



Open Archive TOULOUSE Archive Ouverte (OATAO)

OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible.

This is an author-deposited version published in : [http://oatao.univ-toulouse.fr/Eprints ID : 14657](http://oatao.univ-toulouse.fr/Eprints/ID%2014657)

To cite this version :

Morau, Mathieu. *Utilisation de l'hématologie et de la biochimie dans l'évaluation du stress à la capture chez le chevreuil (*Capreolus capreolus*)*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2015, 137 p.

Any correspondance concerning this service should be sent to the repository administrator: staff-oatao@inp-toulouse.fr.

UTILISATION DE L'HEMATOLOGIE ET DE LA BIOCHIMIE DANS L'EVALUATION DU STRESS A LA CAPTURE CHEZ LE CHEVREUIL, *CAPREOLUS CAPREOLUS*

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

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

par

MORAU Mathieu

Né, le 10 septembre 1989 à DAX (40)

Directeur de thèse : M. Renaud MAILLARD

JURY

PRESIDENT :

M. Alexis VALENTIN

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESSEURS :

M. Renaud MAILLARD

M. Giovanni MOGICATO

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MEMBRE INVITE :

Mme Hélène VERHEYDEN

Chargée de recherche à l'INRA de TOULOUSE

Ministère de l'Agriculture de l'Agroalimentaire et de la Forêt
ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Directrice : **Madame Isabelle CHMITELIN**

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

- M. **AUTEFAGE André**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **CLAUW Martine**, *Pharmacie-Toxicologie*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie Pathologique*
- M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
- M. **FRANC Michel**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
- M. **MARTINEAU Guy**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
- M. **PETIT Claude**, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **REGNIER Alain**, *Physiopathologie oculaire*
- M. **SHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

PROFESSEURS 1° CLASSE

- M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
- M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootecnie*
- M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
- Mme **HAGEN-PICARD, Nicole**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **SANS Pierre**, *Productions animales*
- Mme **TRUMEL Catherine**, *Biologie Médicale Animale et Comparée*

PROFESSEURS 2° CLASSE

- M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des aliments*
- Mme **BENARD Geneviève**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
- Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*
- M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des aliments d'Origine animale*
- Mme **CHASTANT-MAILLARD Sylvie**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **GUERIN Jean-Luc**, *Aviculture et pathologie aviaire*
- M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. **LIGNEREUX Yves**, *Anatomie*
- M. **PICAVET Dominique**, *Pathologie infectieuse*

PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

- Mme **MICHAUD Françoise**, *Professeur d'Anglais*
- M. **SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*

MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE

- M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*
- Mme **BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
- Mlle **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
- Mlle **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
- M. **DOSSIN Olivier**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
- M. **JOUGLAR Jean-Yves**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
- Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*
- M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*
- M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*

MAITRES DE CONFERENCES (classe normale)

- M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **BENNIS-BRET Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
- Mlle **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
- Mme **BOUHSIRA Emilie**, *Parasitologie, maladies parasitaires*
- Mlle **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie*
- M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*
- M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
- M. **CUEVAS RAMOS Gabriel**, *Chirurgie Equine*
- Mme **DANIELS Hélène**, *Microbiologie-Pathologie infectieuse*
- Mlle **DEVIERS Alexandra**, *Anatomie-Imagerie*
- M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophthalmologie vétérinaire et comparée*
- Mlle **FERRAN Aude**, *Physiologie*
- M. **GUERIN Jean-Luc**, *Elevage et Santé avicoles et cunicoles*
- M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
- Mlle **LACROUX Caroline**, *Anatomie Pathologique des animaux de rente*
- Mlle **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*
- M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
- M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des Ruminants*
- Mme **MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation*
- Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie Chirurgicale*
- M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*
- M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction (en disponibilité)*
- Mlle **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
- Mlle **PAUL Mathilde**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles et porcins*
- Mme **PRADIER Sophie**, *Médecine interne des équidés*
- M. **RABOISSON Didier**, *Productions animales (ruminants)*
- M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et Infectiologie*
- M. **VERWAERDE Patrick**, *Anesthésie, Réanimation*
- Mme **WASET-SZKUTA Agnès**, *Production et pathologie porcine*

MAITRES DE CONFERENCES et AGENTS CONTRACTUELS

- M. **DAHAN Julien**, *Médecine Interne*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

- Mme **COSTES Laura**, *Hygiène et industrie des aliments*
- Mme **LALLEMAND Elodie**, *Chirurgie des Equidés*
- M. **TANIS Jean-Benoît**, *Anatomie – Imagerie Médicale*

REMERCIEMENTS

À Monsieur le Professeur Alexis Valentin

*Professeur des Universités
Praticien hospitalier
Zoologie - Parasitologie*

Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de ce jury de thèse,
Hommages respectueux.

À Monsieur le Professeur Renaud Maillard

*Maître de Conférences de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Pathologie des Ruminants*

Pour avoir accepté de m'encadrer et me guider tout au long de ce projet,
Mes sincères remerciements et ma plus profonde gratitude.

À Monsieur le Professeur Giovanni Mogenicato

*Maître de Conférences de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Anatomie - Imagerie médicale*

Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de faire partie de ce jury de thèse et de juger
mon travail,
Mes sincères remerciements.

À Madame Hélène Verheyden

*Chargée de recherche au Laboratoire Comportement et Écologie de la Faune
Sauvage (CEFS) de l'INRA de Toulouse
Responsable de l'Installation Expérimentale de Gardouch*

Pour son accueil chaleureux et bienveillant au sein du CEFS,
Pour sa confiance, sa disponibilité et sa gentillesse tout au long de ce travail, que ce soit
sur le terrain ou derrière l'ordinateur,
Qu'elle reçoive dès à présent toute ma reconnaissance et mes sincères remerciements.

Table des matières

Table des figures	18
Table des tableaux	21
Introduction.....	23
PREMIERE PARTIE - Revue bibliographique	25
I. Quelques mots sur notre modèle d'étude, le chevreuil.....	26
1) Un cervidé.....	26
a. Les cervidés, classification phylogénétique et particularités morphologiques	26
b. Place du chevreuil dans le groupe des cervidés	27
2) Morphologie du chevreuil.....	27
3) Habitat et Comportement alimentaire	28
4) Organisation sociale et spatiale.....	29
5) Reproduction.....	30
6) Interactions avec les activités humaines	32
II. Le stress, généralités et différences interindividuelles	35
1) Définitions et concepts généraux	35
a. Le stress, une définition en évolution constante	35
b. Les sources de stress	36
c. Stress aigu vs stress chronique.....	36
d. Conséquences sur l'organisme : distress vs eustress	37
e. Cas particulier de la tranquillisation	38
2) Variabilité inter-individuelle dans la réponse au stress	38
a. Nature du stressor	38
b. Variations entre espèces, races, sexes	38
c. Variations interindividuelles : influence de la personnalité.....	39
III. Le stress : approche physiologique	42
1) Physiologie générale de la réponse	42
a. Perception et intégration d'un stimulus stressant.....	42
b. Plusieurs voies de réponse face aux stimuli stressants	43

2)	Effets biologiques sur l'organisme	50
a.	Modification des paramètres cliniques	50
b.	Modifications des paramètres sanguins	52
IV.	Marqueurs du stress aigu utilisables pour chez le chevreuil	59
1)	Réponse comportementale	59
2)	Paramètres cliniques	60
a.	Systèmes cardiovasculaires et respiratoires	60
c.	Activité des systèmes digestif, urinaire et reproducteur	61
3)	Paramètres sanguins.....	61
a.	Sécrétions endocrines : cortisol et autres hormones	61
b.	Marqueurs hématologiques	62
c.	Marqueurs biochimiques.....	63
	Conclusion de la revue bibliographique	65
	DEUXIEME PARTIE - Etude expérimentale	67
I.	Matériel et méthodes	68
1)	Présentation des sites d'étude et des populations de chevreuils	68
2)	Protocole de capture.....	70
a.	Déroulement de la capture	70
b.	Risques de la capture pour les animaux	73
3)	Protocole de collecte des données lors de la manipulation.....	75
a.	Détermination du sexe et de l'âge.....	75
b.	Mesures physiques	76
c.	Collecte de sang	76
d.	Mesure du stress aigu lors de la capture	79
e.	Autres prélèvements.....	82
4)	Etude statistique	82
a.	Statistiques descriptives	82
b.	Modèles linéaires	83

II.	Résultats.....	85
1)	Description de l'échantillon de chevreuils.....	85
a.	Détail des captures	85
b.	Structure de la population	86
c.	Biométrie des animaux capturés	87
2)	Description des témoins de stress évalués lors de la capture.....	88
a.	Tranquillisation des animaux	88
b.	Milieu de vie	89
c.	Comportement.....	89
d.	Température rectale.....	91
e.	Corrélation entre les indicateurs de stress.....	91
3)	Description des paramètres sanguins analysés sur les échantillons.....	91
a.	Hématologie	91
b.	Biochimie	94
4)	Détermination des relations entre paramètres sanguins et marqueurs de stress	95
a.	Sélection du modèle	95
b.	Construction des graphes de prédiction	99
III.	Discussion	109
1)	Biais d'échantillonnage.....	109
2)	Structure de notre population.....	109
4)	Paramètres hématologiques et stress.....	110
5)	Paramètres biochimiques et stress	112
TROISIEME PARTIE - Application : Influence de la captivité.....		115
I.	Matériel et méthodes	116
II.	Résultats.....	116
III.	Discussion	119
CONCLUSION		121
BIBLIOGRAPHIE		123

Table des illustrations

Table des figures

Fig. 1 : Classification phylogénétique des Ruminants.....	26
Fig. 2 : Classification phylogénétique des Cervidés : I- <i>Capreolinae</i> , II- <i>Cervinae</i> , III- <i>Munticinae</i>	27
Fig. 3 : Détermination du sexe chez le chevreuil à partir de la forme du miroir (A) et de la silhouette corporelle (B) et évolution de la ramure du brocard au cours de sa croissance	28
Fig. 4 : Variations saisonnières du régime alimentaire du chevreuil dans la forêt des Landes, obtenues à partir d’analyse de contenus stomacaux.....	29
Fig. 5 : Cycle annuel de reproduction chez le chevreuil.....	31
Fig. 6 : Aire de répartition de <i>Capreolus capreolus</i> en 2015.....	32
Fig. 7 : Abroutissement d’un brocard sur de jeunes plants d’aulnes (A) et fraye lors de la perte des velours sur de jeunes pousses de noisetiers (B).....	33
Fig. 8 : Evolution des tableaux de chasse nationaux pour le chevreuil en France entre 1973 et 2013, hors parcs et enclos	34
Fig. 9 : Aménagements mis en œuvre face aux dégâts imputés au chevreuil : protection contre l’abroutissement (A et B), les frottis (C) et « écoduc » (D).....	34
Fig. 10 : Dépassements des capacité de l’organisme à répondre à un stressleur	37
Fig. 11 : L’hypothalamus, organe central de la réponse au stress	43
Fig. 12 : Organisation et fonctionnement des deux lobes de l’hypophyse	44
Fig. 13 : Hormones de l’axe hypothalamo-hypophysaire et organes cibles	45
Fig. 14 : Rétrocontrôle négatif de l’axe corticotrope lors de stress aigu et chronique.....	46
Fig. 15 : Organisation du système nerveux autonome et organes innervés	48
Fig. 16 : Schéma récapitulatif des principaux axes de réponse à un stressleur	49
Fig. 17 : Mécanismes physiologiques à l’origine d’une érythrocytose consécutive à la capture ...	53
Fig. 18 : Mécanismes physiologiques à l’origine d’une neutrophilie au cours d’un épisode de stress aigu	54
Fig. 19 : Mécanismes physiologiques à l’origine de modifications de la cinétique des lymphocytes lors d’un épisode de stress	55
Fig. 20 : Schéma récapitulatif des différents effets du syndrome de stress sur l’organisme	58
Fig. 21 : Systèmes ECG embarqués, placés sur des chevreuils et des cerfs par Reimoser.....	60
Fig. 22 : Localisation des deux sites d’étude	68
Fig. 23 : Localisation des différents sites de captures des chevreuils sauvages	69
Fig. 24 : Dispositif de capture en place dans des milieux et des conditions climatiques différents	70
Fig. 25 : Extraction d’un brocard pris dans un filet.	71

Fig. 26 : Extraction d'une femelle du sabot et contention d'un autre individu sur la table de marquage durant la récolte de fèces	72
Fig. 27 : Relâche d'un brocard et d'une jeune femelle équipée d'un collier GPS.....	73
Fig. 28 : Evolution de la dentition de l'hémi-mâchoire inférieure du chevreuil avec l'âge	75
Fig. 29 : Estimation de l'âge de l'animal par examen de la dentition et prélèvement sanguin sur un individu déjà capturé par le passé (la trace du collier est encore visible	76
Fig. 30 : Répartition des captures par site et par année.....	85
Fig. 31 : Répartition par âge et sexe des animaux capturés	86
Fig. 32 : Proportion des différentes classes d'âge et des sexes des animaux capturés sur chaque site	86
Fig. 33 : Proportion des différentes classes d'âge et des sexes des animaux capturés par année ...	87
Fig. 34 : Distributions des caractéristiques morphologiques des animaux capturés selon leur sexe (A) et leur catégorie d'âge (B)	88
Fig. 35 : Distributions des doses d'acépromazine reçues par les animaux capturés selon leur poids (A), leur sexe (B) et leur catégorie d'âge (C).....	88
Fig. 36 : Distribution du délai entre la tranquillisation et le prélèvement sanguin en minutes.....	89
Fig. 37 : Disponibilité des données pour l'ensemble des comportements observés sur la totalité des captures.	90
Fig. 38 : Distribution de la note comportementale des animaux capturés : seule (A) , par rapport à l'âge (B) et rapport au sexe (C)	90
Fig. 39 : Distribution de la température rectale des animaux capturés	91
Fig. 40 : Distributions des paramètres hématologiques de l'ensemble des animaux capturés	92
Fig. 41 : Distributions des paramètres hématologiques de l'ensemble des animaux capturés (suite)	93
Fig. 42 : Distributions des paramètres biochimiques de l'ensemble des animaux capturés	94
Fig. 43 : Prédiction de la concentration en hématies (A), de l'hématocrite (B) et de l'hémoglobémie (C) de l'animal en fonction de deux marqueurs de stress : la note comportementale à la capture et la tranquillisation ou non de l'animal.	101
Fig. 44 : Prédiction de la proportion de lymphocytes (A), de la proportion de granulocytes neutrophiles (B) et du rapport entre ces deux types cellulaires (C) chez l'animal en fonction de deux marqueurs de stress : la note comportementale à la capture et la tranquillisation ou non de l'animal.....	102
Fig. 45 : Prédiction de la proportion de monocytes (A) et de la concentration plaquettaires (B) chez l'animal en fonction de deux marqueurs de stress : la note comportementale à la capture et la tranquillisation ou non de l'animal.....	103
Fig. 46 : Prédiction du Volume glomérulaire moyen (VGM) de l'animal en fonction de la tranquillisation (A) , de la Concentration corpusculaire en hémoglobine (CCMH) de l'animal en fonction de son milieu de vie préférentiel (B)	104
Fig. 47 : Prédiction de la Proportion de Granulocytes basophiles de l'animal en fonction de sa température rectale.....	105

