-sur-Foron, *Revue suisse Zool.*, **99**, 377-394.

Le Louarn H., Quéré J.P., 2003, Les Rongeurs de France, Faunistique et biologie, 2ème édition revue et augmentée, INRA éditions, 249 p.

Lucius R., Bilger B., 1995, *Echinococcus multilocularis* in Germany : Increased Awareness or Spreading of a Parasite, *Parasitology Today*, vol. **11**, n°11, 430-434.

Meia J.S., 2003, Le renard, Delachaux et Niestlé, 180 p.

Meylan A., 1977, Le campagnol terrestre, *Arvicola terrestris* (L.) : biologie de la forme fouisseuse et méthodes de lutte, *Revue Suisse d'Agriculture*, **8** (4), 178-187.

Morishima Y., Tsukada H., Nonaka N., Oku Y., Kamiya M., 1999, Coproantigen survey for *Echinococcus multilocularis* prevalence of red foxes in Hokkaido, Japan, *Parasitology International*, **48**, 121-134.

Pascal M., 1981, Résultats préliminaires de l'étude de la biologie du campagnol terrestre (*Arvicola terrestris*) dans le Doubs, *La Défense des Végétaux*, **208**, 121-134.

Pascal M., 1987, Etudes menées de 1978 à 1987 sur la forme fouisseuse du campagnol terrestre (*Arvicola terrestris Scherman*), *La Défense des Végétaux*, **248**, 1-8.

Pesson B., Carbiener R., 1989, Ecologie de l'échinococcose alvéolaire en Alsace : le parasitisme du renard roux (*Vulpes vulpes*), *Bulletin d'écologie*, vol. **20**, n°4, 295-301.

Pétavy A.F., Deblock S., 1983, Connaissance du foyer auvergnat d'échinococcose alvéolaire, Recherche de l'hôte intermédiaire, description des lésions, *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, **58**, n°5, 439-453.

Pétavy A.F., Tenora F., Deblock S., Sergent V., 1999, *Echinococcus multilocularis* in domestic cats in France : a potentiel risk factor for alveolar hydatid disease contamination in humans, *Veterinary Parasitology*, **87**, 151-156.

Quéré J.P., Delattre P., Toussaint M., Musard P., 1991, Le campagnol des champs, *Bulletin technique d'information* mai-juin 1991, ministère de l'agriculture et de la forêt, 17-26.

Quéré J.P., Raoul F., Giraudoux P., Delattre P., 2000, An index method of estimating relative population densities of the common vole (*Microtus arvalis*) at landscape scale, *Rev. Ecol. (Terre Vie)*, **55**, 25-32.

Raoul F., Michelat D., Ordinaire M., Décoté Y., Aubert M., Delattre P., Deplazes P., Giraudoux P., 2003, *Echinococcus multilocularis* : secondary poisoning of fox population during a vole outbreak reduces environmental contamination in a high endemicity area, *International Journal for Parasitology*, **33**, 945-954.

Raoul F., 2001, Ecologie de la transmission d'*Echinococcus multilocularis* chez le renard dans l'Est de la France : dépendance au paysage et à la relation proie-prédateur ?, Thèse de Doctorat, Université de Franche-Comté, 164 p.

Sigaud F., 2003, L'échinococcose alvéolaire en milieu urbain : définition d'une stratégie d'étude au travers de l'exemple de l'agglomération d'Annemasse, Thèse pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire, Université Claude Bernard Lyon I, 107 p.

Sréter T., Széll Z., Egyed Z., Varga I., 2003, *Echinococcus multilocularis* : an emerging pathogen in Hungary and central eastern Europe, *Emerging Infectious Diseases*, vol.**9**, n°3.

Stieger C., Hegglin D., Schwarzenbach G., Mathis A., Deplazes P., 2002, Spatial and temporal aspects of urban transmission of *Echinococcus multilocularis*, *Parasitology*, **124**, 631-640.

Thonnerieux Y., 2000, Atmosphère empoisonnée sur le thème de la bromadiolone, *Le Courrier de la Nature*, **184**, 24-29.

Viel J.F., Giraudoux P., Abrial V., Bresson-Hadni S., 1999, Water Vole (*Arvicola terrestris Scherman*) density as risk factor for human alveolar echinococcosis, *The American Society of Tropical Medecine and Hygiene*, **61** (4), 559-565.

