

**UNIVERSITE DE FRANCHE-COMTE
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DE BESANCON**

Année : 2004 - N°

THESE

Pour obtenir le grade de

**DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE FRANCHE-COMTE,
EN SCIENCES DE LA VIE ET DE LA SANTE**

Discipline: Santé Publique

Eco-épidémiologie et socio-économie de la santé

Présentée et soutenue publiquement le 11 mars 2004

WANG Qian

Né le 25 Août 1967 à Nanchong, Sichuan, RP de Chine

**Aspects socio-économiques et éco-épidémiologiques de
l'échinococcose alvéolaire dans les communautés pastorales
tibétaines en république populaire de Chine.**

Membres du Jury:

Mr Pierre Delattre
Mr Philip S. Craig
Mme Mariette Mercier
Mr Paul Torgerson
Mr Patrick Giraudoux
Mme Dominique-Angèle Vuitton

Directeur de recherche, INRA-Université de Montpellier II, Rapporteur
Professeur à l'Université de Salford, United Kingdom, Examineur
Professeur à l'Université de Franche-Comté, Examineur
Oberassistent à l'Université de Zurich, Suisse, Examineur
Professeur à l'Université de Franche-Comté, co-directeur; examinateur
Professeur à l'Université de Franche-Comté, Directeur de thèse

Table of Contents

Acknowledgements	7
Personal publications on this subject	9
Résumé	11
Summary	21
Introduction	29

Chapter 1. Geographic, demographic, climatic, socio-economical and behavioral particularities of Sichuan Province, PR China, and their relationship with the epidemiology of alveolar echinococcosis (AE) 49

1.1 Geography, demography and climate of Tibetan region, Sichuan province, PR China	49
1.2 Socio-economical and behavioral characteristics of the Tibetan communities	55
1.3 PUBLICATION: Risk factors of human AE transmission in the Tibetan communities	63

Chapter 2 History and current management of grazing practices 93

2.1 Definition of overgrazing and origin of overgrazing	93
2.2 Property rights and grazing practices: history and current aspects	102

2.3 Socio-economical correlates of overgrazing	106
--	-----

Chapter 3. Grazing practice as a potential risk factor for

<i>E.multilocularis</i> transmission	111
---	------------

3.1 Interaction between grazing practice and small mammal populations around the world	111
--	-----

3.2 Interaction between grazing practice and small mammal populations in China	116
--	-----

3.3 PUBLICATION: Fenced pasture: a possible risk factor for human alveolar echinococcosis in Tibetan pastoral communities of Sichuan	123
--	-----

3.4 PUBLICATION: Socio-economical and eco-epidemiological correlates of alveolar <i>E.multilocularis</i> emergence in Tibetan pastoralist communities	125
---	-----

Chapter 4. General discussion

4.1 Summary of the results	155
----------------------------	-----

4.2 Evaluation and/or measurement of overgrazing: difficulties and debates	158
--	-----

4.3 Small mammal communities and their role as reservoir of <i>E. multilocularis</i>	159
--	-----

4.4 Environmental, intrinsic and behavioral factors for AE transmission	163
---	-----

4.5 Open questions	184
4.6 Conclusion and prospective	186
References	191
Annex	

Résumé

Aspects socio-économiques et éco-épidémiologiques de l'échinococcose alvéolaire dans les communautés pastorales tibétaines en république populaire de Chine.

L'échinococcose alvéolaire (EA) est une zoonose importante, endémique dans l'hémisphère nord, en particulier dans plusieurs régions de l'ouest et du centre de l'Europe, la plupart des pays d'Asie centrale et orientale et quelques zones d'Amérique du Nord. Le métacestode d'*Echinococcus multilocularis* est l'agent pathogène de l'EA. Plusieurs espèces de petits mammifères sont les hôtes intermédiaires, hébergeant le métacestode (larve parasite), alors que des carnivores, tout particulièrement le renard, mais aussi le chien, servent d'hôte définitif au parasite et contaminent l'environnement par les œufs (oncosphères) infectants présents dans leurs fèces. Le foie est l'organe primitivement et majoritairement envahi par la larve parasite; des métastases sont également observées, en général à un stade évolué de la maladie, et peuvent être localisées dans n'importe quel organe ou tissu de l'hôte.

En RP de Chine, l'EA est un problème majeur de santé publique. Des patients atteints d'EA ont été recensés dans 8 Provinces et Régions Autonomes chinoises, la plupart étant dans les zones les moins développées des provinces du Heilongjiang, Gansu, Qinghai, et Sichuan, et des régions autonomes de Mongolie Intérieure et du Tibet, Hui du Ningxia et Ouigoure du Xinjiang. Dans la Province du Sichuan, l'EA est endémique dans les populations Tibétaines qui résident principalement à l'ouest de la

Province, sur les contreforts des hauts-plateaux tibétains. Environ 2 millions de Tibétains vivent dans la préfecture autonome tibétaine du Ganzi et la préfecture autonome tibétaine et Qiang d'Aba. Ces régions sont à une altitude d'environ 3500 mètres en moyenne, composées de hauts plateaux, de pâturages alpins et de vallées. Le climat, continental, est dominé par l'influence de la mousson. Les principales sources de revenu dans ces régions sont représentées par l'élevage, dans les communautés pastorales transhumantes, et l'agriculture, en particulier la culture de l'orge, dans les communautés agricoles rurales.