Fig. 48 : Prédiction de la créatinémie (A) et de la fructosaminémie (B) de l'animal en fonction de deux marqueurs de stress : la note comportementale à la capture et la tranquillisation ou non de l'animal.	106
Fig. 49 : Prédiction de la protéinémie (A), de l'albuminémie (B), de la globulinémie (C) et de la globulinémie α_2 (D) de l'animal en fonction de la note comportementale à la capture.	107
Fig. 50 : Prédiction de l'urémie de l'animal en fonction du milieu de vie.	108
Fig. 51 : Vue aérienne et schématique du site expérimental de Gardouch	116
Fig. 52 : Répartition par âge et sexe des animaux capturés sur le site expérimental (A) et enclos occupés (B)	117
Fig. 53 : Prédiction de la concentration en globules rouges (A), de l'hématocrite (B), de l'hémoglobulinémie (C) , de la créatinémie (D), de la protéinémie (E) et de la fructosaminémie (F) de l'animal en fonction de son site de vie.	118

Table des tableaux

Tab. 1 : Modèle « faucon-colombe » développé par Korte et al. (2005): des « coping styles » radicalement différents.....	40
Tab. 2 : Intensité des réponses neuroendocrines lors de stress aigu selon le type de stratégie	40
Tab. 3 : Détails des paramètres obtenus lors de l'analyse hématologique.....	78
Tab. 4 : Détail des paramètres obtenus lors de l'analyse biochimique	79
Tab. 5 : Comportements retenus pour le calcul de la note comportementale	81
Tab. 6 : Différents modèles construits lors de l'étude multivariée des paramètres sanguins	83
Tab. 7 : Morphologie des animaux rencontrés : variations selon le sexe et la catégorie d'âge	87
Tab. 8 : Valeurs moyennes de paramètres hématologiques de l'ensemble des animaux capturés	92
Tab. 9 : Valeurs moyennes de paramètres biochimiques de l'ensemble des animaux capturés	94
Tab. 10 : Sélection des modèles linéaires mixtes pour l'investigation de la variation des paramètres sanguins en fonction des témoins de stress des chevreuils.....	96
Tab. 11 : Sélection des modèles linéaires mixtes pour l'investigation de la variation des paramètres sanguins en fonction des témoins de stress des chevreuils (suite)	97
Tab. 12 : Sélection des modèles linéaires mixtes pour l'investigation de la variation des paramètres sanguins en fonction des témoins de stress des chevreuils (suite)	98
Tab. 13 : Tableau récapitulatif des modèles sélectionnés pour chaque paramètre sanguin analysé.....	99
Tab. 14 : Sélection des modèles linéaires mixtes pour l'investigation de l'influence de l'enclos de l'animal sur les indicateurs hématologiques et biochimiques retenus précédemment.....	117

Introduction

Le chevreuil, comme les autres ongulés européens, connaît actuellement une forte expansion démographique, allant de pair avec une augmentation des interactions entre animaux sauvages et activités humaines. Dans un territoire où les grands prédateurs sont absents, ces contacts constituent l'une des principales sources de stress rencontrées par les animaux. La chasse, les pratiques agricoles, les randonneurs, la circulation routière ou encore les chiens errants sont autant d'exemples occasionnant un stress pour l'animal sauvage.

Si la réaction physiologique et comportementale mise en jeu est la plupart du temps transitoire et permet à l'animal de s'affranchir de la menace, la persistance ou la fréquence de celles-ci peuvent influencer plusieurs fonctions biologiques, telles que la reproduction, la croissance et même la survie des individus. La façon dont les animaux font face à ces situations est une composante essentielle du fonctionnement et de la démographie des populations. Dans ce contexte, mettre en place des politiques de gestion adaptées et durables nécessite de comprendre précisément ces mécanismes.

Si par le passé, la plupart des travaux se limitaient aux réactions générales de l'espèce, on considère aujourd'hui que les individus ne sont pas tous égaux face au stress, y compris chez les espèces sauvages. Si certains, plutôt peureux, n'osent pas s'aventurer dans des plantations agricoles, d'autres n'hésitent pas à s'approcher des habitations, ce qui peut s'avérer risqué.

Quantifier la réaction et comprendre comment un animal sauvage répond au stress est particulièrement difficile. Un panel de modifications comportementales et physiologiques induites par le stress est couramment utilisé dans cette optique chez les animaux en captivité. Mais en milieu naturel, ces observations ne peuvent en général se faire que ponctuellement à l'occasion de captures.

Dans notre travail, nous chercherons à déterminer expérimentalement quels paramètres sont susceptibles d'être utilisables pour l'évaluation de la capacité individuelle de réponse au stress chez le chevreuil.

Après quelques mots sur la biologie de notre modèle d'étude, le chevreuil, et après quelques rappels terminologiques sur la notion de stress, nous nous attarderons sur les mécanismes de réponse au stress de l'organisme et les modifications biologiques qui en découlent. Ces paramètres sont plus ou moins adaptés à l'étude du stress chez les cervidés sauvages. A partir de la bibliographie existante chez le chevreuil et ses espèces voisines, nous essaierons de déterminer lesquels sont utilisables en pratique.

Dans un second temps, nous testerons expérimentalement les paramètres retenus à partir de mesures ponctuelles réalisées sur un grand échantillon de chevreuils sauvages capturés en milieu naturel.

La troisième et dernière partie de ce travail sera consacrée à l'application des conclusions précédentes dans le contexte particulier de la captivité. Nous y discuterons les différences observées dans la réaction à la capture entre notre population sauvage et une population de chevreuils en captivité.

Première partie

Revue bibliographique

I. Quelques mots sur notre modèle d'étude, le chevreuil

1) Un cervidé

a. Les cervidés, classification phylogénétique et particularités morphologiques

Le chevreuil, *Capreolus capreolus*, fait partie de la famille des cervidés, elle-même intégrée dans l'ordre des Artiodactyles, mammifères qui possèdent un nombre pair de doigts.

Les cervidés comptent 47 espèces qui peuplent quasiment l'ensemble du globe, à l'exception de l'Antarctique et de l'Australie. Tous les climats sont occupés, des régions arctiques aux forêts tropicales et aux déserts. Ces adaptations à des environnements variés expliquent les importantes variations morphologiques, physiologiques et écologiques observables chez les cervidés.

Ce sont des ruminants caractérisés par la présence de bois, appendices osseux caducs et ramifiés, chez les mâles. Une seule espèce ne possède pas de bois, l'hydropote (*Hydropotes inermis*). Seul le renne (*Rangifer tarandus*) porte quant à lui des bois chez les deux sexes. Les formes des bois varient : ronds chez certains comme le cerf (*Cervus elaphus*), le wapiti (*Cervus canadensis*) et le chevreuil, aplatis chez d'autres, comme l'élan (*Alces alces*), le daim (*Dama dama*) ou le renne. Une caractéristique étonnante est l'augmentation de la taille et de la complexité des bois avec l'éloignement de l'aire de répartition de l'espèce par rapport à l'équateur (Fowler 1993).

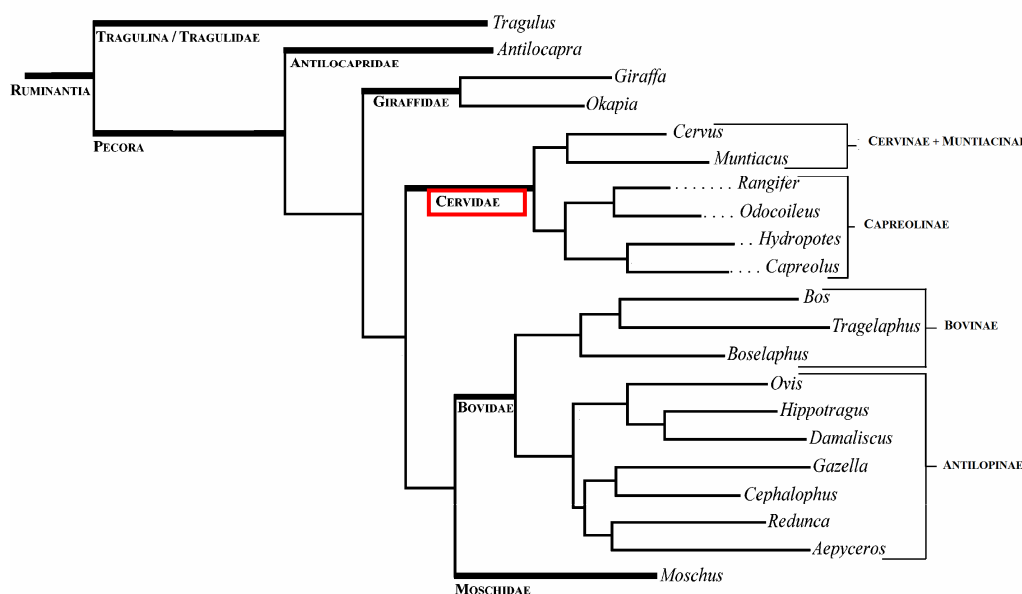


Fig. 1 : Classification phylogénétique des Ruminants (Hassanin et al. 2003)

Les cervidés représentent aujourd'hui d'importants enjeux à travers le monde. Si quelques espèces de cervidés ont été domestiquées et font l'objet d'élevage à visée économique (cerf, daim,...), la majorité se retrouve uniquement à l'état sauvage (à l'exception des zoos). Les intérêts cynégétique, sylvicole et sanitaire associés à ces espèces rendent le suivi des populations et leur gestion primordiaux. Quelques espèces sont aussi menacées et motivent des projets de conservation, comme le cerf cochon (*Axis porcinus*), le daim de Perse (*Dama mesopotamica*), le grand muntjak (*Muntiacus vuquangensis*) ou le cerf du prince Alfred (*Rusa alfredi*).

De nombreuses espèces de cervidés font ainsi régulièrement l'objet d'études à travers la planète.

b. Place du chevreuil dans le groupe des cervidés

Les cervidés se divisent en 4 sous familles. Les cervinés (cerfs, daims), les capréolinés (chevreuils, élan, renne et quelques cerfs), les muntiacinés (muntjacs) et les hydroptinés (représenté par une seule espèce, l'hydropote). Si pour les trois premières, un consensus semble exister dans la classification phylogénétique, les études diffèrent quant aux hydroptinés qui sont classés soit comme sous-famille à part entière (Fernández et al. 2005), soit comme une branche voisine du genre *Capreolus* dans les capréolinés (Hassanin et al. 2003; Pitra et al. 2004). Il semble que ce second choix soit plus partagé à l'heure actuelle (Tree of Life Web Project 2006).

Deux espèces de chevreuils existent : le chevreuil européen (*Capreolus capreolus*) et le chevreuil sibérien (*Capreolus pygargus*), semblable mais de taille plus imposante (Valet 2007). Le chevreuil est le seul cervidé autochtone de France avec le cerf élaphe (*Cervus elaphus*).

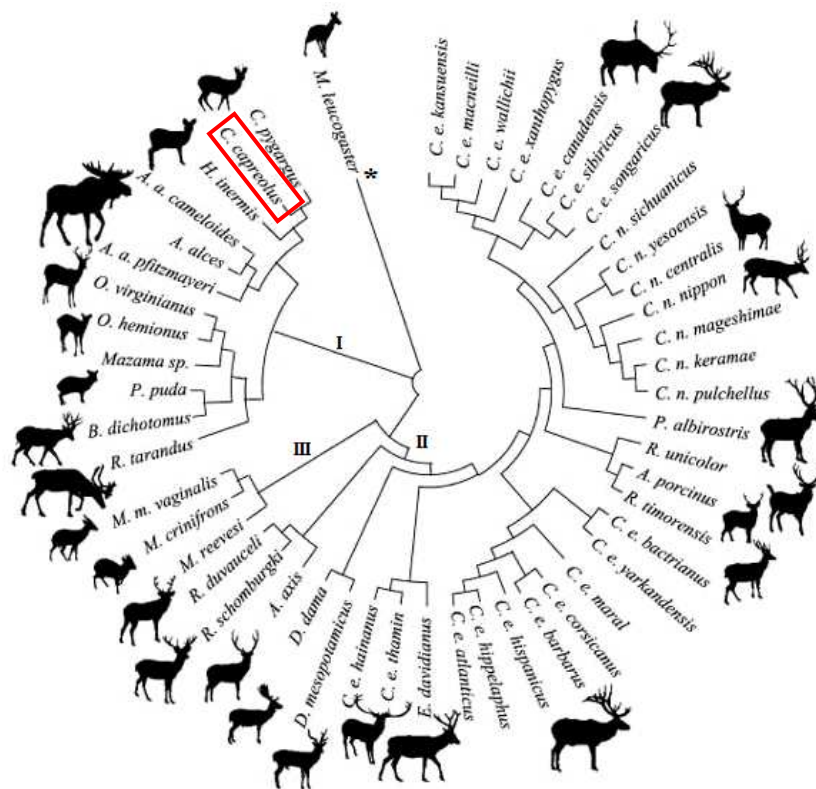


Fig. 2 : Classification phylogénétique des Cervidés : I- Capreolinae, II- Cervinae, III- Munticinae (Pitra et al. 2004)

* La famille des *Moschidae*, qui regroupe les cerfs porte-musc, ne fait pas partie des cervidés en tant que tel

2) Morphologie du chevreuil

Le chevreuil est le plus petit cervidé européen, atteignant 60 à 70 cm au garrot pour 1m à 1m20 de longueur et un poids vif de 15 à 30 kg selon les territoires. Un léger dimorphisme sexuel est observé. Les mâles sont légèrement plus lourds que les femelles avec un cou et le tiers antérieur du corps plus robuste (fig. 3b). Les jeunes animaux atteignent 70% de leur poids adulte vers l'âge de 8 mois, soit au début de l'hiver. La croissance est complètement achevée à partir de 3 ans (Delorme et al. 2007).