Site Internet consulté

Site du registre européen de l'échinococcose alvéolaire, Bresson-Hadni S., Kern P., Romig T., Vuitton D.
www.eurechinoreg.org

Liste des figures

Figure 1 : Forme adulte d'*Echinococcus multilocularis*
Figure 2 : Œuf échinocoque, taille réelle 20 µm
Figure 3 : Le cycle parasitaire d'*Echinococcus multilocularis*
Figure 4 : La zone d'étude
Figure 5 : Vieux terrier non utilisé
Figure 6 : Matériel de suivi des renards : antenne, récepteur et collier émetteur
Figure 7 : Tumulus de terre de campagnol terrestre (*Arvicola terrestris*)
Figure 8 : Galerie de campagnol des champs (*Microtus arvalis*)
Figure 9 : Fèces de renard
Figure 10 : Evolution de la surface du domaine de Rainman en fonction du nombre de localisations
Figure 11 : Evolution de la surface du domaine de Manu en fonction du nombre de localisations
Figure 12 : Evolution de la surface du domaine de Gilbert en fonction du nombre de localisations
Figure 13 : Evolution de la surface du domaine de Rosy en fonction du nombre de localisations
Figure 14 : Evolution de la surface du domaine de la Flèche en fonction du nombre de localisations
Figures 15 et 16 : Evolution de la surface du domaine du Galeux et de Corlie en fonction du nombre de localisations
Figure 17 : Répartition des deux campagnols selon le milieu
Figure 18 : Localisation des zones fréquentées par les renards
Figure 19 : Courbes de tendance de la répartition des campagnols
Figure 20 : Variogrammes
Figure 21 : Estimation cartographique des zones de présence des campagnols
Figure 22 : Localisation du parasite dans les fèces analysées
Figure 23 : Cartographie des zones à risque
Figure 24 : Morphologie des zones à risque
Figure 25 : Représentation schématique de la transmission du parasite au cours d'une année

Liste des tableaux

Tableau I : comparaison des fréquences des deux espèces de campagnol
Tableau II : comparaison des fréquences d'*Arvicola terrestris* en fonction du milieu
Tableau III : comparaison des fréquences de *Microtus arvalis* en fonction du milieu
Tableau IV : répartition du parasite dans les fèces urbaines et rurales

Annexes

Annexe 1 : Fiche utilisée pour les transects campagnols

Annexe 2 : Fiche de ramassage des fèces de renard

Annexe 3 : Localisation des dix placettes de 16 km² chacune

Annexe 4 : Mode opératoire ECHINOTEST (Bommeli DIAGNOSTICS)