Dans la Province du Sichuan, les dépistages de masse dans les communautés en majorité tibétaines ont montré des prévalences pouvant atteindre 15 % (15/80) dans un village d'éleveurs, la prévalence moyenne étant de 1.9% (77/3998). Dans les communautés pastorales, la prévalence de la maladie évaluée par deux campagnes de dépistage de masse étaient respectivement de 5, 45% (44/809) et de 8,5% (60/705).

Des prévalences d'infection de 18% (prévalence estimée à partir d'une étude par purge à l'arécoline chez 371 chiens), 9.1% (4/44), et 44.4% (76/171) respectivement ont été trouvées chez les chiens appartenant aux familles, les chiens errants, et les renards tibétains. Des taux d'infection de 5.6% (13/233), 7.1% (1/14) et 25% (3/12) respectivement ont également été trouvés chez de petits lagomorphes de l'espèce *Ochotona curzoniae*, chez des lièvres de l'espèce *Lepus oiostolus*, et chez des rongeurs de l'espèce *Pitymis irene*. De nombreuses études ont été consacrées aux facteurs environnementaux, socio-économiques et comportementaux mettant les populations à risque d'être infecté par ce parasite. Cependant, peu de recherches ont

abordé les facteurs socio-économiques et comportementaux contribuant à la transmission de l'EA dans les communautés Tibétaines.

Par comparaison avec les pays européens, où les renards sont considérés comme les sources majeures d'infection pour la transmission de l'EA à l'homme, les chiens semblent en Chine être les acteurs principaux de la contamination. Dans les communautés tibétaines, de nombreux facteurs socioéconomiques et comportementaux peuvent contribuer à favoriser l'interaction entre le chien et l'homme. Ces facteurs incluent l'élevage des bovins (yaks), des moutons et des chèvres, la religion bouddhique tibétaine, le nomadisme (ou la transhumance), le niveau général d'hygiène dans les communautés, vivant sous tente et itinérantes, et l'hygiène personnelle. Par ailleurs, il a été montré en Europe, et en particulier en France, et dans la province du Gansu et la région autonome Hui du Ningxia, en Chine, que des modifications paysagères pouvaient représenter un risque majeur d'intensification du fonctionnement du cycle parasitaire, et donc de la contamination potentielle humaine. Un certain type de paysage, par exemple les surfaces toujours en herbe (pâtures permanentes) ou les friches, est susceptible de promouvoir des cycles de pullulation de petits mammifères et donc d'augmenter le réservoir de parasites par augmentation du nombre des hôtes intermédiaires. Des études ont suggéré que le surpâturage pouvait être à l'origine de pullulations de petits mammifères dans les régions d'élevage du plateau tibétain, au Sichuan et au Qinghai. A l'occasion du travail de terrain réalisé dans les communautés pastorales tibétaines endémiques pour l'EA, nous avons fait l'hypothèse que le surpâturage, très dépendant du contexte

socio-économique, pouvait être un des facteurs de modifications paysagères susceptibles de favoriser la transmission d'*E. multilocularis*, et que des changements récents dans la propriété du sol, amenant en particulier à enclore une partie des pâtures dans les zones habitées en hiver par ces communautés, pouvaient avoir aggravé la situation. Le but de notre recherche était donc d'explorer les facteurs socio-économiques et comportementaux intervenant dans la survenue de l'EA sur le plateau tibétain, et en particulier ceux qui, au plan communautaire, étaient susceptibles d'influencer, comme le surpâturage, les conditions environnementales et/ou écologiques de survenue de sa transmission à l'homme.

Pour répondre aux questions posées, nous avons utilisé des données provenant de deux types de sources:

- 1) des données épidémiologiques transversales, issues de 2 dépistages de masse réalisés pour l'un en 1997 et pour l'autre dans la période 2001-2003, coordonnés par l'Institut de Parasitologie du CDC du Sichuan, en collaboration avec des équipes de recherche internationales. Ces opérations de dépistages qui ont concerné 7138 personnes dans les Comtés, sites d'étude, comprenaient l'identification des cas d'EA par échographie du foie et par la sérologie utilisant le western-blot spécifique Em18, ainsi que le recueil des réponses à un questionnaire sur les facteurs de risques potentiels, et en particulier l'âge, le genre, le comté de résidence, le groupe ethnique, le niveau d'éducation, le nombre de chiens élevés par la famille, celui des chiens gardés par les voisins, le contact avec des peaux de renards, l'origine de l'eau de boisson, le nomadisme, le revenu global de la famille, la pratique de l'élevage, les

habitudes de lavage des mains avant de manger, de bouillir l'eau de boisson, de prévention des contacts entre les mouches et les aliments, et de jeu avec les chiens. La prévalence de la maladie a été mise en relation avec la surface de pâtures encloses à partir des données administratives fournies par les responsables de communes (piquets distribués par les autorités communales et vendus aux éleveurs).