Comme chez la plupart des cervidés, les faons naissent tachetés. Cette livrée, qui constitue un excellent moyen de camouflage, persiste jusqu'à l'âge de 2 à 3 mois puis s'estompe progressivement jusqu'à disparaître avec la mue d'automne. Le pelage adulte alterne entre une couleur brun-roux l'été et plus grisâtre l'hiver. Ces deux phases sont séparées par des périodes de mue au printemps et en automne. Tous les individus ont une tache claire appelée miroir ou rose sous la queue, en forme de coeur chez la femelle et de haricot chez le mâle (fig.3a). Seuls certains ont une tache claire dans le haut du cou communément appelée serviette.

Les bois portés uniquement par les mâles peuvent dépasser les 25 cm de longueur. Ils apparaissent dès l'âge de 6 mois, sont alors appelés broques et tombent trois mois plus tard. A l'âge de 12 mois, les chevreuils portent des bois plus longs mais non ramifiés appelés dagues. Les bois ramifiés classiques ne sont présents que chez des animaux de plus de 2 ans (fig. 3c).

La pousse a lieu en hiver et dure généralement 2 à 3 mois avec une croissance rapide de la mi-janvier à la mi-février. Au cours de la croissance, les bois sont mous et recouverts de velours, qui se décrochent progressivement en avril-mai pour donner leur aspect définitif. La chute des bois a lieu en automne, en général au mois de novembre (Sempéré 1990). La forme et la taille des bois varient avec l'âge et les conditions de vie de l'animal, en particulier des ressources alimentaires et des maladies. La cyclicité varie aussi un peu avec l'âge : la chute des bois se fait de plus en plus tôt dans l'année quand l'animal vieillit, avec des bois plus courts, plus minces et parfois déformés (Collin 1992). En absence de pression cynégétique, les individus peuvent atteindre plus d'une quinzaine d'année.

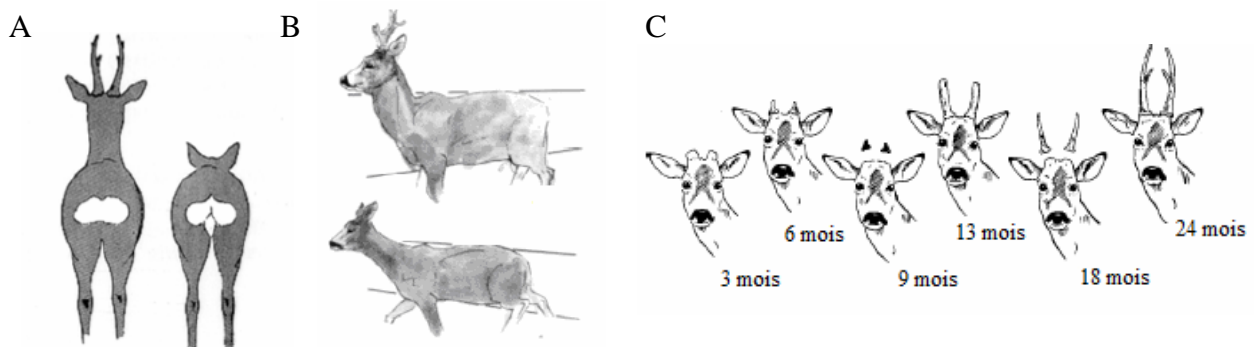


Fig. 3 : Détermination du sexe chez le chevreuil à partir de la forme du miroir (A) et de la silhouette corporelle (B) et évolution de la ramure du brocard au cours de sa croissance (Montané 2003)

3) Habitat et Comportement alimentaire

Le chevreuil est un animal doué d'une forte plasticité écologique. A l'origine plutôt forestier, ses grandes capacités d'adaptation lui permettent d'occuper tous les milieux. On le rencontre aujourd'hui de la côte méditerranéenne aux pays scandinaves (Aulagnier et al. 2010), aussi bien dans les grandes plaines agricoles où le boisement est faible que dans des forêts d'essences variées ou en montagne jusqu'à plus de 2000 m d'altitude. C'est un animal de lisière qui se plaît en particulier dans des paysages de polyculture occupés par l'homme, qui alternent forêts morcelées, haies, taillis et espaces ouverts. Depuis les années 70, on observe aussi la colonisation de grands milieux agricoles, probablement à cause des modifications du paysage et de l'explosion démographique de l'espèce (Marchal 1998).

Contrairement au cerf, le chevreuil a un comportement alimentaire très sélectif de type cueilleur, privilégiant les parties végétales digestes et énergétiques tels les bourgeons, feuilles et jeunes rameaux (Delorme et al. 2007). Généraliste, il consomme toutefois une grande diversité d'aliments

dont le choix est essentiellement basé sur la disponibilité (Collin 1992). La part principale de son alimentation est constituée des parties tendres des aliments semi-ligneux et ligneux : lierre, ronce, aubépine mais aussi certaines pousses d'arbres d'essences variées (chêne, charme, orme, sapin, noisetier...). La part de végétaux herbacés varie avec la disponibilité et en particulier la saison, avec une diminution pendant l'hiver (fig.4). Il consomme enfin des écorces, champignons, glands et graines cultivées dans une proportion non négligeable et particulièrement durant l'automne et l'hiver (Tixier et al. 1996). Les fruits forestiers et les graines cultivées par l'homme peuvent être consommées en grande quantité (Abbas et al. 2011). Les gagnages de prédilection sont les clairières, les coupes, les haies et lisières où les conditions d'ensoleillement procurent des aliments à forte valeur nutritive (Andersen et al. 1998).

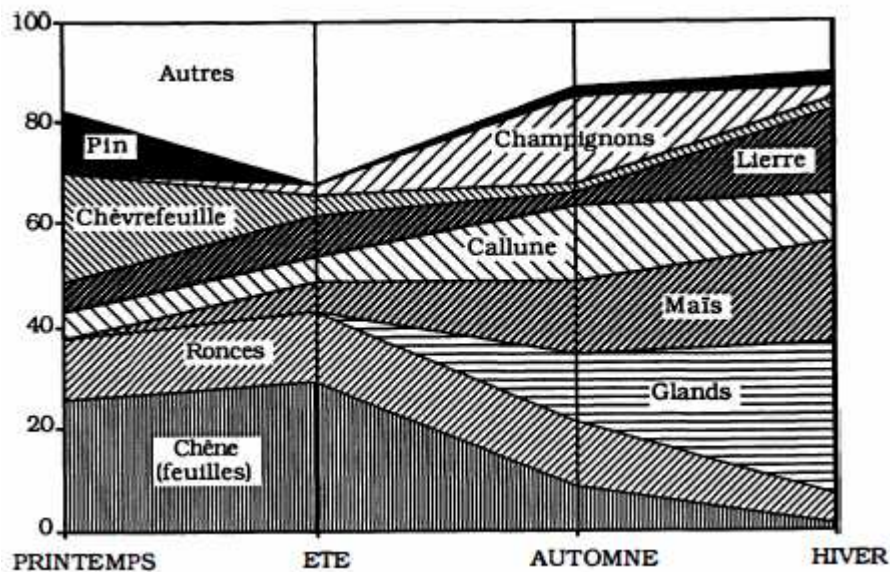


Fig. 4 : Variations saisonnières du régime alimentaire du chevreuil dans la forêt des Landes, obtenues à partir d'analyse de contenus stomacaux (Maizeret et al. 1984)

Le rythme d'activité du chevreuil est dit polyphasique avec un cycle journalier présentant 6 à 12 phases d'activité. Les deux principales ont lieu au lever du jour et à la tombée de la nuit.

4) Organisation sociale et spatiale

Le chevreuil est une espèce sédentaire, où mâles et femelles occupent un domaine vital dont la taille varie selon l'environnement. Si les domaines vitaux sont assez réduits en milieu forestier, avec des surfaces de 30-40 ha, ils sont beaucoup plus étendus dans les paysages agricoles ouverts et peuvent alors s'étendre sur 100 à 150 ha.

La densité est très variable selon les territoires en fonction du paysage, du climat, des ressources alimentaires mais aussi du dérangement humain, de la concurrence interspécifique et de la prédation. On compte entre 2 à 20 animaux pour 100 ha, exceptionnellement plus.

D'un naturel peu grégaire, les animaux vivent généralement seul ou en petit groupes dans la plupart des milieux (Hewison et al. 2001). La cohésion sociale varie au cours de l'année : plutôt faible à la belle saison, elle a tendance à s'améliorer durant l'hiver. A cette saison, des hardes de 4 à 10 individus se forment autour de la chevrette et de ses jeunes de l'année. On peut même observer des regroupements en hardes de 20 à 30 animaux dans les grandes plaines agricoles. Au printemps et en été, les brocards sont très territoriaux et défendent farouchement leur territoire, marqué grâce à leurs glandes olfactives : glandes frontales entre les deux bois, glandes

métatarsiennes sur les pattes postérieures sous les jarrets, glandes interdigitales principalement sur les pattes postérieures (Geist 1998). Les femelles n'ont quant à elles pas de territoire strict et se déplacent avec leurs jeunes de l'année passée sur leur domaine vital qui peut chevaucher les territoires de plusieurs mâles (Bramley 1970). Le sevrage a lieu en avril, juste avant la mise bas suivante. La plupart des jeunes animaux sont chassés de leur territoire de naissance et recherchent un domaine personnel durant une période erratique variant de 6 mois à un an. Ce phénomène, appelé dispersion, varie selon de nombreux facteurs tels que l'ouverture du paysage, la densité locale de chevreuils, le sexe de l'animal mais aussi ses traits comportementaux. Une variabilité interindividuelle du comportement de dispersion a en effet été mise en évidence chez le chevreuil (Debeffe 2013).

Les chevreuils de plaine ont la particularité de constituer des groupes de tailles importantes pouvant atteindre plusieurs dizaines d'individus, essentiellement durant l'hiver. Ce grégarisme permet une meilleure utilisation des ressources et constitue un moyen de défense amélioré (vigilance partagée entre les individus) dans ces espaces très ouverts. Le domaine vital de l'animal peut alors monter jusqu'à plusieurs centaines d'hectares.

Au final, l'organisation spatiale et sociale du chevreuil est très sensible aux variations de ressources alimentaires et de densité d'animaux et la population s'adapte en permanence à son environnement.

5) Reproduction

La maturité sexuelle est atteinte dès l'âge de 14 mois chez les mâles alors qu'elle n'apparaît qu'à 2 ans chez les femelles (Collin 1992). L'âge de la première mise bas est toutefois dépendant des ressources alimentaires (Gaillard et al. 1992). Le rut a lieu de mi-juillet à mi-août. L'une des grandes particularités de la reproduction du chevreuil est que suite à la fécondation, l'embryon ne s'implante pas immédiatement dans l'utérus et va passer plusieurs mois en dormance dans la cavité utérine. Ce phénomène d'implantation différée de l'embryon ou diapause embryonnaire ne se retrouve chez aucun autre artiodactyle mais est observé chez d'autres mammifères très divers : le tatou, l'ours, la martre, la fouine, le blaireau, certaines chauve-souris ou bien encore les phoques (Drion et al. 2003). La période d'implantation différée dure environ 150 jours (jusqu'en décembre) et la gestation proprement dite environ 144 jours jusqu'à la mise bas au mois de mai (Aitken 1974).

La seconde particularité réside dans la nature mono-œstrienne de la femelle, qui ne se retrouve que chez une seule autre espèce de cervidé : le femelle du cerf de Duvaucel (*Cervus duvaucelii*, (Drion et al. 2003). Un seul œstrus survient durant la saison de reproduction et en cas de non fécondation, aucune gestation n'est possible. D'autant plus que la période d'acceptation par la femelle est courte, avec tout au plus deux jours (Fichant 2013).

Certains ouvrages rapportent la possibilité d'un rut second en octobre-décembre en cas de non fécondation, avec une implantation directe dans ce cas de figure (Roucher 2008). Toutefois, ce phénomène semble peu probable. En effet, des analyses des tubes séminifères de brocards ont montré une absence de spermatogenèse dès l'automne ce qui rendrait un tel comportement sexuel parfaitement inutile (Blottner et al. 1996).