Annexe 5 : Cartes d'identité de tous les renards capturés

Annexe 6 : Représentation des transects effectués

Annexe 7 : Variance des estimations issue du krigeage

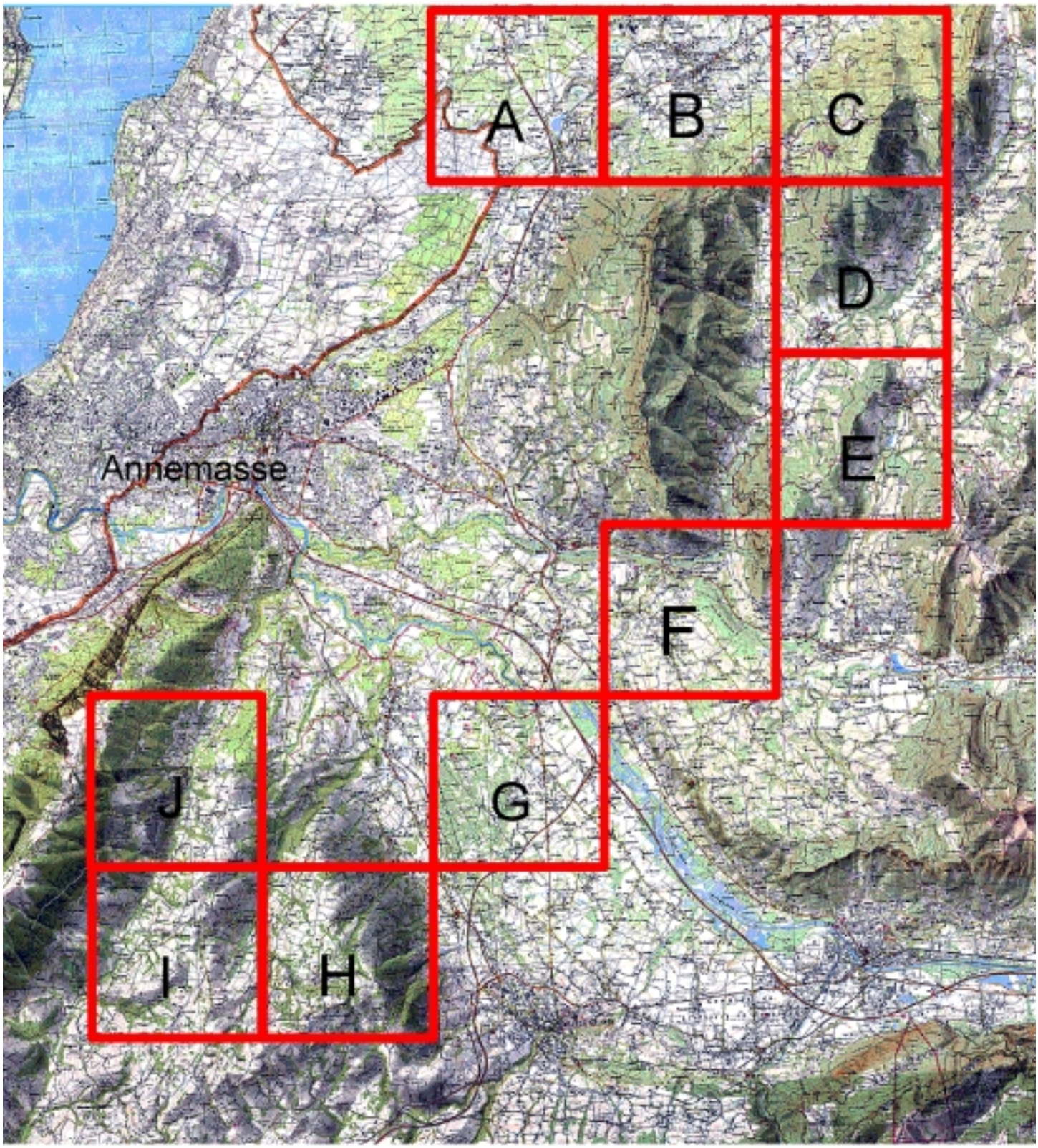
Annexe 1 : Fiche utilisée pour les transects campagnols

(Raoul F. communication personnelle)

Annexe 2 : Fiche de ramassage des fèces de renard

N°	DATE	COMMUNE	HABITAT	STRUCTURE	FRAIS	UTM*1000		REM
						X	Y	

Annexe 3 : Localisation des dix placettes de 16 km² chacune



N

0 2 Kilomètres

Annexe 4 : Mode opératoire ECHINOTEST

BOMMELI DIAGNOSTICS

1. Préparation des échantillons de selles

Diluer les échantillons de selles avec la solution de dilution des échantillons : **1 g** de fèces pour **3 ml** de solution.
Homogénéiser la suspension. Centrifuger les échantillons durant **10 min** à **3 000 g** et prélever le surnageant.

2. Incubation des échantillons et des contrôles

Distribuer **90 µl** de solution de dilution des échantillon dans chaque cupule.
Ajouter **10 µl** d'échantillons et les témoins positif/négatif.
Incuber pendant **90 minutes** en chambre humide à température ambiante.

3. Lavage de la microplaque

Après l'incubation, la microplaque est lavée **six fois** avec la solution de lavage et de dilution CHEKIT.

4. Incubation du conjugué CHEKIT-Anti-Echinococcus

Distribuer **100 µl** de conjugué CHEKIT-Anti-Echinococcus dans chaque cupule.
Incuber la microplaque pendant **90 min** en chambre humide à température ambiante.

5. Lavage de la microplaque (voir 3.)

6. Distribution du substrat CHEKIT-TMB

Distribuer dans chaque cupule **100 µl** de solution de substrat CHEKIT-TMB.
Incuber à température ambiante durant **15 minutes**.

7. Lecture des résultats

Ajouter dans chaque cupule **100 µl** de solution d'arrêt CHEKIT-TMB.
L'ajout de la solution d'arrêt dans les cupules conduit à un changement de couleur du substrat de bleu à jaune.
Les résultats des réactions colorimétriques sont lus sur un spectrophotomètre à une longueur d'onde de **450 nm**.
Pour la validation de la manipulation la densité optique (DO) du témoin négatif ne devrait pas dépasser 0,6. La DO du témoin positif ne devrait pas dépasser 2. La différence entre la DO du témoin positif et négatif doit être supérieure ou égale à 0,3.