2) des données de terrain obtenues en 2003, selon une méthodologie stricte d'échantillonnage, comprenant la densité en orifices de galeries des petits mammifères, utilisés comme indices indirect de présence, évaluée par transects, la mesure des zones effectivement encloses autour des résidences d'hiver (maisons ou tentes) des familles dans les communautés d'éleveurs transhumants, les réponses à un questionnaire sur les pratiques d'élevage, l'utilisation des pâtures encloses et des communaux, et le degré d'infection des chiens par *E. multilocularis*, mesuré par PCR sur le liquide fécal recueilli par purge à l'arécoline ou sur les fèces.

Notre étude a montré que la prévalence totale de l'EA était 3,1% (223/7138), que les femmes avaient une prévalence plus élevée (3,6%, 132/3713) que les hommes [2,7%, 91/3425; $p=0,011$; Odds Ratio (OR)= 1,44]. Les communautés pastorales (5,2%, 154/2955) avaient une prévalence plus élevée que les communautés agricoles (1,8%, 12/661) et que les communautés urbaines (2,1%, 49/2360). La prévalence était plus élevée dans le Comté de Shiqu.

Une analyse multivariée des facteurs de risque potentiels recueillis par questionnaire, chez les 7138 sujets examinés par ultrasonographie pour la présence de lésions d'EA, a montré que la prévalence augmentait significativement avec l'âge,

dans toutes les communautés. Chez les éleveurs transhumants, la communauté avec la prévalence la plus haute de la maladie, seul le fait de ne pas éviter le contact des mouches avec les aliments, qui peut être interprété comme un indice de bas niveau d'hygiène de la famille, était un facteur de risque très significatif ($p < 0,001$; OR = 8,598). Dans les communautés agricoles, le nombre de chiens par famille ($p=0,0022$; OR=1,722) et la possession de peaux de renards ($p=0,017$; OR=6,583) étaient associés significativement à la prévalence de l'EA. Cependant ces deux facteurs étaient plus représentés dans le Comté de Shiqu, et ce fait pouvait rendre compte, au moins partiellement, de la différence de prévalence observée entre les Comtés. Dans les populations urbaines le sexe féminin, l'habitude de jouer avec les chiens ($p < 0,004$; OR=4,550) et de boire de l'eau des ruisseaux (eau du robinet *versus* eau des ruisseaux: $p < 0,001$; OR=0,276), étaient des facteurs de risque significatifs. Le rôle des chiens dans la transmission de l'EA en Chine a donc été confirmé, mais également, pour la première fois dans ce pays, un rôle direct du contact avec les renards a pu être montré. Une exposition au contact des chiens, appréciée par le nombre de chiens dans la famille et dans le voisinage, globalement égale pour toutes les familles et extrêmement élevée, peut être à l'origine de l'absence de corrélation trouvée entre cette exposition et la prévalence de la maladie, seuls des comportements différents vis-à-vis de l'hygiène étant susceptible de faire la différence entre les familles (et entre les malades et les sujets non contaminés).

Notre principale hypothèse de travail était le rôle potentiel du surpâturage comme facteur de risque de l'EA, car favorisant la pullulation de petits mammifères,

hôtes intermédiaires, et donc augmentant l'infection des carnivores, hôtes définitifs.

L'enquête par questionnaire, et les observations de terrain ont pu montrer qu'un pâturage illimité des troupeaux était permis sur les pâtures communales, alors que les pâtures encloses étaient protégées par la limitation de la durée de pâturage et du nombre de bêtes autorisées à y pâturer. Nos principaux résultats ont été les suivants: 1) le surpâturage existait dans les pâturages communaux sur le plateau Tibétain, comparés aux pâturages enclos; 2) si l'on comparait les pâturages enclos (non surpâturés) aux pâturages communaux, en dehors des clôtures (surpâturés), l'abondance des petits mammifères, estimée par méthode indiciaire (orifices des galeries) était significativement supérieure dans ces derniers, dans les fonds de vallées ($p = 0,005$), les entrées de vallées ($p=0,005$), et les plaines ($p<0,001$) (test non-paramétriques); 3) la clôture partielle des pâtures, en réduisant la surface utile de pâturages communaux, était associé à un surpâturage accru de ces communaux, responsable d'une augmentation de la densité de petits mammifères; par test de corrélation de Spearman, nous avons pu montrer que plus la surface enclose était importante, résultant en un surpâturage accru dans les communaux, plus la densité d'orifices de galerie des petits mammifères dans les communaux était élevée, quelque soit le paysage considéré: fonds de vallées ($r_s = 0,382$, $p<0,001$), plaines ($r_s = 0,312$, $p<0,001$), flanc de montagne ($r_s = 0,471$, $p<0,001$), et entrée de vallée ($r_s = 0,296$, $p= 0,001$); (4) le nombre médian d'indices de présence des petits mammifères était significativement associé, et de façon indépendante, à l'intensité de l'infection des chiens par *E. multilocularis* ($p = 0,021$; régression logistique pas à pas considérant

l'âge et le sexe du chien et le type de collecte des échantillons (purge versus fèces).