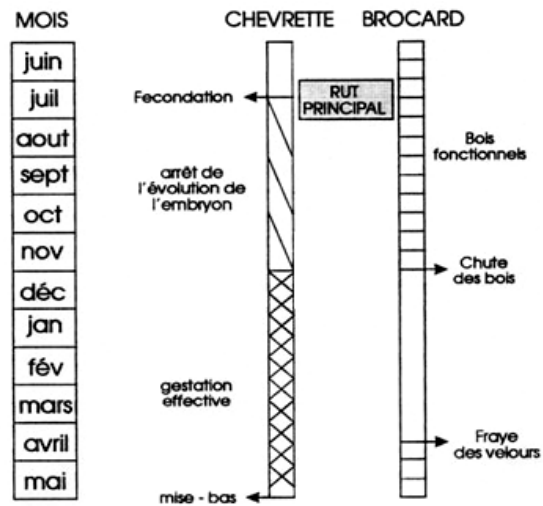


Fig. 5 : Cycle annuel de reproduction chez le chevreuil

Particulièrement territoriaux pendant le rut, les brocards s'accouplent en général avec plusieurs femelles qui parcourent leur territoire mais il arrive aussi qu'une femelle s'accouple avec plusieurs mâles. La femelle donne naissance à 1 à 3 faons au mois de mai-juin. Les naissances sont très synchronisées, avec 80% des mises bas ayant lieu sur trois semaines (Delorme et al. 2007). Si la majorité des portées compte des jumeaux, la prolificité dépend beaucoup de la condition corporelle des femelles et des ressources alimentaires. Les plus légères mettent bas un seul petit, alors que les triplés sont plus courants les années fastes en termes de ressources (Gaillard et al. 1993). La densité d'animaux influence aussi beaucoup les capacités de reproduction, avec une diminution de la natalité lorsque la densité est trop élevée (Vincent et al. 1995). Les faons sont allaités jusqu'en automne mais débutent une alimentation mixte très rapidement dès le mois de juillet. Le chevreuil a un comportement de type « hider » : le petit est laissé sans surveillance dans un endroit avec un fort couvert végétal, en général une prairie, un champ ou un bosquet, pendant que la femelle va s'alimenter. Elle vient nourrir les petits 6 à 10 fois par jour puis la fréquence diminue avec l'âge. Lorsque la portée compte plusieurs petits, ils sont en général éloignés les uns des autres (Collin 1992; Debeffe 2013). Les petits ne fuyant pas à l'approche d'une menace, ce comportement entraîne une forte mortalité au printemps lors des fauches. Les faons ne sont en permanence avec leur mère qu'après le rut et passent l'hiver avec elle.

C'est durant cette première année que la mortalité est la plus élevée à cause de la prédation, des accidents avec les machines agricoles dont nous avons parlé et des maladies et famines durant une sécheresse estivale ou un hiver rigoureux (Delorme et al. 2007). Le taux de survie des faons varie de 30% à 85% selon le printemps de naissance.

6) Interactions avec les activités humaines

Le chevreuil européen peuple quasiment toute l'Europe de l'Ouest, de la Méditerranée aux pays scandinaves.

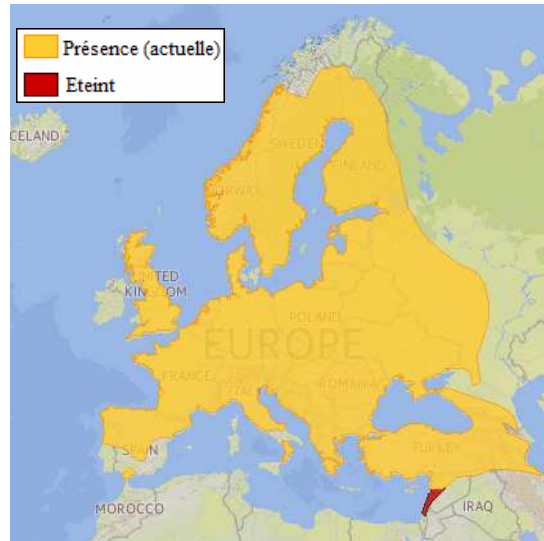


Fig. 6 : Aire de répartition de *Capreolus capreolus* en 2015
(d'après UICN : Lovari 2008)

La population en France est en expansion constante depuis les années 70. L'effectif français était alors considéré comme insuffisant et une politique de protection a été menée pour favoriser l'expansion de l'espèce. Evalué à au moins 1,5 million d'individus en 2013, l'effectif de chevreuil a été multiplié par plus de 3 en une vingtaine d'années, témoignant de l'efficacité des mesures mises en œuvre (ONCFS Réseau Ongulés Sauvages 2013). Cette hausse démographique, associée à celle d'autres espèces comme le cerf et le sanglier, eux aussi en expansion, cause aujourd'hui des troubles de plusieurs ordres.

Si le chevreuil n'est pas connu pour causer des dégâts aux cultures agricoles, même s'il consomme quelques semis ou céréales à certaines périodes de l'année, il pose en revanche des problèmes sylvicoles à la fois économiques et écologiques. Les pertes sont liées à des dégâts par abrutissement et par frottis, essentiellement sur les arbres atteignables par l'animal, c'est-à-dire les jeunes pousses de moins de 1m10 de hauteur (Fichant 2013). Le régime alimentaire de l'espèce conduit à une sélection des jeunes pousses d'arbres, en particulier des bourgeons terminaux. La pression d'abrutissement qui en résulte est problématique dans les plantations ainsi que pour certaines essences forestières sensibles (Ballon et al. 1999). Les dégâts par frottis sont le fait des brocards qui, soit lors du marquage du territoire (grâce aux glandes intercornales), soit en essayant de se débarrasser des velours (frayure), occasionnent un écorçage provoquant bien souvent la mort de l'arbre à moyen terme (Aizeret et al. 2002; Houis 2011). L'association des deux compromet parfois de grandes surfaces de forêts sensibles (Ballon et al. 2005).

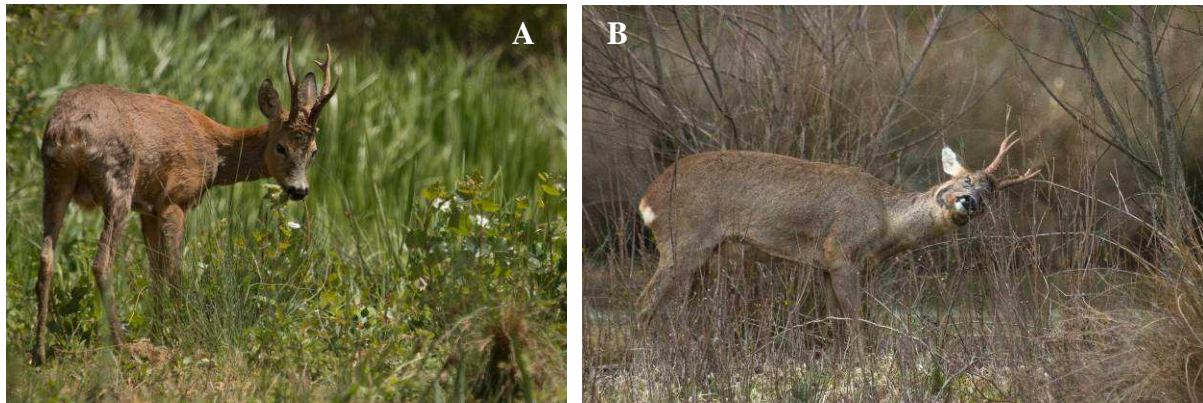


Fig. 7 : Abroutissement d'un brocard sur de jeunes plants d'aulnes (A) et fraye lors de la perte des velours sur de jeunes pousses de noisetiers (B) (Photographies personnelles)

La présence d'une forte population va aussi de pair avec une augmentation du nombre de collisions routières, notamment avec le développement croissant des infrastructures de transport routier. Le nombre de collisions de voitures avec les chevreuils est estimé ainsi à plus de 16000 par an en France, chiffre basé sur des estimations à partir de données collectées localement (Vignon et al. 2008).

Enfin, le chevreuil est source de préoccupations en terme d'épizooties. C'est l'un des animaux sauvages que l'on observe le plus souvent au contact du bétail. Cette proximité est problématique au point de vue sanitaire, les chevreuils pouvant être porteurs de nombreuses maladies infectieuses (brucellose, tuberculose, fièvre aphteuse, fièvre Q ...) et parasitaires (fasciolose, strongylose, bronchite vermineuse, babésiose ...) transmissibles au bétail ou à l'homme. Ils jouent aussi un rôle majeur dans la dynamique des populations de tiques et des parasites qu'elles hébergent comme l'anaplasmose, la borréliose de Lyme ou l'erlichiose (Kiffner et al. 2010). Les maladies, notamment parasitaires, apparaissent lors de déséquilibres entre la densité d'animaux et les capacités de l'habitat. Une corrélation positive a ainsi été observée entre l'infestation par les tiques et la densité d'animaux (Vor et al. 2010). Il est cependant important de souligner que malgré les critiques dont il est parfois la cible, le rôle du chevreuil dans l'épidémiologie des principales maladies infectieuses n'est pas établi. Il est ainsi considéré comme marginal dans l'épidémiologie de la tuberculose bovine, qui est actuellement l'un des soucis sanitaires principaux de la filière d'élevage bovin (Delahay et al. 2007; Hars et al. 2012).

Face à ces enjeux liés à l'explosion démographique, une politique de limitation de la prolifération est menée, en particulier en augmentant chaque année les plans de chasse de l'espèce, malgré des difficultés à les réaliser chaque année (fig.8). Pour limiter les dégâts, certaines pratiques sylvicoles (maintien d'une végétation d'accompagnement, aménagements spécifiques, moyens de protection individuelle des pousses, répulsifs chimiques...) ou aménagements (création d' « écoduc » = passage faune sauvage sur les grands axes, aménagements des bords de route...) peuvent être réalisés (fig. 9).

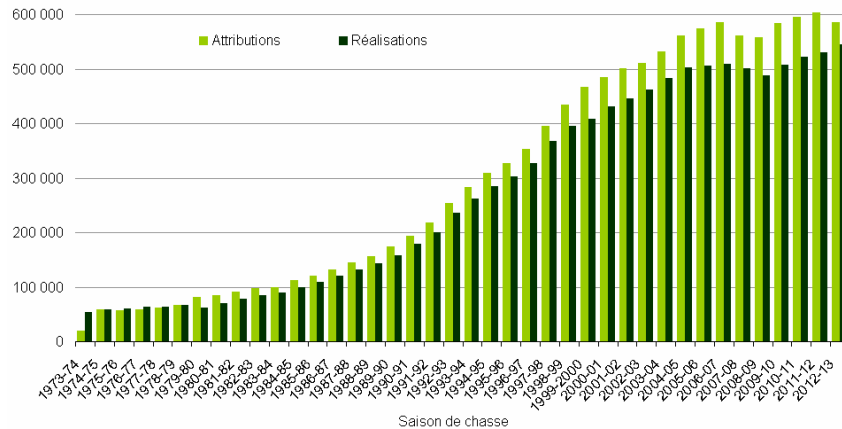


Fig. 8 : Evolution des tableaux de chasse nationaux pour le chevreuil en France entre 1973 et 2013, hors parcs et enclos (source : réseau national ongulé sauvages ONCFS/FNC/FDC)

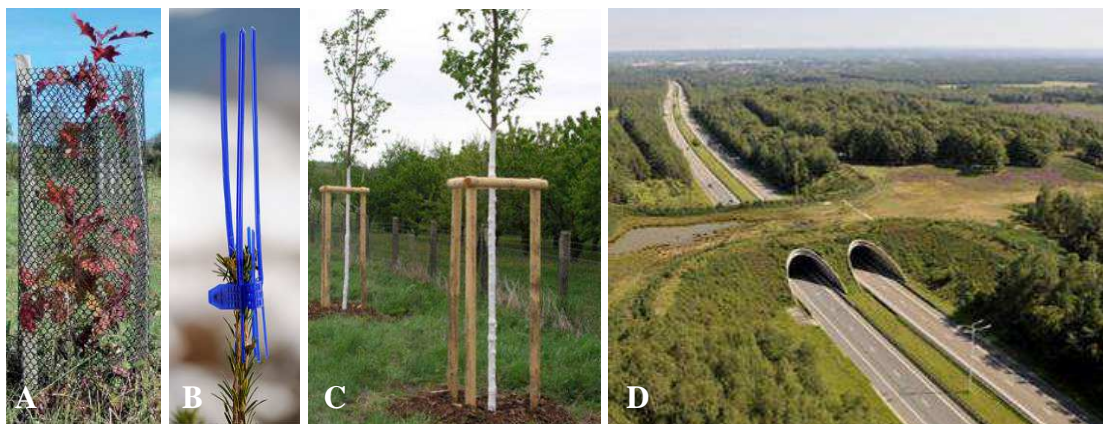


Fig. 9 : Aménagements mis en œuvre face aux dégâts imputés au chevreuil : protection contre l'abrutissement (A et B), les frottis (C) et « écoduc » (D)

(sources : A: Van Lerberghe (2014), B: www.sintagro.ch, C: www.hortima.ch, D : www.7sur7.be)

Afin de gérer au mieux les populations, des méthodes de suivi de l'espèce ont été développées à travers la création d'indicateurs facilement observables sur le terrain et décrivant l'interaction entre la population et son habitat. Ces indicateurs de changement écologiques (ICE) permettent d'apprécier les changements d'effectifs d'animaux selon l'habitat et les ressources (Morellet 2008). Mais ces indicateurs sont limités aux fluctuations d'abondance, de condition physique et de pression sur la végétation.

La gestion de ces populations nécessite aussi de comprendre les variations de ces indicateurs écologiques et la réponse des populations aux actions de gestion afin d'anticiper les évolutions futures. Il apparaît de plus en plus clairement qu'il existe une grande variabilité de comportement entre individu et qu'il est essentiel de comprendre cette variabilité pour expliquer et prédire la dynamique des populations. Par exemple, certaines parties de la population pourraient être plus sensibles à la pression de chasse, ou être plus à risque en terme d'exposition aux pathogènes. En effet, selon leur profil individuel, les individus seraient plus ou moins adaptés aux environnements anthropisés et donc plus ou moins stressés selon leur lieu de vie. Le stress étant parfois à l'origine d'une immunodépression, ces individus seraient aussi plus sensibles aux pathogènes. Actuellement, un intérêt croissant est porté à la façon dont les individus réagissent aux situations stressantes auxquelles ils sont confrontés afin de prévoir les impacts vis-à-vis des activités humaines. Notre projet, qui s'intéresse au stress et aux capacités individuelles des animaux à y répondre, s'inscrit dans ce cadre.

II. Le stress, généralités et différences interindividuelles

Le terme de stress, bien que très couramment employé, reste une notion floue et complexe. Il convient donc d'en détailler en premier lieu les définitions et concepts.