Annexe 5 : Cartes d'identité de tous les renards capturés

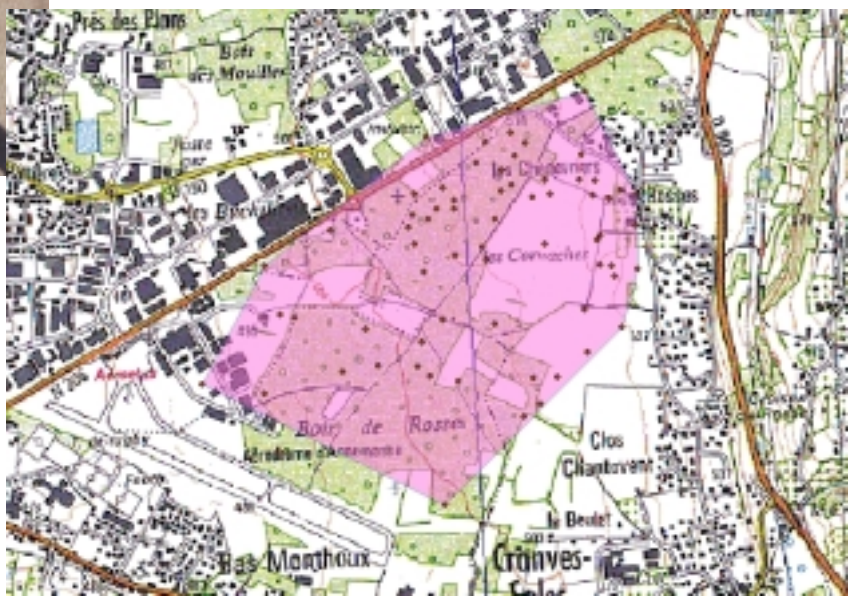
Nom	**RAINMAN**			**Numéro de capture**	1	
Fréquence d'émission	…….		Collier	Bande réfléchissante blanche		
Boucle	**Couleur**	orange	**Numéro**	200	Oreille	D
Sexe	M		**Poids**	7,5 kg		
Capture	Date	30/04/2003	Site	Crest de Vaux	Piégeur	Morand
Remarques	Vieux ; Pelage raréfié ; dents usées					

Domaine de vie de Rainman : 1,68 km²

Nom	**LA CRUEE**			**Numéro de capture**	2	
Fréquence d'émission	…….		Collier	Collier pour juvénile prêté par C. Fisher		
Boucle	**Couleur**	Rouge	**Numéro**	101	Oreille	G
Sexe	F		**Poids**	2,5 kg		
Capture	Date	12/05/2003	Site	Rosses	Piégeur	Petit
Remarques	Disparue une semaine après sa capture					

Lieu de piégeage de la Cruée (point rouge)

Nom	**ROSY**			**Numéro de capture**	3	
Fréquence d'émission	…….		Collier	Bande réfléchissante orange		
Boucle	**Couleur**	Rouge	**Numéro**	102	Oreille	G
Sexe	F		**Poids**	5,5 kg		
Capture	Date	16/05/2003	Site	Rosses	Piégeur	Petit
Remarques	Allaitante Morte le 17/02/2004, empoisonnée					



Domaine de vie de Rosy : 1,25 km²

Nom	**GILBERT**				**Numéro de capture**	4
Fréquence d'émission	…….		Collier	Bandes blanches et oranges		
Boucle	**Couleur**	Orange	**Numéro**	176	Oreille	D
Sexe	M		**Poids**	6,250 kg		
Capture	Date	22/05/2003	Site	La Bergue	Piégeur	J.P. Petit
Remarques	Cicatrices à la lèvre supérieure et aux oreilles Mort le 17/04/2004, tué par un chasseur					