Bien que le surpâturage soit un phénomène très étudié, en raison de son impact négatif important sur les conditions d'élevage et les revenus des éleveurs dans de nombreux pays du monde, autant que par ses effets néfastes sur l'environnement, une méthodologie satisfaisante pour sa mesure, en vue d'applications à des travaux de recherche scientifique, n'existe pas actuellement. Les relations entre surpâturage et densité des petits mammifères (rongeurs ou, comme sur le plateau tibétain, lagomorphes) sont très contradictoires dans la littérature, entre les régions étudiées, et même sur le même site d'étude... Ces contradictions peuvent en partie s'expliquer par l'absence de définition acceptée par tous de la notion de "surpâturage", et de la difficulté à le mesurer. Dans notre travail, il est apparu que le surpâturage existait à deux conditions, fondées sur un paradigme socio-économique: 1) les pâturages représentent une ressource limitée pour une communauté dont l'élevage est l'activité principale; 2) il existe des pâturages communaux dans cette communauté. Dans les communautés tibétaines, par ailleurs, il nous est apparu que la surface des pâtures encloses (devenues en quelque sorte "privées", même si ce terme ne recouvre pas la même réalité en Chine que dans les pays occidentaux), était corrélée au surpâturage dans les communaux, et aggravait donc la tendance naturelle au surpâturage des communaux dans ces régions.

Certaines imperfections dans notre méthodologie et dans la conduite de nos études, et qui devraient être corrigées par des travaux ultérieurs, peuvent être notées: 1) la réalisation des transects dans les sites d'habitation d'hiver des communautés

tibétaines devrait tenir compte de l'ancienneté des clôtures, de la réelle propriété des zones encloses (une famille, partage par plusieurs familles...) et de plus de détails dans leur utilisation ; 2) notre hypothèse du rôle du surpâturage semble se confirmer pour les zones de résidence d'hiver; cependant, le rôle des pâturages d'été (qui sont entièrement des communaux) dans le maintien du cycle parasitaire et/ou la contamination humaine ne doit pas être négligé; 3) des études ultérieures devraient obligatoirement associer une identification précise des espèces de petits mammifères dans les différents habitats, ce qui exige un piégeage systématique dans les zones étudiées; 4) l'étude réalisée ne couvre qu'une surface très limitée du plateau tibétain, et des études analogues dans d'autres zones sont absolument indispensable pour tester la validité de l'hypothèse du surpâturage comme facteur de risque socio-économique et environnemental de l'EA dans cette partie du monde.

En conclusion, en raison vraisemblablement de comportements différents et d'une exposition environnementale différenciée, les facteurs de risques d'infection par *E. multilocularis* sur le plateau Tibétain varient selon les communautés et les stratégies de prévention et de contrôle devraient prendre en compte ces différences. Pour la première fois, le rôle direct d'un contact avec les renards a été mis en évidence dans les facteurs de risques de l'EA en Chine. En ce qui concerne les éleveurs, le surpâturage, aggravé par la clôture partielle des pâtures sur les territoires occupés en hiver par ces tibétains transhumants, est associé à une augmentation de la densité des petits mammifères, elle-même associée à une infection plus importante des chiens; cette série de conséquences en chaîne est vraisemblablement à l'origine de la

corrélation entre la surface de pâtures enclose et la prévalence de l'EA dans les zones étudiées, au Sichuan. Pour la première fois, dans ces communautés pastorales du plateau tibétain, le surpâturage a été envisagé à partir d'un paradigme socio-économique. Les observations faites dans ce travail, sur les interactions entre facteurs de risque dans l'EA, sont un nouvel exemple de l'influence de facteurs socio-économiques et juridiques, en relation avec l'utilisation des sols par les communautés rurales, sur la prévalence d'une zoonose hautement dépendante de l'écologie des animaux, prédateurs et proies, qui jouent un rôle dans le fonctionnement d'un cycle parasitaire.

Summary

Socio-economical and eco-epidemiological aspects of alveolar echinococcosis in Tibetan pastoralist communities in P.R.China

Alveolar echinococcosis is a severe zoonosis that is widely endemic in north hemisphere, including regions in Western Europe, most of central Europe, central and eastern Asia and parts of North America. *Echinococcus multilocularis* (Em), the metacestode of the “fox tapeworm”, is the pathogenicity of Alveolar echinococcosis (AE). The intermediate hosts of the disease are small mammals and carnivores including foxes and dogs are the definitive hosts that discharge mature eggs with faeces. When human accidentally ingest the eggs, some may develop into disease, namely alveolar echinococcosis. The liver is the organ primarily affected; metastases are mainly observed in cases of advanced disease and may affect almost any organ.