1) Définitions et concepts généraux

a. Le stress, une définition en évolution constante

Le stress a commencé à être étudié chez l'animal il y a pratiquement une centaine d'années, d'abord chez les animaux de laboratoire et de rente, puis chez la faune sauvage, dans le cadre de programmes de transferts et de réintroductions. Dès les années 30, Cannon puis Selye envisagent le stress comme à une simple réponse réflexe face à des agents potentiellement nuisibles, avec des réactions physiologiques communes à toutes les agressions. Ils mettent en évidence plusieurs mécanismes physiologiques intervenant dans cette réaction (Cannon 1935; Selye 1939). La réponse a lieu en trois temps : une phase d'alarme courte et intense, identique chez tous les individus quel que soit l'agent stressant ; une phase de résistance, qui peut durer plusieurs semaines et correspond à une intensification de la mobilisation énergétique de l'organisme qui doit soutenir l'effort dans le cas où la situation perdure ; et enfin, si la menace persiste, une phase d'épuisement, qui marque la fin de la résistance et l'abandon lorsque l'organisme n'est plus capable de s'adapter (Boudarene et al. 1997).

Toutefois, des études ultérieures ont permis de mettre en évidence les limites de ce modèle, en particulier des modulations de la réponse, tant au niveau neurobiologique qu'au niveau comportemental. L'individu ne subit pas passivement les événements imprévisibles qui jalonnent sa vie mais les affronte. Sa réponse ne se limite donc pas à un simple réflexe. L'ensemble des efforts cognitifs et comportementaux déployés par l'individu pour maîtriser, réduire ou au moins tolérer la perturbation est résumé sous le terme de « coping » (Lazarus et al. 1984).

Afin de prendre en compte ces variations dans la réponse mise en place, la perception du stress a évolué. Depuis quelques années est apparu le concept d'allostase (McEwen et al. 2003), terme faisant référence au maintien de la stabilité de l'organisme, c'est-à-dire de l'homéostasie, face aux changements de l'environnement. Les réactions de stress, multiples, n'ont pas pour seul but de revenir à l'état initial ou de maintenir constantes les différentes variables biologiques mais visent aussi à les modifier pour un ajustement aux contraintes environnementales constamment renouvelées. McEwen et Wingfield donnent les exemples de la vache laitière et des oiseaux migrateurs. Bien qu'ils nécessitent des changements physiologiques et comportementaux majeurs, les événements prévisibles que constituent la lactation et la migration ne menacent pas l'homéostasie de l'animal, car son profil évolue. C'est ce point que prend en compte la notion d'allostase (McEwen et al. 2010).

Cette conception du stress est encore aujourd'hui contestée, et des modèles dérivés plus complexes sont proposés, permettant d'expliquer les modulations observées dans les réponses aux stressants (Romero et al. 2009).

Au final, si tout le monde comprend et utilise le mot « stress », lui donner une définition définitive paraît difficile. Nous resterons sur la définition suivante : le stress est la réponse de l'organisme à une menace, réelle ou imaginaire, qui provoque une altération de son allostase.

Afin d'éviter les confusions, il convient aussi de bien distinguer les concepts désignés par le terme de stress. Il peut faire référence aux stimuli auxquels l'animal est exposé, à la réponse adaptative de l'individu à ces stimuli, qu'elle soit physiologique ou comportementale, ou bien encore aux conséquences néfastes pouvant apparaître à la suite de telles situations et qui sont à l'origine de pathologies (Romero 2004). Nous qualifierons les stimuli à l'origine du stress de l'animal de « stressseurs ». Le « stress » sera lui réservé à la qualification de l'état de l'animal qui a perçu une menace pour son organisme, quelle que soit la réponse physiologique initiée. Enfin le terme anglais « distress » est souvent utilisé dans la littérature pour se référer aux effets pathologiques parfois engendrés dans des situations particulières de stress (Moberg et al. 2000) comme nous le verrons plus loin.

b. Les sources de stress

Les sources de stress, que nous appelons « stressseurs », sont très variables, tant aux niveaux des exemples que des caractéristiques : durée, intensité, répétition.

Une première classification les sépare en stressseurs intrinsèques et stressseurs extrinsèques (Reeder et al. 2005). Les stressseurs extrinsèques, qui viennent en premier à l'esprit sont les stressseurs externes à l'organisme liés aux interactions de l'animal avec son environnement. Ce sont par exemple la prédation, le dérangement par l'homme ou bien les relations sociales entre individus (qu'elles soient conflictuelles, reproductrices ou autre). L'environnement peut aussi être une source de stress, en particulier lors de modifications rapides de celui-ci : aléas climatiques, chaleur ou froid excessifs par exemple.

Les stressseurs intrinsèques sont eux internes à l'organisme. Ce sont par exemple les désordres biochimiques (hypoglycémie, anoxie...), physiologiques (liés aux infections, parasitisme ou maladies en tout genre) ou même psychologiques (peur, anxiété).

c. Stress aigu vs stress chronique

Une seconde classification repose sur la durée d'exposition de l'animal face à un stressseur. Cette notion de durée d'exposition est fondamentale pour la compréhension et l'évaluation des effets sur l'animal.

Certains stressseurs, imprévisibles, provoquent une réponse immédiate de l'animal pour faire face à cette perturbation brève dans le temps. Cette réaction ainsi que les facteurs de perturbation sont qualifiés d'aigus.

Si l'animal survit, le stressseur n'entraînera pas de coût énergétique et permet un retour rapide et complet à l'état physiologique de départ (Trevisi et al. 2009). Ce sont par exemple la confrontation avec un prédateur, un conflit social (avec un dominant ou durant le rut), des catastrophes climatiques soudaines (feu, tempête, séisme ...) ou encore un accident sans blessure de l'animal. Dans notre contexte, il peut s'agir de la capture.

Au contraire, d'autres sources de stress, que Wingfield qualifie de directs, sont des perturbations dont la durée, qui va de plusieurs heures à quelques jours, forcent l'individu à modifier son rythme de vie à cause d'une réduction de l'accès aux ressources. Il cite comme exemple les modifications climatiques plus longues (tempête qui dure, sécheresse...), une blessure ou une infection, un changement de statut social ou encore la répétition de stressseurs directs (Wingfield 2013). Ces facteurs ne constituent pas une menace immédiate mais peuvent avoir des conséquences à plus long terme. De la même manière, la répétition modifie aussi de façon importante la réponse au stress et les effets biologiques (Hargreaves 1990).

Dans cette exposition prolongée, soit par la durée, soit par la répétition, l'organisme a des difficultés à s'affranchir de la source de stress et des modifications permanentes de certains paramètres physiologiques apparaissent. Cette maladaptation est qualifiée de stress chronique et peut par exemple s'observer par des modifications marqueurs de performance chez les animaux de rente (Trevisi et al. 2009).

La distinction entre stress aigu et chronique est primordiale pour étudier l'impact de ces situations sur la vie de l'animal.

d. Conséquences sur l'organisme : distress vs eustress

La réaction initiale mise en jeu lors de l'exposition à un stressor peut la plupart du temps être considérée comme bénéfique pour l'organisme, en particulier lors d'un stress aigu. Les effets permettent une amélioration des capacités et une réponse comportementale et physiologique adaptée. Le coût nécessaire à cette réponse est minimal et comblé par les réserves, sans conséquences néfastes par la suite. L'exemple type est la fuite face à un prédateur. On parle alors d'« eustress ».

Mais dans certains cas, la réponse de l'organisme n'est pas adaptée et des effets négatifs peuvent survenir. On parle de « distress ». McEwen et Wingfield parlent eux d'« allostatic overload », c'est-à-dire d'un dépassement des capacités de l'organisme à rétablir l'allostase (McEwen et al. 2003). Ces phénomènes peuvent altérer certaines fonctions biologiques et provoquer des pathologies. L'un des exemples les plus courants est l'altération des fonctions immunitaires, néfaste à long terme pour la survie de l'animal (Moberg et al. 2000). Plusieurs types de situations peuvent en être à l'origine. Un stress aigu d'intensité trop importante ou bien répété au cours du temps peut empêcher l'adaptation de l'organisme, de la même manière qu'un stress chronique auquel l'animal ne parvient pas à s'adapter. Dans certains cas, ces états sont aussi liés à des réponses inadaptées à la situation : intensité démesurée, comme dans les phénomènes d'hypersensibilité, qui constituent des réponses immunitaires démesurées face à un agent extérieur, ou impossibilité de stopper la réponse lorsque le stressor a disparu (Moberg et al. 2000; Trevisi et al. 2009). Quelques exemples sont présentés dans la figure suivante : la présence de bleu clair indique le développement d'une pathologie lorsque les capacités de l'organisme à rétablir l'état initial sont dépassées.

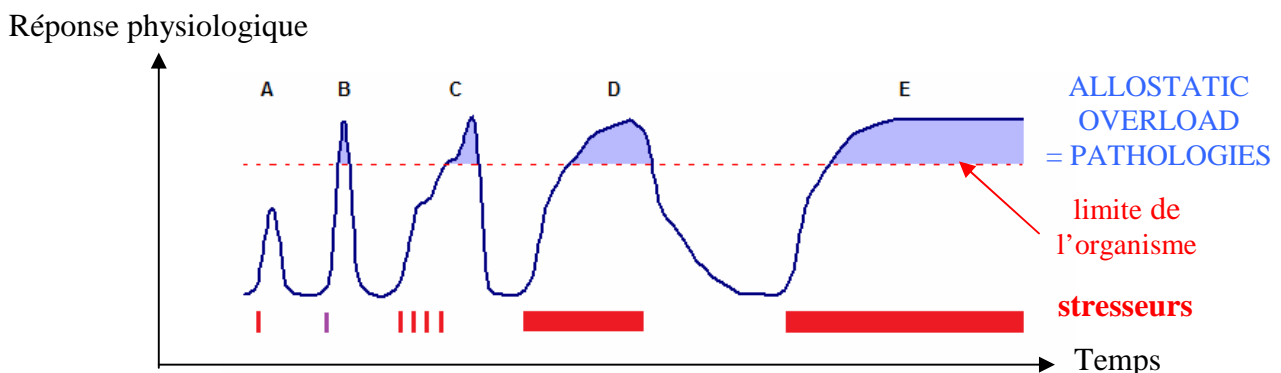


Fig. 10 : Dépassements des capacités de l'organisme à répondre à un stressor : si le cas A n'a pas de conséquence néfaste sur l'organisme, les quatre autres font référence à un épisode de « distress »
 A : réponse normale face à un stressor aigu, B : stressor différent d'intensité plus grande que le précédent
 C : exposition successives au même stressor, D : stressor chronique labile avec adaptation,
 E : stress chronique sans adaptation

e. Cas particulier de la tranquillisation

L'administration concomitante d'un médicament peut modifier la réaction au stress, en particulier lorsqu'il s'agit de tranquillisants, de glucocorticoïdes ou d'anti-inflammatoires. De plus en plus d'études utilisent ces molécules lors des captures dans un but éthique, afin de diminuer le stress lors de la capture, la manipulation ou le transport d'animaux sauvages ou domestiques (Montané et al. 2002; Casas-Diaz et al. 2010; Mentaberre et al. 2010; Seaward 2013).

Au final, si en règle générale, la réaction de stress permet l'adaptation face aux stimuli, des pathologies apparaissent lorsque les capacités à s'adapter sont dépassées. La nature du stressor comme la durée d'exposition influent beaucoup sur la réponse apportée par l'organisme. La dualité stress aigu/stress chronique est particulièrement importante à prendre en compte car les conséquences sur fonctionnement de l'organisme sont très différentes. Cette variation se retrouve ainsi pour l'évaluation des deux formes de stress, qui ne fait pas appel aux mêmes outils (Trevisi et al. 2009), ce qui est fondamental dans notre étude.

De plus, d'autres différences dans la réaction s'observent, y compris au niveau interindividuel.

2) Variabilité inter-individuelle dans la réponse au stress

L'objectif de chacune des réactions mises en jeu lorsque l'animal est exposé à une situation délicate est de permettre l'échappement au stressor auquel il est confronté. Chez l'homme comme chez l'animal, de nombreux facteurs modifient ces réponses.

a. Nature du stressor

La nature du stressor est le premier paramètre influençant de façon importante la réaction physiologique. Il est parfois évident qu'entre deux situations de nature différente, la réaction ne sera pas la même. Prenons par exemple le cas de la réaction d'un animal face à un prédateur et un stressor intrinsèque comme une soif intense. Dans le premier cas, l'animal va fuir ou affronter le prédateur tandis que le second, il va chercher un point d'eau. Cette variabilité de la réponse a été observée dans plusieurs études avec des cas beaucoup moins caricaturaux que notre exemple (Hargreaves 1990). Ce point particulièrement important montre la nécessité, pour l'étude du stress, de porter attention à la nature du stressor et de faire attention à l'extrapolation.

b. Variations entre espèces, races, sexes

L'espèce de l'animal est une importante source de variation. Ainsi les espèces « prédatrices » ont des comportements face au stress très différents des « proies ». Ces différences interspécifiques sont aussi visibles à l'échelle des mécanismes hormonaux. Nous donnerons seulement deux exemples. Le premier est que selon l'espèce, la proportion des différents glucocorticoïdes diffère, et donc les effets aussi (Boonstra 2005). Le second fait référence aux hormones thyroïdiennes. Si l'exposition au froid augmente la production de TSH chez la souris, ce n'est pas le cas chez l'homme chez qui elles diminuent (Moberg et al. 2000).

Mais les différences existent aussi au sein d'une même espèce. Chez le chien par exemple, Corson et al ont observé des réactions physiologiques différentes selon la race de l'animal. Certaines ont des réactions actives déclenchées par le système orthosympathique, tandis que d'autres races, comme les beagles, ont plutôt une activation du système parasymphathique et donc des réactions passives (Corson et al. 1982). En se basant sur ces observations, de nombreux chercheurs ont

étudié l'influence de la génétique sur la réaction au stress et en particulier sur le stress du bétail afin de diminuer leur sensibilité par sélection et ainsi améliorer les performances (Grandin 1997; Moberg et al. 2000). Une part d'héritabilité a été observée pour la docilité et l'agressivité des bovins (Beata 2011).