Domaine de vie de Gilbert : 1,45 km²

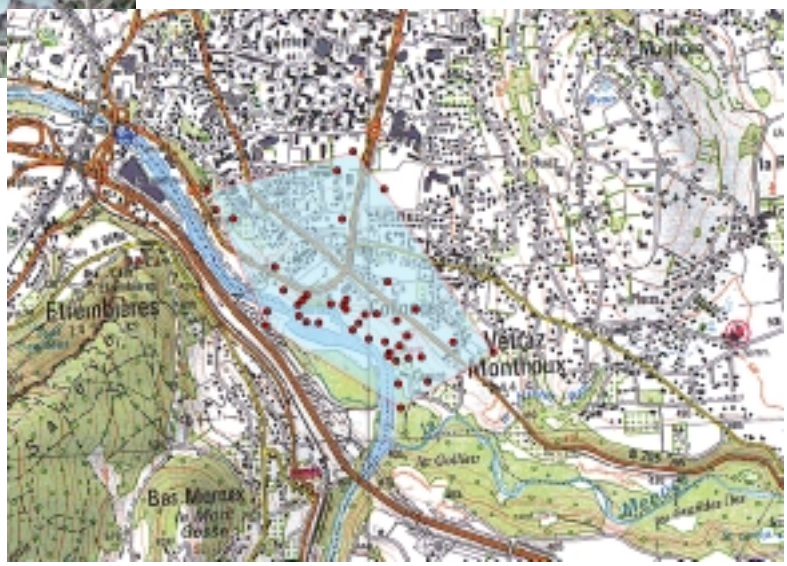
Nom	**MANU**				**Numéro de capture**	5
Fréquence d'émission	…….		Collier	Bande réfléchissante orange		
Boucle	**Couleur**	Orange	**Numéro**	199	Oreille	D
Sexe	M		**Poids**	5,5 kg		
Capture	Date	23/05/2003	Site	Pisciculture	Piégeur	Morand
Remarques	Queue coupée ; plaie oreille D Mort le 14/01/2004, d'une collision avec une voiture					

Domaine de vie de Manu : 0,74 km²

Nom	**LE GALEUX**				**Numéro de capture**	6
Fréquence d'émission	…….		Collier	Ancien collier Rosy		
Boucle	**Couleur**	0	**Numéro**	0	Oreille	0
Sexe	M		**Poids**	5 kg		
Capture	Date	18/02/2004	Site	Crêt	Piégeur	J.P. PETIT
Remarques	Renard galeux Mort le 25/03/2004 de la gale					

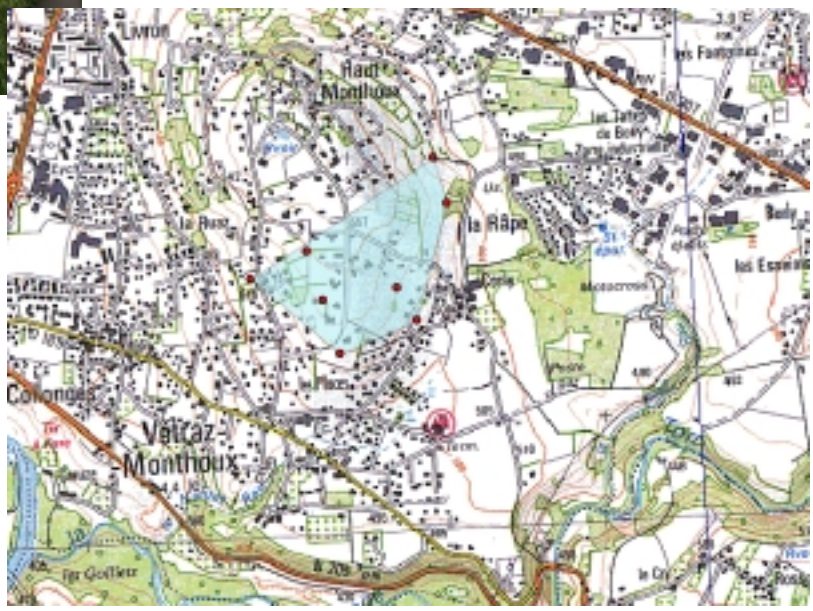
Domaine de vie du Galeux : 0,38 km²

Nom	**FLECHE**			**Numéro de capture**	7	
Fréquence d'émission	…….		Collier	Aucune bande		
Boucle	**Couleur**	rouge	**Numéro**	126	Oreille	gauche
Sexe	F		**Poids**	5,90 kg		
Capture	Date	19/02/2004	Site	Tir à l'Arc Vetraz-Monthoux	Piégeur	J.P. Petit
Remarques	Bon état de santé. Animal pris au rein : pas de blessure					