In China, AE is major public health issue and patients were reported from 8 provinces and autonomous regions, namely Heilongjiang, Gansu, Qinghai, and Sichuan Provinces, Inner Mongolia, Ningxia Hui, Xinjiang Uygur and Tibetan Autonomous Regions. In Sichuan Province, AE is mostly endemic in Tibetan communities which are located in the west part of the Province. Tibetan communities in Sichuan Province are entirely located in the verge of east Qinghai-Tibet plateau. In the province, there are some 2 million Tibetan populations mostly inhabiting in Ganzi Tibetan Autonomous Prefecture and Aba Tibetan and Qiang Nationality Autonomous Prefecture. The landscape in the region features with high plateau mountain, alpine meadow, and valley. The weather in the 2 prefectures is characterized by a continent

monsoon plateau climate. The average altitude is around 3500 meter. Major industries in the region include livestock-raising in pastoralist communities and agriculture such as growing barley in agriculture communities.

In the Tibetan communities, AE is especially of concern. Past surveys showed that AE prevalence could be as high as 15% (12/80) in a herdsman village, while the overall infection rate was 1.9% (77/3,998). The infection rate for herdsman ranged from 5.45% (44/809) to 8.5% (60/705). In past surveys, owned dogs, stray dogs and Tibetan foxes were found to have high infection rates, 18% (an adjusted rate by a purgation study of 371 owned dogs), 9.1% (4/44), and 44.4% (76/171) respectively. *E. multilocularis* infection was also found among small mammals including *Ochotona curzoniae*, *Lepus oiostolus*, and *Pitymys irene*, with infection rates of 5.6% (13/233), 7.1% (1/14) and 25% (3/12) respectively. It thus appears that, in the Tibetan communities, the transmission cycle of *E. multilocularis* is functioning well. Past researches in other areas found various environmental, socio-economical and behavioral risk factors for AE prevalence. However, few researches tried to explore the socio-economical and behavior risk factors for AE/*E. multilocularis* transmission in the Tibetan region.

In comparison to European countries where foxes are viewed as major source of AE/*E. multilocularis* transmission, dogs are thought to be most significant source of the transmission in China. In the Tibetan communities, many socio-economical and behavior factors are assumed to strongly promote the interactions between humans and dogs. These factors include raising livestock, religion, nomadic, poor hygiene in

communities as well as personal hygiene behaviors. Meanwhile, “landscape changes” were found to be a major *AE/E.multilocularis* transmission risk factor in Europe, particularly in France, and in Gansu Province and Ninxia Province, in China. Certain types of landscape, for example, bush or grassland, could promote high density of small mammals, which in turn may facilitate the *AE/E.multilocularis* transmission by increasing the intermediate host reservoir. There were previous studies suggesting that overgrazing could promote higher density of small mammals in Tibetan pastoralist regions in Sichuan and Qinghai provinces. Overgrazing, a concept deeply rooted in socio-economics, was assumed to be a factor for landscape change (grassland degradation) during field visit in Tibetan AE endemic pastoralist areas, which was further assumed to promote *AE/E.multilocularis* transmission. Therefore, our research also aimed at confirming the relationship between socio-economical and behavioral risk factors at the level of the community, and in particular overgrazing and its potential causes, and *AE/E.multilocularis* transmission.

For the purpose of the research, we used data from two sources:

1) *data from 2 cross-sectional epidemiological investigations*, one was done in 1997 and another was in the period from 2001 to 2003, coordinated by the Parasitology Institute of the Sichuan CDC, with the collaboration of international teams; the investigations, on 7138 subjects in the study area, included the detection of AE lesions in the liver using ultrasound examination, and serodiagnosis with *E. multilocularis*-specific Em18-blot, and answers to a questionnaire on the assumed socio-economical and behavioral risk factors such as age, gender, county of residence,

nationality (ethnic group), education level, number of dogs kept, dogs kept by neighbors, contact with fox skin products, drinking water sources, nomadic life style, income, livestock raising, habit of washing hands before eating, drinking non-boiled water, preventing flies from food and playing with dogs. The relationship between the disease prevalence and fenced area of pastures around winter settlements of the Tibetan herdsmen was calculated by using administration data on the "bundles of pens" distributed and sold to the household heads or group tenure heads by the commune authorities.

2) *Data from field investigations in 2003*, according to a strict sampling methodology, which included the burrow density of small mammals obtained by transect, used as an index of small mammal number, the measurement of the fenced areas in the winter pastures, answers to a questionnaire by herdsmen on socio-economical and behavioral (occupational) factors including pasture and livestock ownership, use of the fenced areas and grazing behaviors by households, and *E.multilocularis* infection in dogs through collecting and copro-PCR analyzing dog faces.