Le sexe, l'âge et le statut physiologique des individus influent aussi sur la réaction de l'organisme face à un stress (Hargreaves 1990; Morellet et al. 2009).

Enfin, des différences s'observent même entre des individus au sein d'une même espèce, voire d'un même groupe.

c. Variations interindividuelles : influence de la personnalité

Les individus ne répondent pas toujours de la même manière lorsqu'ils sont exposés à une même source de stress. Ainsi, un stressor peut être perçu comme particulièrement éprouvant chez un individu et moins chez un autre. Ils diffèrent souvent dans leur façon d'appréhender le stress et d'y répondre. Chez l'animal comme chez l'homme, certains sont plutôt agressifs, entreprenants et audacieux, d'autres plus soumis, peureux et discrets. Des différences ont par exemple été décrites chez des animaux de statut social différent. Chez des porcs, des carnivores sauvages et des primates soumis aux mêmes stimuli stressants, les animaux de statut différents ne réagissent pas de la même façon (Moberg et al. 2000; Abbott et al. 2003; Creel 2005).

De plus, une certaine constance est rapportée dans ces différences comportementales interindividuelles. Des travaux récents intègrent l'idée de stratégies de réponse, ou « coping styles », différentes selon l'individu, comme pourraient l'être des différences entre deux espèces. Koolhaas définit ces « coping styles » comme « un ensemble cohérent de réponses comportementales et physiologiques au stress, constant au cours du temps et caractéristique d'un groupe d'individus ». En général, deux stratégies principales sont identifiées.

Korte et al utilisent le modèle « Faucon/Colombe » pour les qualifier (Korte et al. 2005). Certains individus, les « faucons » ont un comportement proactif face au stressor et vont fuir ou l'affronter (stratégie « fight or flight »). D'autres quant à eux moins audacieux vont se cacher (stratégie « freeze or hide »). Ce sont les « colombes ». Cette dualité se retrouve dans toute la vie de l'animal et les situations auxquelles il est confronté : exploration, flexibilité, agressivité et occupation du territoire. Face à une même situation, les animaux les plus entreprenants accèdent plus facilement aux ressources mais augmentent aussi les risques de prédation ou de rencontre avec un chasseur. Au contraire, les animaux minimisent le risque en restant en lieu sûr mais disposent de moins de ressources. Le tableau suivant présente quelques points de ces deux types de stratégie.

	« Faucon »	« Colombe »
Stratégie comportementale	« fight or flight »	« freeze or hide »
Stratégie d'adaptation	proactive	réactive
Etat émotionnel	agressif et audacieux	non agressif et prudent
Stratégie territoriale	établir un territoire et le défendre	évitement du danger
Exploration	rapide et superficielle	prudente et minutieuse
Flexibilité comportementale	rigide	flexible
Risque traumatiques (plaies, hémorragie ...)	fort	faible
Métabolisme énergétique (consommation)	fort	faible
Avantage selon les ressources alimentaires	pendant période d'abondance	pendant période de disette
Avantage selon la densité de population	quand densité élevée	quand densité faible

Tab. 1 : Modèle « faucon-colombe » développé par (Korte et al. 2005): des « coping styles » radicalement différents

Ces différences de tempérament s'expliquent par des divergences neurobiologiques, à la fois centrales dans l'intégration des stimuli mais se retrouvent aussi au niveau hormonal. Comme nous le détaillerons par la suite, la réponse au stress fait intervenir plusieurs voies physiologiques : une réponse comportementale, immédiate, et deux voies hormonales distinctes, l'axe corticotrope et l'axe orthosympathique. Certains individus privilégient l'activation de l'axe corticotrope (« Colombes »), d'autres l'axe orthosympathique et ses effets immédiats (« Faucons »). Ceci a été observé chez plusieurs espèces : homme, poissons, poulets et porcs par exemple (Hessing et al. 1993; Koolhaas et al. 1999; Korte et al. 2005). Certains auteurs suggèrent même des différences au niveau génomique avec des remaniements liés par exemple à l'apprentissage (Ellis et al. 2006; Reale et al. 2007). Les principales différences hormonales observées sont présentées dans le tableau suivant.

	« Faucon »	« Colombe »
Hypothalamus (CRF)	Absente	Elevée
Hypophyse (ACTH)	Faible	Elevée
Sensibilité de l'axe corticotrope	Faible	Elevée
Activité de l'axe corticotrope (cortisol et corticostérone)	Faible	Moyenne
Stimulation orthosympathique (NAd)	Elevée	Faible
Sécrétion médullosurrénale (Ad et NAd)	Elevée	Moyenne
Activité parasymphathique	Faible	Elevée

Tab. 2 : Intensité des réponses neuroendocrines lors de stress aigu selon le type de stratégie (Koolhaas et al. 1999; Korte et al. 2005)

(CRF : corticotropin-releasing-factor ; ACTH : adrenocorticotropic hormone ; Ad : adrénaline ; NAd : noradrénaline)

Les variations interindividuelles s'observent bien entendu dans les effets du stress, comme la réaction immunitaire par exemple. Une stratégie proactive soumet l'animal à plus de risque de blessures et d'infections. L'activation préférentielle de l'axe orthosympathique va ainsi permettre une augmentation de la quantité de leucocytes pour répondre à ce risque. A l'inverse, les individus « Colombe » ont une activité exploratoire plus minutieuse que les autres, ce qui les expose au parasitisme. La faible réponse orthosympathique chez ces individus limite l'éosinopénie induite par cette voie et peut donc être considérée comme adaptative (Korte et al. 2005).

Chaque stratégie a ses avantages et ses points faibles et chaque animal a un comportement adapté à des conditions environnementales particulières. En cas d'impossibilité à s'affranchir du stress, des pathologies peuvent apparaître. On peut aussi s'attendre à des prédispositions aux pathologies différentes selon les individus, en fonction de leurs stratégies d'adaptation (Koolhaas et al. 1999). Le choix de ces stratégies est lui-même dépendant de la génétique de l'animal, mais aussi de son vécu et de ses expériences passées. Ainsi, chez les animaux d'élevage, les contacts positifs avec l'éleveur modifient les réactions comportementales et physiologiques (Beata 2011). L'apprentissage et l'habituation sont des phénomènes qui découlent directement de ce constat.

La réaction au stress est donc un phénomène très complexe dont l'expression est sous l'influence d'une multitude de paramètres. Les différences inter-espèces mais aussi interindividuelles se retrouvent à tous les niveaux de la chaîne, depuis l'expression génétique jusqu'aux processus hormonaux et comportementaux. Ces tempéraments ou « coping styles » influent sur l'ensemble des comportements de l'individu mais aussi sur les grandes fonctions vitales : reproduction, croissance, santé, survie, ... (Reale et al. 2007). Par exemple, chez le cerf, le risque de se faire tuer à la chasse varie selon le tempérament des individus (Ciuti et al. 2012). Chez le chevreuil, c'est l'utilisation de l'habitat qui varie selon le tempérament des individus (Bonnot et al. 2014). Connaître le type de réponse au stress, le niveau de stress perçu et les conséquences pour l'individu est donc une des clefs pour comprendre la variabilité du succès individuel dans un environnement donné, et par la suite la dynamique d'une population. Cela nécessite d'étudier à la fois les manifestations comportementales mais aussi de s'intéresser aux paramètres physiologiques de la réponse au stress. La notion de « coping styles » sous-entend que la réponse immédiate d'un individu à un stress aigu, comme une capture, peut être considérée comme une composante de sa capacité de réponse au stress en général. Déterminer des moyens de quantifier la réponse individuelle au stress lors de la capture est alors une façon d'évaluer les capacités globales de réponse d'un animal.

Notre objectif dans ce projet est d'étudier plusieurs paramètres sanguins afin de déterminer leur possible utilisation chez notre modèle d'étude : le chevreuil.

Pour cela, nous allons dans un premier temps détailler les voies de réponse au stress ainsi que leurs effets biologiques sur l'organisme afin de déterminer quels paramètres sont susceptibles d'être utilisables par la suite.

III. Le stress : approche physiologique

1) Physiologie générale de la réponse

Nous détaillerons ici la physiologie générale du stress, sans approfondir les différences interindividuelles pouvant exister à chaque niveau.

Le système nerveux central joue un rôle prépondérant dans l'adaptation et la réponse au stress. Le déroulement physiologique de la réponse non spécifique adaptative à un « stressor » se fait en trois temps. L'animal perçoit d'abord le stimulus, externe ou interne, menaçant potentiellement son allostase interne. Le système nerveux l'analyse et évalue la menace, puis initie la réponse à travers une combinaison de plusieurs voies physiologiques de défense. Que ce stimulus soit une menace réelle ou qu'il soit perçu comme tel n'a pas d'importance (Moberg et al. 2000). La réaction biologique de défense de l'organisme fait intervenir parallèlement plusieurs mécanismes métaboliques, immunologiques, neuroendocrines et comportementaux. L'hypothalamus en est un organe clé, assurant la transmission entre les informations recueillies par le cortex et le système limbique et les signaux efférents transmis aux différents systèmes effecteurs.

a. Perception et intégration d'un stimulus stressant

La première étape consiste à percevoir une menace environnementale par l'ensemble des organes sensoriels. Les sens primaires (vue, ouïe, toucher, odorat, sensation thermique...) permettent de détecter des facteurs externes mais il existe aussi de nombreux sens internes qui transmettent des informations au cerveau et constituent aussi des stimuli stressants : sensation de faim, acidose et douleur viscérale par exemple (Seaward 2013).

Ces sensations sont intégrées par le système nerveux central, au niveau du cortex et du système limbique, qui associe plusieurs zones cérébrales : amygdale, bulbe olfactif, hippocampe, corps mamillaire... Une analyse comparative y est réalisée entre les perceptions et les expériences passées, afin de déterminer la menace et les réponses à mettre en place pour l'affronter. Ce système complexe, que nous ne détaillerons pas ici, fait à la fois appel à des procédés involontaires mais aussi à la pensée consciente. C'est à ce niveau que la mémoire et l'apprentissage sont capables de modifier les réactions, en particulier chez l'homme, chez qui le tissu cérébral est extrêmement développé.

Le système limbique traite donc l'information et détermine l'ampleur de la menace auquel il est exposé. La réponse de l'organisme est ensuite déclenchée par l'amygdale et l'hippocampe par l'intermédiaire de l'hypothalamus. Ce dernier est un organe situé au cœur de l'encéphale. Il est en relation avec toutes les régions du système nerveux central et constitue un carrefour entre les informations afférentes sur la menace et les réactions mises en place.

C'est un réseau complexe de neurones qui reçoit, comme nous l'avons vu précédemment les informations concernant l'environnement par l'intermédiaire des organes sensoriels et des organes viscéraux. Il peut être subdivisé en 3 parties dont deux forment un réseau avec le tronc cérébral et le télencéphale, et exercent un contrôle sur certains comportements. La 3^{ème} partie, appelée zone périventriculaire, est composée de plusieurs types de cellules nerveuses et reçoit des afférences nerveuses des deux autres régions. Certaines cellules de cette zone contrôlent le système nerveux autonome orthosympathique tandis que d'autres exercent un contrôle sur l'hypophyse. La formation réticulée n'agit elle que sur le système nerveux orthosympathique (Rycajal 2011).

Lors de l'exposition de l'animal à un stress, plusieurs voies physiologiques peuvent être activées par l'hypothalamus.

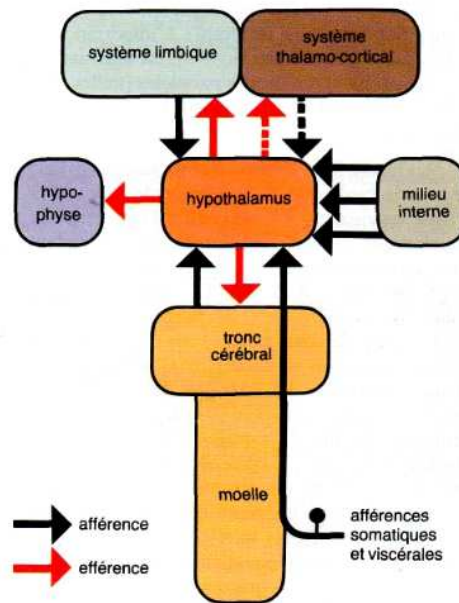


Fig. 11 : L'hypothalamus, organe central de la réponse au stress (Rycajal 2011)

b. Plusieurs voies de réponse face aux stimuli stressants

Après intégration par le système nerveux central, plusieurs mécanismes physiologiques sont activés. La combinaison de ces mécanismes constitue la réponse physiologique de l'organisme face au stress auquel il est soumis. Moberg définit quatre grands types de réponse biologiques (Moberg et al. 2000). La première ligne de défense de l'animal est le comportement. Mais d'autres axes physiologiques sont mis en jeu. Si les deux axes principaux, l'axe orthosympathique et l'axe corticotrope, sont particulièrement bien connus, ils en existent plusieurs autres.

i. Une réponse comportementale

Les modifications comportementales sont les plus perceptibles lors de l'exposition à un stress aigu. On imagine rapidement un animal cherche à s'affranchir de la menace, par exemple en fuyant face à un prédateur, ou en cherchant l'ombre par temps chaud.

Les mécanismes cérébraux et neuroendocrines contrôlant la réponse comportementale sont extrêmement complexes et font appel à la mémoire, à l'apprentissage et aux expériences passées (Moberg et al. 2000). Nous ne les détaillerons pas ici.

La situation de stress engendre une exacerbation de la vigilance et de l'état émotionnel. Les comportements qui s'en suivent sont souvent désordonnés et irréfléchis. On observe même parfois un état de panique avec des réactions totalement inefficaces.