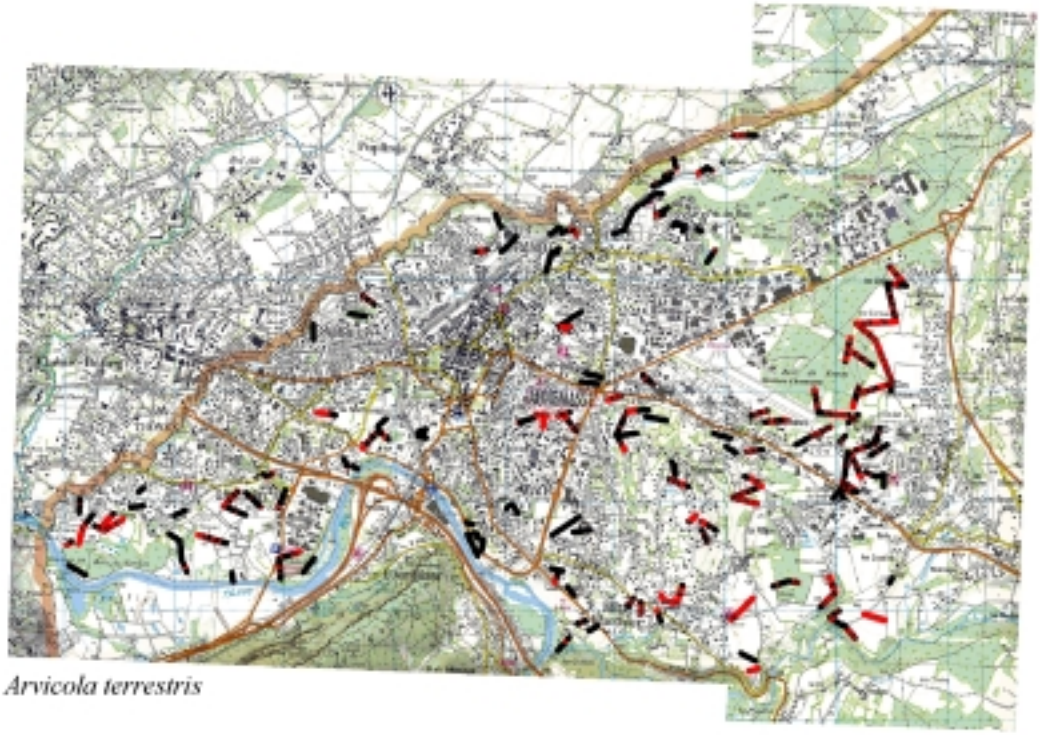
Domaine de vie de la Flèche : 0,84 km²

Nom	**CORLIE**				**Numéro de capture**	8
Fréquence d'émission	…….		Collier	Aucune bande		
Boucle	**Couleur**	rouge	**Numéro**	129	Oreille	gauche
Sexe	F		**Poids**	5,5 kg		
Capture	Date	22/06/2004	Site	Corly	Piégeur	J.P. Petit
Remarques	Un peu galeuse, allaitante Retrouvée morte le 27/07/2004					