Our study revealed that the overall prevalence of AE was 3.1% (223/7,138); females (3.6%, 132/3,713) had a significantly higher prevalence than males [2.7%, 91/3,425, $p=0.011$, Odds Ratio (OR) = 1.440]. Herdsmen communities (5.2 %, 154/2,955) had higher prevalence than farmer communities (1.8%, 12/661) and urban populations (2.1%, 49/2,360). Multiple logistic stepwise regression analyses showed

tel-00390145, version 1 - 1 Jun 2009

that AE prevalence increased with age in all three comparatively homogeneous populations of herdsmen, farmers and urban population. In the highly contaminated herdsmen communities, not preventing fly contact with food in households, which might be an indicator of hygiene behaviors, was associated with a higher probability of AE infection [$p<0.001$, OR=8.598]. In communities of farmers, the number of dogs kept ($p=0.022$, OR=1.722) and ownership of fox skin ($p=0.017$, OR=6.583) were found associated with AE infection. Both were more frequent in Shiqu than in Ganzi County and could partially account for prevalence differences between the counties. In urban populations, people using open streams as their drinking water source had a higher risk of AE than people using tap water and wells (tap water vs. stream, $p<0.001$, OR=0.276) and actively playing with dogs had a higher risk than persons who claimed never playing with dogs ($p<0.004$, OR=4.550).

Answers to questionnaires and field observations revealed that unlimited grazing by livestock was permitted in open pastures. On the contrast, the fenced pastures were well managed by timing of grazing and limiting livestock access. In comparison to fenced pastures (not overgrazed), the open pastures (overgrazed) had a higher density of small mammal burrows in valleys ($p=0.005$), valley entrances ($p=0.005$) and flatlands ($p<0.001$), as tested by non-parametric tests. Overgrazing seemed to be exacerbated by partial fencing of pastures, that promoted higher burrow density of

small mammals in open, common, pastures: Spearman correlation analyses found that the larger fenced area, which indicated higher overgrazing pressure, led to higher burrow density of small mammal in the open pasture in all landscape types, namely valley ($r_s=0.382$, $p<0.001$), flatland ($r_s=0.312$, $p<0.001$), piedmont ($r_s=0.471$, $p<0.001$) and valley entrance ($r_s=0.296$, $p=0.001$). The median burrow density of small mammals in open pastures was revealed to be independently associated with dog *E. multilocularis* infection ($p=0.003$, OR=1.048) by a multiple stepwise logistic regression analysis with consideration of dogs' sex and age as well as type of sampling. Partial fencing around the settlements in winter pasture was found to be significantly and independently associated with the risk of human alveolar echinococcosis in the surveyed villages ($P=0.021$) by a multiple stepwise logistic regression with consideration of age and gender.

Although overgrazing is an issue widely studied, yet the methodology for measuring overgrazing has not been well established. The relationship found between overgrazing and density of small mammals was either positive or negative, in different region, even in the same site. This phenomenon may partially be attributed to lack of proper definition and measurement of overgrazing. In our research, it was figured out that overgrazing did occur under two conditions based on socio-economical paradigm: 1) pastures are scarce resources in a community where livestock raising is a key industry; 2) the existence of communal pastures in the community. Furthermore, it was found that overgrazing also could be indirectly measured through measuring fenced pastures in Tibetan pastoralist settlements:

settlement with bigger fenced area has higher pressure of overgrazing in open pastures.

We also realized our weaknesses in the study which may ask for further researches with considering: 1) when transect is done, we should not only consider the current fencing situation; we also should collect data on timing of fencing, ownership of the fenced pastures and grazing behavior; 2) the overgrazing hypothesis holds satisfactorily for winter pastures; summer pastures should also be included into future research because summer pastures are all commons and their role in maintaining the parasitic cycle and/in transmission to humans cannot be ruled out; 3) future researches should also be associated with a quantitative direct assessment of small mammal species in the various habitats, which requires systematic trapping and identification in the same areas; 4) the study area is just a very small part of Tibetan Plateau, more researches in wider region are strongly needed to understand the extent of possible extrapolation of the overgrazing hypothesis.

From this research, we have major conclusions which are: 1) different communities may face different risk factors, which may include sex, age, residence, drinking water sources, playing with dogs and ownership of fox skin products; all seem to contribute in different ways to the transmission of *E.multilocularis* in the surveyed Tibetan communities. 2) an overall improvement of the hygiene situation and control of dogs' infection would be very important to limit *AE/E.multilocularis* transmission in Tibetan communities, and a community-specified control strategy

would be more appropriate; 3) a socio-economical paradigm for measuring overgrazing was successfully developed and used for the first time in the Tibetan pastoralist communities; 4) overgrazing appears to increase the abundance of small mammals (mostly *Ochotona* spp), that may serve as reservoir hosts of the parasite, which may in turn promote maintenance and transmission of *E. multilocularis* in the Tibetan pastoralist communities. These observations represent a new example of the influence of occupational behaviors and property rights on ecological changes that may in turn favor the emergence of zoonotic diseases.

al, 1994). In western/central Europe, foxes were deemed as major definitive host (Raoul et al., 2001; Rausch, 1995; Vuitton, 2003); dogs and cats were also found to be infected by *E.multilocularis* (Gottstein, 2001). Arvicolid rodents, such as *Arvicola terrestris* and *Microtus arvalis* were considered as main intermediate hosts (Giraudoux et al, 2002); Muskrats were also found infected with *E.multilocularis* (Rausch, 1995; Romig, 1999).