Classiquement, les expositions d'animaux à des stressseurs aigus comme une capture, sont suivies de modifications posturales, d'une fuite ou d'un affrontement, d'une augmentation de la vigilance, de vocalisations ou bien encore d'une diminution du comportement alimentaire (Moberg et al. 2000; Trevisi et al. 2009). Les stress de nature chronique sont eux plutôt à l'origine de comportements stéréotypés, anormaux ou d'inhibition de la reproduction (Trevisi et al. 2009).

Le comportement varie aussi au cours du temps après un épisode stressant. Chez le chevreuil par exemple, la première réaction à la capture est en général la fuite et la lutte. Puis, une fois le stressseur disparu, les animaux cherchent un refuge qu'ils occupent durant quelques jours (Morellet et al. 2009).

Au final, les comportements exprimés sont extrêmement variables. Bien que faciles à observer et semblant bien refléter les émotions, les interpréter nécessite une connaissance précise de l'espèce étudiée et de son environnement.

ii. Une réponse neuroendocrine : l'axe corticotrope

C'est la première voie à avoir été mise en relation avec le stress. Elle met en jeu trois organes : l'hypothalamus, l'hypophyse et enfin les glandes surrénales. Dès 1939, Hans Selye a observé une augmentation de la taille des glandes surrénales chez des rats préalablement exposés à des sources de stress (Selye 1939). L'anatomie et le mécanisme de ce système sont aujourd'hui bien connus.

L'hypothalamus exerce un contrôle sur l'hypophyse qui est composée de trois parties : les lobes antérieur, intermédiaire et postérieur. Le lobe antérieur constitue une véritable glande et contient des cellules spécialisées dans la production de nombreuses hormones (hormones de croissance, ACTH, TSH ...). L'activation des récepteurs présents à la surface de l'hypophyse conduit les cellules à activer ou inhiber la sécrétion d'hormones dans la circulation générale. Le lobe postérieur maintient un contact avec l'hypothalamus et produit l'hormone anti-diurétique (ADH ou vasopressine) et l'ocytocine. Le 3^{ème} lobe a lui un rôle plus rudimentaire. (Moberg et al. 2000)

Le contrôle de l'hypothalamus sur l'hypophyse postérieure est direct par actions de neurones sécrétoires dit magnocellulaires. L'action sur le lobe antérieur est légèrement plus complexe, avec la libération de neuro-hormones hypophysiotropes dans un réseau de capillaire spécifique dénommé système porte hypothalamo-hypophysaire. Elles agissent dans un second temps sur les cellules endocrines de l'hypophyse (Rycajal).

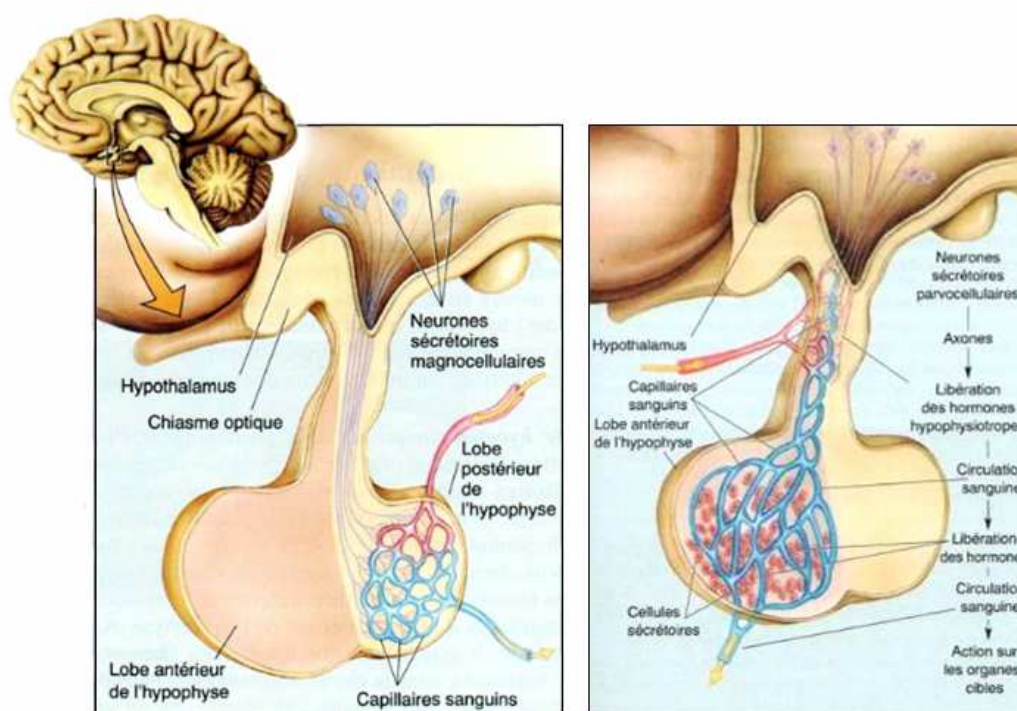


Fig. 12 : Organisation et fonctionnement des deux lobes de l'hypophyse (Rycajal 2011)

Cette association hypothalamus-hypophyse fait intervenir de nombreuses hormones. Le schéma suivant présente les neuro-hormones servant de relais entre hypothalamus et hypophyse ainsi que les différentes hormones produites par les deux lobes de l'hypophyse et leurs organes cibles.

Toutefois toutes n'interviennent pas dans les mêmes conditions, en particulier dans le cas de stress aigu qui nous intéressent ici.

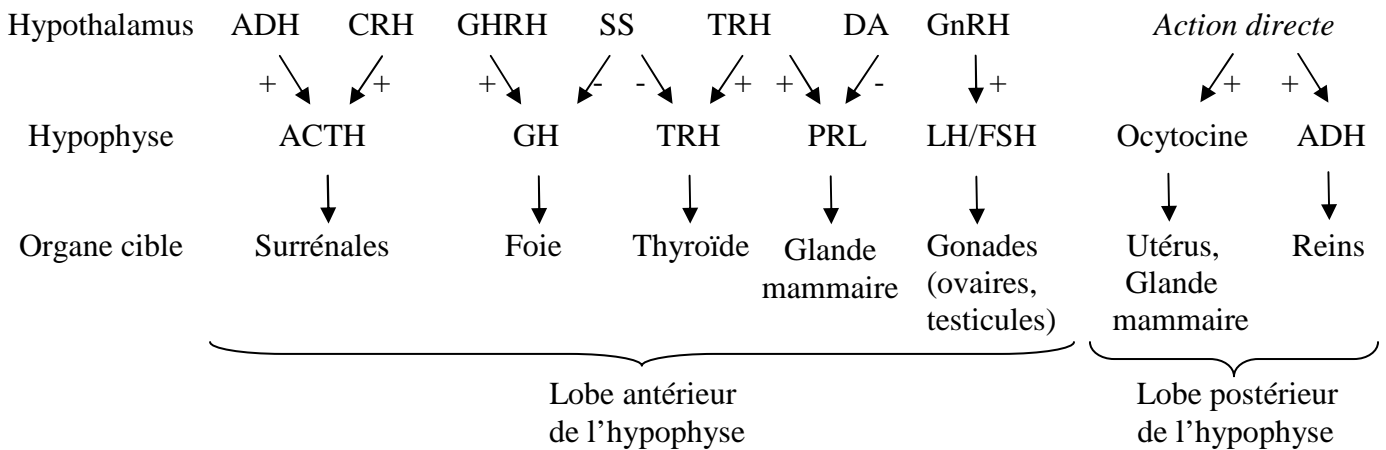


Fig. 13 : Hormones de l'axe hypothalamo-hypophysaire et organes cibles (d'après Moberg et al. 2000)

ADH : hormone anti-diurétique, CRH : corticotrophin-releasing hormone, GHRH : growth hormone-releasing hormone, SS : somatostatine, TRH : thyrotropin-releasing hormone, DA : dopamine, GnRH : gonadotropin-releasing hormone, ACTH : adrenocorticotrop hormone, GH : growth hormone, PRL : prolactine, LH : luteinizing hormone, FSH : follicule-stimulant hormone

Dans le cas de la perception du stress aigu, le cerveau induit une synthèse et un relargage par l'hypothalamus de la CRH (corticotropin-releasing hormone) et d'ADH en moindre mesure, deux neuro-hormones dont les récepteurs sont situés sur la glande pituitaire.

Les deux agissent au niveau du lobe antérieur de l'hypophyse où elles provoquent la libération d'une troisième hormone, l'ACTH (adrenocorticotrop hormone) dans les capillaires sanguins. Ce transfert est extrêmement rapide avec une production d'ACTH au bout de 15 secondes. Il semblerait que la CRH et la vasopressine agissent en synergie, chacune favorisant la production de l'autre et donc la sécrétion d'ACTH. Ceci a été démontré chez plusieurs espèces animales (Minton et al. 1993; Moberg et al. 2000; Tsigos et al. 2002).

L'ACTH agit enfin sur les glandes surrénales via des récepteurs membranaires. Ces glandes, 3^{ème} organe impliqué dans l'axe corticotrope, sont situées crânialement aux reins et sont composées de deux parties : les médullosurrénaltes et les corticosurrénaltes.

Elles sécrètent plusieurs types d'hormones qui dérivent d'un précurseur commun, le cholestérol : les minéralocorticoïdes, les glucocorticoïdes et les hormones sexuelles. Si le rôle des hormones sexuelles produites est limité aux performances reproductrices, il n'en est pas de même avec les minéralocorticoïdes (essentiellement l'aldostérone) et les glucocorticoïdes qui sont essentiels à la survie. Les minéralocorticoïdes régulent l'homéostasie des électrolytes (le sodium en particulier) et des fluides. Les glucocorticoïdes jouent un rôle important dans le métabolisme des glucides, protéines et lipides (Moberg et al. 2000).

Lors d'un stress, la cascade hormonale active fortement la sécrétion de glucocorticoïdes (cortisol et corticostérone) par le cortex surrénalien. Chez la plupart des mammifères, dont l'homme et les ongulés, le cortisol est la molécule la plus synthétisée alors que la corticostérone est le principal glucocorticoïde chez les rongeurs et les oiseaux. Certaines espèces produisent les deux en quantités variables (Boonstra 2005).

Cette réponse par l'axe hypothalamo-hypophysaire-surrénalien est assez rapide à se mettre en place avec une augmentation de la concentration en glucocorticoïdes dès 3-5 minutes après une

source de stress (Sapolsky et al. 2000; Romero 2004; Boonstra 2005; Wingfield et al. 2010; Boonstra et al. 2014).

L'ACTH est considérée comme le régulateur physiologique dominant de la production de cortisol. Toutefois, de nombreuses études ont montré chez l'homme et l'animal que la réalité est plus complexe, avec l'implication d'autres molécules. Il a par exemple été montré chez le veau que la CRH stimule directement les surrénales pour la sécrétion des glucocorticoïdes après retrait chirurgical de l'hypophyse (Jones et al. 1990).

Dans le cas d'une activation aiguë de l'axe corticotrope, plusieurs feed-back s'exercent à différents niveaux de la chaîne pour permettre un retour à un état normal. Lipophile, le cortisol traverse la barrière hémato-méningée et exerce un rétrocontrôle négatif très puissant sur l'hippocampe, l'antéhypophyse et l'hypothalamus mais aussi sur le système limbique (Stewart 2003; Boonstra 2005). Ces rétrocontrôles longs sont complétés par deux autres rétrocontrôles négatifs plus courts : un premier de l'ACTH sur la production de CRH par l'hypothalamus et une régulation autocrine de la CRH sur sa propre production (Mazzucco 2005). Ces mécanismes permettent de lutter contre la durée de l'exposition des tissus aux glucocorticoïdes et ainsi de minimiser les effets délétères de ces hormones à moyen terme. Leur fonctionnement diffère selon la nature et le temps d'exposition de l'animal.

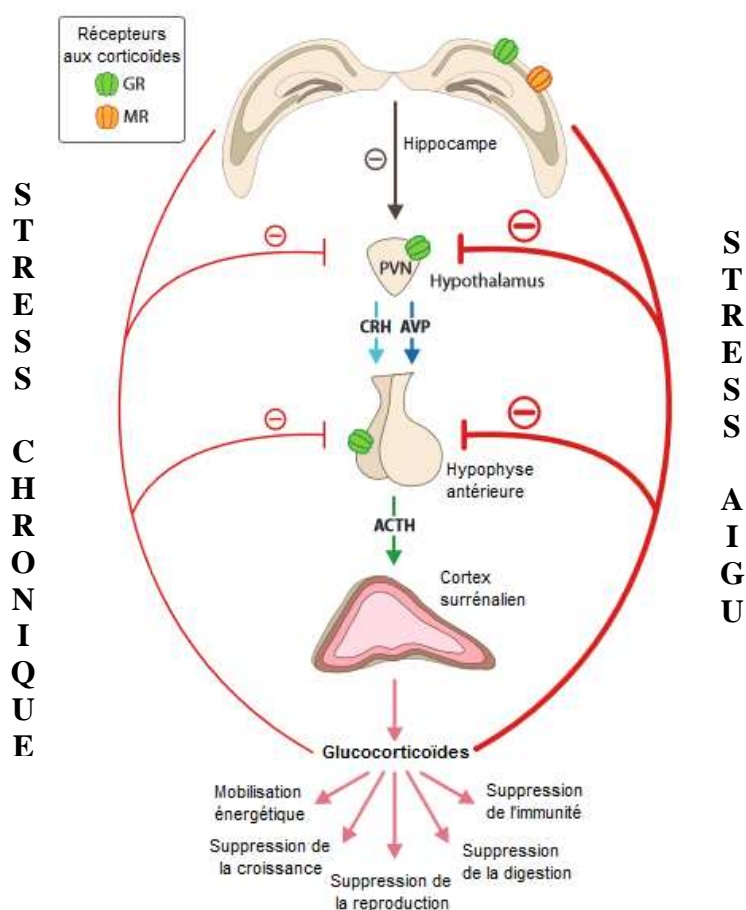


Fig. 14 : Rétrocontrôle négatif de l'axe corticotrope lors de stress aigu et chronique (Boonstra et al. 2014)
(GR : récepteurs aux glucocorticoïdes, MR : récepteurs aux minéralocorticoïdes)

Il est important de noter que la production de corticostéroïdes (glucocorticoïdes en particulier) n'est pas spécifique des situations de stress. Une quantité faible à modérée est produite en permanence par les glandes surrénales pour assurer les besoins de base de l'organisme. Bien qu'ils

soient considérés comme des « hormones de stress », leur rôle primaire est de réguler les échanges énergétiques permanents de l'organisme. Dans des conditions normales, non stressantes, de la CRH et de la vasopressine sont produites de façon pulsatile et à une amplitude variable selon de nombreux paramètres. Cette production suit un rythme circadien et est influencée par la luminosité, l'alimentation et l'activité de l'animal. En situation de stress, ses pulsations augmentent, tant en fréquence qu'en amplitude, ce qui accroît la production de glucocorticoïdes (Horrocks et al. 1990; Tsigos et al. 2002).