Domaine de Corlie : 0,30 km²

Annexe 6 : Représentation des transects effectués



Arvicola terrestris

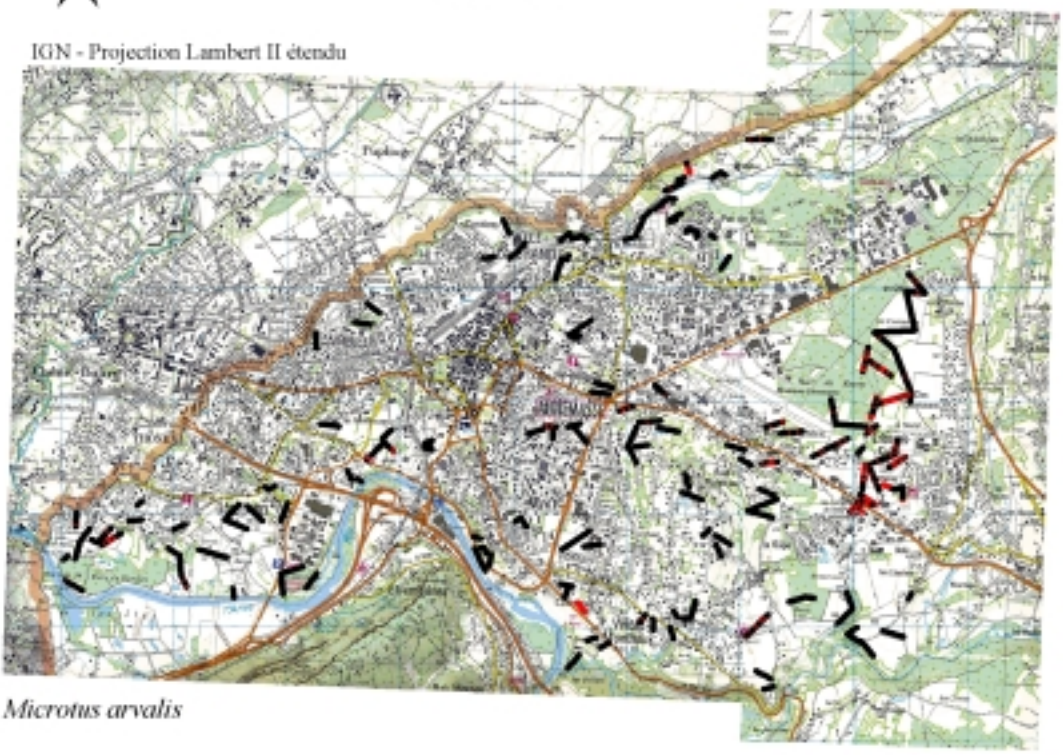
Légende

- absence
- présence

N

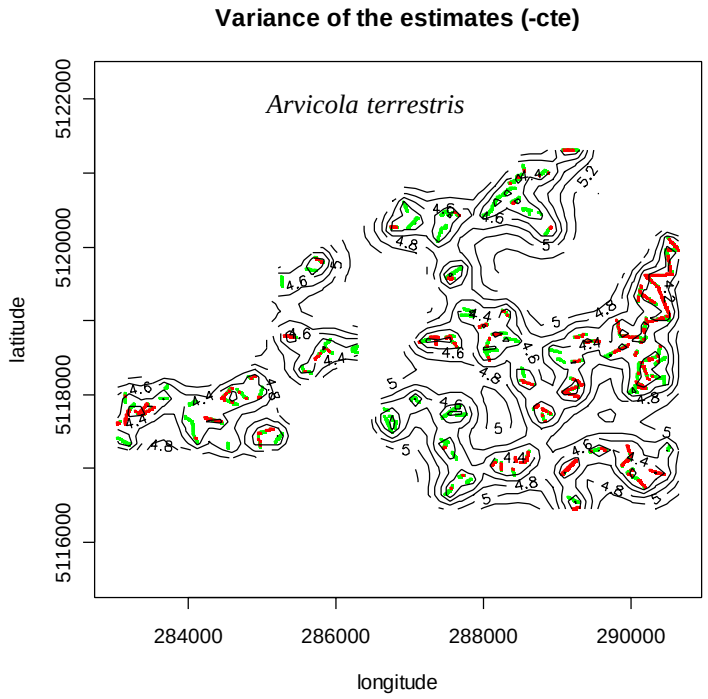
0 500 1 000 Mètres

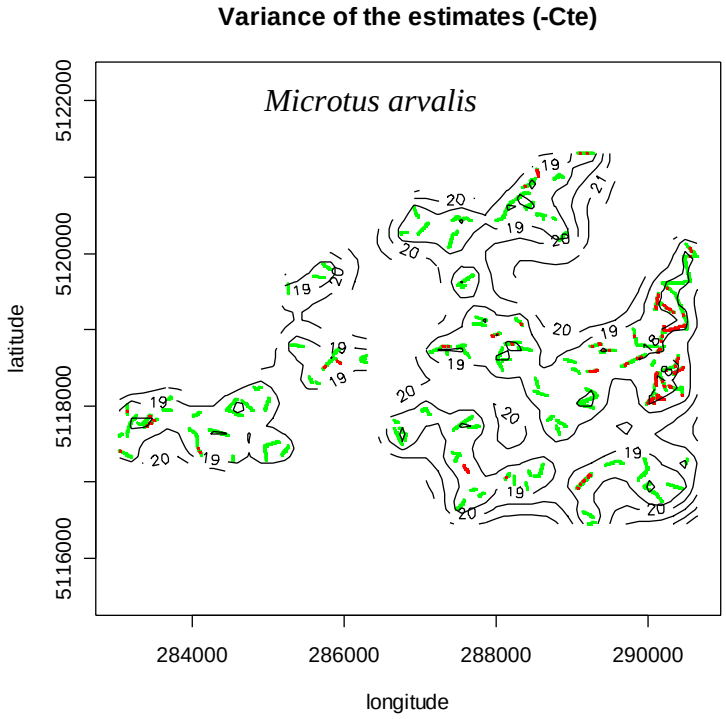
IGN - Projection Lambert II étendu



Microtus arvalis

Annexe 7 : Variance des estimations issues du krigeage





Cadre réservé à la Bibliothèque Centrale

Spécialisation : Génie de l'Environnement
Option : Préservation et aménagement des milieux naturels – Ecologie Quantitative

Enseignant Responsable de l'option :
M. Didier Le Coeur

Auteur : Claire Boyer

Organisme d'accueil : Entente interdépartementale de lutte contre la Rage et les autres Zoonoses (ERZ)
Adresse : Domaine de Pixérécourt / BP 43 / 54220 Malzéville
Responsable scientifique (maître de stage) : Benoît Combes / Déborah Gottscheck
Enseignant responsable du stage : Yannick Outreman