In North America, very high prevalence of AE in Eskimo communities in Alaska, especially on St Lawrence Island, in the northern part of the Bering Sea was observed between 1950 and 1990 (Rausch & Schiller, 1956; Wilson & Rausch, 1980; Stehr-Green et al., 1988). In this area, arctic foxes had an average infection rate of 77% and some 90% of these foxes preyed on northern voles, especially *Microtus oeconomus* considered to be the main intermediate host for *E.multilocularis*, as well as a species of lemming (*Dicrostonyx exsul*), the northern red-backed vole (*Clethrionomys rutilus*) and shrews (*Sorex cinereus*) (Rausch, Fay & Williamson, 1990). Village dogs, found infected in 1951 with a prevalence of 12%, were also considered important in the spreading of the parasite close to human communities (Rausch & Fay, 2002).

In Asia part of former USSR, prevalence rates of 10/100000 or more were

reported in Yukutia (Siberia), Chukot, Korjak autonomous districts, Kamchatka, Omsk and Tomsk regions and Altai territory (Bessonov 1998; 2002). In these parts of former USSR, nine species of carnivores (arctic fox, red fox, corsac fox, wolf, golden jackal, rural dog, raccoon dog, wild cat and domestic cat) have been found naturally infected, as well as 30 species of small mammals, including voles, mice, shrews, lemmings, marmots, jirds, muskrats, ground squirrels, jerboas, hares and hamsters (Bessonov, 1998). In Kazakhstan, larval stage of *E.multilocularis* was found in 18 species of rodents, including marmots, steppe marmot (*Marmota bobac*), grey marmot (*Marmota baibacina*), and gerbils, red-tailed gerbil (*Meriones libycus*) and great gerbil (*Rhomomys opimus*), especially in the forest-steppe, steppe zones and river valleys, and the adult stage in 4 species of definitive hosts, foxes(*Vulpes vulpes* and *V.corsac*), domestic dog (*Canis familiaris*), especially hunters' dogs, and wild cat (*Felis lybica*) (Shaikenov & Torgerson, 2002). In Middle East, presence of *E.multilocularis* in a fox in the north-west of Turkey, was reported by Merdivenci in 1965 (cited by Altintas, 1997). AE cases were also reported in Iraq and Iran (Rausch, 1995; Vuitton et al, 2003).

In Japan, a total of 383 human AE cases were detected since 1960s, up to 1999, and 5-9 cases per year are newly disclosed by the committee for Echinococcosis

Control in Hokkaido (Tsukada et al. 2000). In endemic areas of Japan including almost entire area of Hokkaido Island and Rebun Island, *E.multilocularis* circulates between foxes, stray dogs, and voles (Yamashita, 1973). *Clethrionomys rufocanus*, *C. rutilus* and *C. rex* have been identified as the main intermediate hosts involved in the cycle in nature (Takahashi et al., 1989; Takahashi & Nakata, 1995).

AE prevalence and *E.multilocularis* infection in China except for Sichuan Province

In China, there is a vast area being endemic with AE, which includes Inner Mongolia Autonomous Region, Helongjiang Province, Gansu Province, Ningxia Hui Autonomous, Qinghai Province, Tibet Autonomous Region, Xinjiang Uygur Autonomous Region, and Sichuan Province (Vuitton, et al, 2003) (See Figure IN-1).

In Heilongjiang Province, four human AE cases were documented in three counties of the province (Yu et al. 1994). Cases from Nahe County and Jamusi City were reported respectively (Li et al. 1985; Wen, 1990). These two cities are close to Da-xin-an-ling and Xiao-xin-anling mountains where deforestation and farmland extension were noted as early as the 1950s (Xia, 1996). No data are available on animal infection and the characteristics of the local cycle of the parasite are unknown.

Figure IN-1 Alveolar Echinococcosis Endemic Provinces and Autonomous Regions in China (According to Zhou HX, PhD thesis, 2001)



Legendary: AE is endemic in orange regions including Monglolia Autonomous Region, Helongjiang Province, Gansu Province, Ningxia Hui Autonomous, Qinghai Province, Tibet Autonomous Region, Xinjiang Uygur Autonomous Region, and Sichuan Province (Vuitton, et al, 2003)

changes in pika density might not be the outcome of overgrazing, but of temperature and humidity changes, and could even be the reason for vegetation changes and thus "overgrazed" aspect of the meadows (Chen et al, 1998; Cheng et al, 1998; Wang G, et al., 2001; Miller, 1999). Therefore, because of this somehow "vicious circle", it seemed that ecological indicators or livestock husbandry indicators were not readily applicable to our research.