47 pages, 7 annexes
Année de soutenance : 2004

Titre : Identification des zones à risque de contamination humaine par *Echinococcus mulilocularis*, par l'étude des hôtes porteurs : renards roux (*Vulpes vulpes*) et campagnols des champs et terrestre (*Microtus arvalis* et *Arvicola terrestris)*

Résumé : L'échinococcose alvéolaire est une maladie rare mais mortelle. L'agent responsable, *Echinococcus multilocularis*, est un ténia parasite qui effectue son cycle entre les Carnivores et les Rongeurs. Les zones d'endémie montrent une extension et les conséquences sur la santé humaines inquiètent. Principalement présent en zone rurale, le parasite se développe aussi dans les milieux urbains.
Cette étude s'attache donc à identifier des zones à risque de contamination humaine sur l'agglomération d'Annemasse (Haute-Savoie). Pour cela, les hôtes et le parasite sont étudiés. Le principal hôte définitif est le renard roux (*Vulpes vulpes*), son domaine de vie, sur la zone d'étude, est établi par un suivi télémétrique. Les hôtes intermédiaires étudiés sont le campagnol des champs (*Microtus arvalis*) et le campagnol terrestre (*Arvicola terrestris*). Leur population est échantillonnée à l'aide d'une méthode d'estimation indiciaire. Le parasite est recherché dans les fèces de renard à l'aide d'un test ELISA : Chekit-Echinotest (Bommeli Diagnostics). L'étude a permis de suivre 7 renards et d'identifier une partie de leur domaine de vie. Les foyers de campagnols ont également pu être cartographiés. Le parasite a été trouvé dans 29 % des fèces (28/93). A partir de ces résultats, une première cartographie des zones à risque a pu être proposée, en lien avec les activités humaines sur l'agglomération.
Si les cas humains augmentent de manière inquiétante, ces zones à risque seront un support pour tester et mettre en place des méthodes de lutte appropriées au milieu urbain.

Abstract : Alveolar echinococcosis is a rare but very dangerous infectious disease. It is caused by metacestodes of the taeniid cestode *Echinococcus multilocularis*. The cycle involves carnivores and rodents. The parasite is actually much more wide-spread than previously thought and has become a matter of intense interest. *E. multilocularis* is typically perpetuated in a wild-life cycle, in addition, an urban cycle exists.
This paper tries to identify risk areas in Annemasse (Haute-Savoie). Definitive and intermediate hosts and *E. multilocularis* are studied. Red fox (*Vulpes vulpes*) population was observed by radiotracking. *Arvicola terrestris* and *Microtus arvalis* abundance was monitored using index methods. The infection level of the fox population was estimated using a coproantigen ELISA, performed on faeces collected. 7 foxes were observed by radiotracking. The vole population was cartographied. The prevalence of E. multilocularis in faeces was 29 % (28/93). With these results, a cartography of the risk zones was proposed, in relation with human activities.
If alveolar echinococcosis increased, interventions into the cycle aiming at reducing the infection pressure should therefore be driven on these areas.

Mots clés : *Echinococcus multilocularis*, *Vulpes vulpes*, *Microtus arvalis*, *Arvicola terrestris*, milieu urbain, Annemasse

Diffusion
non limitée

Je soussignée, Claire Boyer, propriétaire des droits de reproduction du résumé du présent document, autorise toutes les sources bibliographiques à signaler et publier ce résumé.
Date 13/09/2004 Signature

Diffusion du mémoire

Préciser les limites de la confidentialité (1) :

Confidentialité absolue : non

Résumé diffusable : oui

Consultation : ❑ sur place ❑ reproduction ❑ prêt

durée de la confidentialité :

Personne et/ou organisme à contacter :

Nom : Benoît COMBES ou Déborah GOTTSCHECK

Adresse : Entente interdépartementale de lutte contre la Rage et les autres Zoonoses (ERZ)

Domaine de Pixérécourt / BP 43 / 54220 MALZEVILLE

Tél. : 03 83 29 07 79 fax : 03 83 20 93 28

Le Responsable Scientifique : L'auteur

Les membres du Jury :

Anne LE RALEC, Président du jury, Agrocampus Rennes
Benoît COMBES, Maître de stage, Directeur de l'ERZ
Yannick OUTREMAN, Enseignant responsable du stage, Agrocampus Rennes
Alain BUTET, Membre du jury, Université de Rennes 1

(1) L'administration et les différents documentations de l'ENSAR s'engagent à respecter cette éventuelle confidentialité.