After checking available possibilities, we turned to socio-economics indicators that seemed to be more reliable given the socio-economics origin of overgrazing. Through the definition of overgrazing in terms of socio-economics paradigm, two indicators were adopted to verify the existence of overgrazing: 1) scarcity of pastures and 2) common ownership of pastures. By questionnaire investigation, we successfully identified these two features in the surveyed Tibetan communities and even indirectly measured the overgrazing pressure, which enabled us to further understand the relationship between overgrazing and density of small mammals.

4.3 Small mammal communities and their role as reservoir of *E. multilocularis*

Being the intermediate hosts of *E. multilocularis*, small mammals play a key role as reservoir of *E. multilocularis*. But for different species, their role can be very different and actually depends on 3 main factors: 1) their respective susceptibility to

E.multilocularis infection; 2) their population densities; 3) the contact opportunities of these small mammals with the faeces of carnivore definitive hosts, such as foxes, dogs and cats (Zhou HX, 2001).

The population density of small mammals seems to be one of the key factors for the transmission of *E.multilocularis*: high densities were found quantitatively associated with infection of foxes and with the prevalence of AE in humans in France and Gansu Province, China (Viel et al., 1999; Craig et al., 2000; Giraudoux et al 2002; Giraudoux et al. 2003). However, in some areas, such as Switzerland and the USA, occurrence of human AE cases was not found related to the prevalence in intermediate and/or definitive host (Bruno et al., 2001; Hildreth et al., 2000). These studies will be given in more detail below, since they also pointed out that environmental factors and behavioral factors, at a society scale, were mixed to give the final picture and favor *E. multilocularis* transmission, permanently or temporarily, in a given area.

In Tibetan pastures, the situation of small mammals is far from clear in terms of all above 3 factors listed above. From data obtained by field trapping of small mammals, visual observation and literature review, 18 species of small mammals belonging to 10 genera have been described in the area we worked in. They are: *Lepus oiostolus*, *Ochotona curzoniae*, *Ochotona cansus*, *Ochotona gloveri*, *Ochotona*

thibetana, *Cricetulus longicaudatus*, *Cricetulus migratorius*, *Cricetulus kamensis*, *Microtus fuscus*, *Microtus oeconomus*, *Myospalax baileyi*, *Apodemus chevrius*, *Apodemus agrarius*, *Apodemus peninsulae*, *Rattus norvegicus*, *Niviventer confucianus*, *Marmota himalaya*, and *Eozapus setchuanus* (Chen, et al., 2001). Not all species of small mammals are fully identified, their distribution patterns and densities were not studied systematically, and their susceptibilities to *E. multilocularis* infection were not systematically investigated in the region.

E. multilocularis larval infection was recorded in 25% (3/12) of voles (*Microtus irene*) and in lagomorphs [6.7% (5/75) of the black-lipped pika (*Ochotona curzoniae*) and 7.1% (1/14) of Tibetan hares (*Lepus oiostolus*)] (Qiu et al., 1999). Most of *Microtus* sp. and *Ochotona curzoniae* are very susceptible hosts to *E. multilocularis* which may acquire fertility in these hosts and thus make the cycle function efficiently. The role of the hares as a good intermediate host is most debatable. *E. multilocularis* infection in dogs and foxes was quite high, the infection rate was calculated to be 18% for owned dogs based on copro-PCR testing (Budke et al, 2005); the figure for stray dogs was 12.1-25.0% (4/33-5/20) and 44.4% (76/171) for Tibetan foxes (*Vulpes ferrilata*) (Qiu et al., 1999). Therefore, the transmission cycle between small mammal intermediate hosts and their carnivore definitive hosts seems to work quite well. The

positive relationship we found between density of small mammal burrows and *E.multilocularis* infection in dogs confirmed the current interaction between intermediate and definitive hosts in our area of research. However, the correlation was found between dogs and small mammal indices in the "open" "common" pastures, i.e. presumably mostly due to the presence of *Ochotona* sp., but a role for the small mammals (mostly rodents/voles) present in the "fenced" "private" pastures cannot be ruled out. In fact *Microtus spp* like to live in areas with high grass, and their presence has been demonstrated by trapping and transects in the same area (Raoul et al, manuscript under submission). We may suppose that carnivores might not easily find them since they may hide in high grass; their role as reservoir could thus be hampered. These voles have however been often recognized as major intermediate hosts in a variety of biotopes worldwide (Viel et al, 1999; Giraudoux et al, 2003; Craig et al, 2003) and they cannot be neglected when the issue of the "most relevant intermediate host" on the Tibetan Plateau is discussed. A role for other types of potential intermediate hosts, for example, *Myospalax baileyi*, a kind of rodent, of comparatively large size, which was also depicted as a major species among the small mammals on the Tibetan plateau (Li, 1995; Hou, 2001) is also possible. Its accessibility by dogs and foxes might be impaired by its underground life,