Les effets des glucocorticoïdes seront détaillés dans une partie ultérieure.

iii. Une réponse du système nerveux autonome

Bien que présentée en second, cette voie de réponse à un stimulus stressant est la plus rapide à se mettre en place et est impliquée dans la phase d'alerte. Ce mécanisme rapide constitue la réponse « fight or flight » (Wingfield 2005). Le système nerveux autonome est constitué de deux entités : le système parasympathique, plutôt associé aux phases de repos de l'organisme et le système orthosympathique, activé durant les phases d'alerte. Lorsque l'animal ne perçoit aucune menace, le système parasympathique est actif et maintient l'homéostasie de l'organisme. Durant un état de stress, l'action du système orthosympathique devient dominante.

Celui-ci est constitué d'un réseau complexe de neurones qui innervent la plupart des organes. Deux types de neurones sont présents : les neurones adrénergiques sécrétant de la noradrénaline et les neurones cholinergiques sécrétant l'acétylcholine au niveau des synapses effectrices (Reeder et al. 2005).

Les neurones cholinergiques sont issus de la moelle épinière thoraco-lombaire et sous contrôle des centres nerveux supérieurs. Le nerf splanchnique, qui en fait partie, innerve les cellules chromaffines situées dans la médulla des glandes surrénales. Sous son action, celles-ci sécrètent des catécholamines dans la circulation sanguine : adrénaline, noradrénaline et dopamine en moindre quantité. Ces neurones cholinergiques exercent de plus un contrôle sur les neurones adrénergiques postganglionnaires, qui libèrent localement de la noradrénaline au niveau de synapses réparties sur de très nombreux organes.

Les récepteurs membranaires aux catécholamines sont de trois types : α_1 , α_2 et β , différenciés par leur mécanisme intracellulaire. La plupart des cellules du corps ont à leur surface un ou plusieurs types de récepteurs aux catécholamines : α -adrénergiques pour l'œil, les bronches ou la rate ; β -adrénergiques pour le foie, le cœur ou la vessie par exemple.

L'action cumulée de ces deux modes d'action, à distance pour l'adrénaline sanguine et local par des neurotransmetteurs locaux, se traduit par une multitude d'effets physiologiques préparant le corps à des changements métaboliques rapides (Rycajal 2011).

L'effet des catécholamines est quasi-immédiat mais court. Leur temps de demi-vie est de l'ordre d'une minute, à cause de leur catabolisme particulièrement efficace. (Hargreaves 1990). Elles sont éliminées dans les urines sous plusieurs formes, conjuguées ou non. Actuellement, le rôle de la noradrénaline est considéré comme secondaire, vu qu'elle ne représente qu'un sixième des catécholamines relarguées au niveau des synapses (Seaward 2013).

Un schéma simplifié des trajets et ramifications nerveux, ainsi que des principaux organes innervés, est présenté ci-après dans la figure 15.

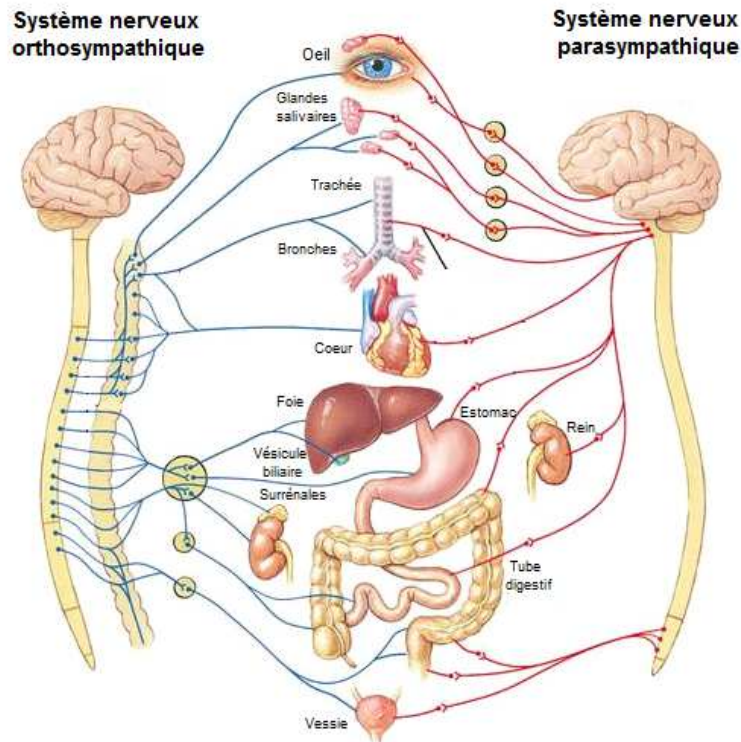


Fig. 15 : Organisation du système nerveux autonome et organes innervés
 (d'après <http://www.8weeksout.com/2011/12/05/heart-rate-variability-research-review/>)

iv. Autres voies hormonales de réponse au stress mises en jeu

Outre les deux voies que nous avons détaillées jusqu'ici, plusieurs autres hormones sont impliquées dans la réaction au stress. La plupart ont pour objectif une mobilisation des ressources pour permettre l'adaptation de l'organisme (Ranabir et al. 2011).

Hormones thyroïdiennes : Comme nous l'avons vu dans la figure 13, sous l'action de l'hypothalamus, l'hypophyse sécrète une hormone agissant sur la thyroïde, la TSH. Cette libération est amplifiée par les catécholamines mais limitée par les glucocorticoïdes. La TSH active à son tour la production d'hormones thyroïdiennes iodées T3 et T4 par la thyroïde (Lapeyrade 2014). Le rôle principal des hormones thyroïdiennes est l'entretien et l'amplification du métabolisme basal. Elles agissent en une multitude d'endroits par l'intermédiaire d'enzymes diverses : augmentation de la synthèse d'ATP, activation de la néoglucogenèse, de la lipomobilisation, croissance des os longs...

Endorphines : De la même manière, l'hypophyse antérieure synthétise des opioïdes endogènes, principalement les β -endorphines. Cette augmentation, semblable à celle du cortisol (Broom 2003) a été observée chez les bovins et les moutons lors de situations variées de stress (Cooper et al. 1995). Ces molécules jouent un rôle antalgique en diminuant la perception de la douleur lors de stress intense, afin d'améliorer la lutte avec un prédateur par exemple. Il semblerait que les opioïdes aient aussi un effet dans l'inhibition de la sécrétion de LH et donc dans la limitation de la fonction de reproduction (Sapolsky et al. 2000), dans les émotions ainsi que la stimulation de l'appétit (Trevisi et al. 2009). Cette sécrétion est détectée moins d'une minute après la soumission de l'animal au stress (Sapolsky et al. 2000).

Autres : D'autres hormones augmentent lors d'épisodes de stress. Il s'agit de la prolactine mais aussi des hormones sexuelles. Ainsi des augmentation de progestérone, mais aussi de testostérone en moindre mesure, ont été décrites chez le chien lors de stimuli aversifs (Beata 2011).

Les réponses au stress sont donc diverses et variées. Par l'intermédiaire de médiateurs, elles modifient le fonctionnement de nombreux organes partout dans l'organisme. Un schéma récapitulatif simple présente les mécanismes de réponse au stress mis en place chez les mammifères.

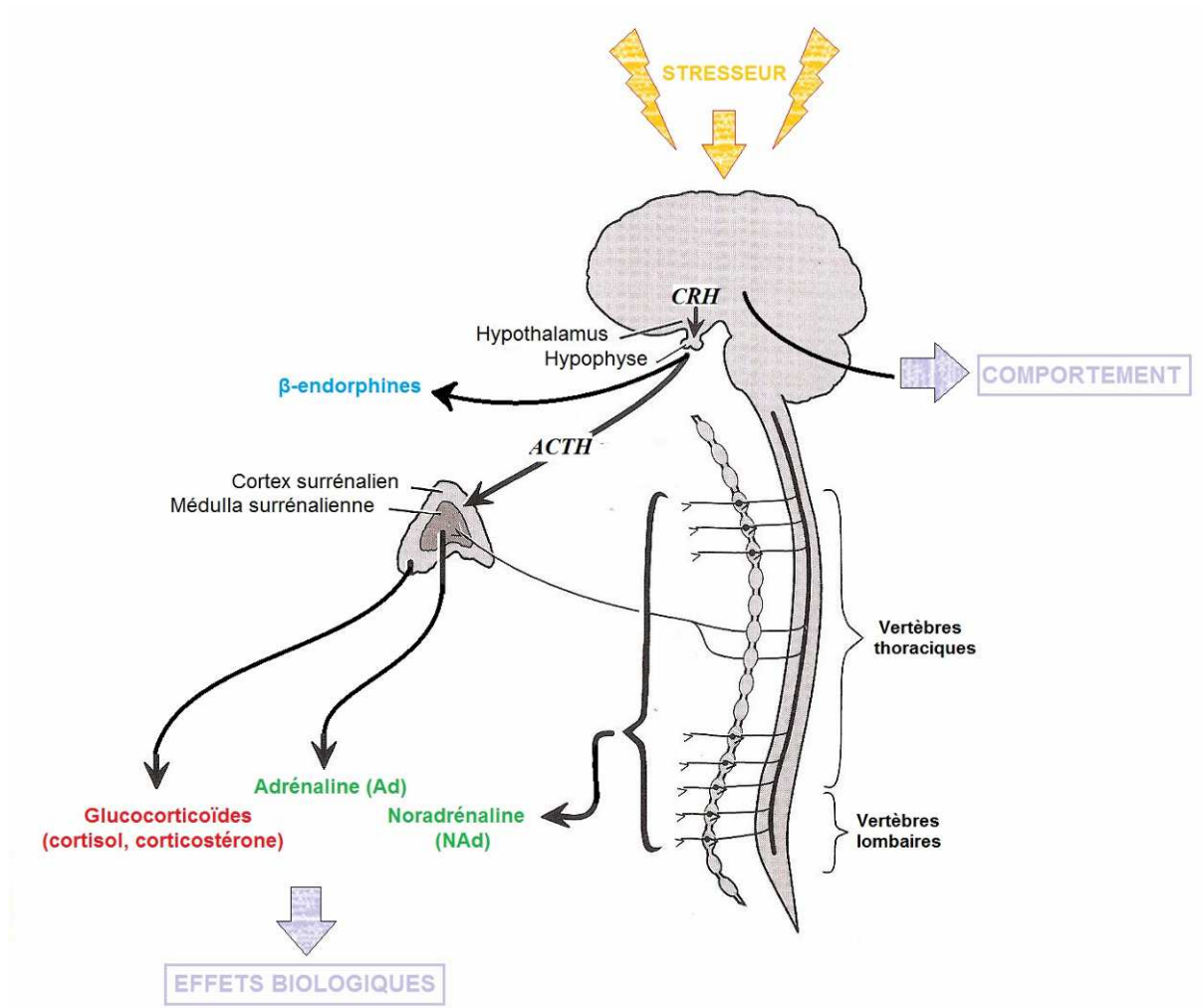


Fig. 16 : Schéma récapitulatif des principaux axes de réponse à un stressueur (modifié d'après Fraser 2013)

2) Effets biologiques sur l'organisme

Suite à l'activation des axes de réaction au stress, les mammifères présentent un large panel de réponses comportementales et physiologiques avec pour enjeu d'améliorer les performances afin d'affronter l'événement et de limiter les fonctions inutiles à court terme : reproduction, digestion, croissance par exemple (Boonstra 2005).

Les variations de certains paramètres cliniques sont facilement perceptibles (hyperthermie, tachycardie, tachypnée). D'autres modifications touchent le fonctionnement de nombreux organes et se répercutent par des changements hématologiques et biochimiques. Il est important de noter que la tranquillisation, utilisée aujourd'hui dans beaucoup de protocoles de capture, a un effet sur le stress ressenti par l'animal et sur beaucoup de ces paramètres.

Nous passerons ici en revue les effets biologiques du stress sur l'organisme, en portant un intérêt particulier aux effets hématologiques et biochimiques. Nous détaillerons au maximum les effets liés à l'acépromazine, tranquillisant utilisé dans notre protocole d'étude.

a. Modification des paramètres cliniques

i. Systèmes cardiovasculaires et respiratoires

Le système cardiovasculaire est le premier à réagir en cas de stress aigu, contrôlé par le système nerveux autonome. Les catécholamines, par l'intermédiaire de récepteurs $\alpha 1$ et β -adrénergiques, entraînent une augmentation de la fréquence et de l'inotropie des contractions cardiaques. Elle agissent aussi sur les vaisseaux périphériques en induisant une vasoconstriction qui redistribue le flux sanguin vers les muscles et le cerveau (Contrada et al. 2010; Beata 2011). L'ensemble de ces effets cardiovasculaire se traduit par une hypertension systémique (Henry 1992).

Si dans la grande majorité des cas, une tachycardie est observée, certains rapportent néanmoins une bradycardie, nommée « bradycardie d'alarme » et observée chez les bovins par action du système nerveux parasympathique, en particulier lorsque l'animal a peur (Broom 2003). Ceci a aussi été détecté chez des faons (Espmark et al. 1979).

De la même façon, le stress provoque chez les animaux une tachypnée qui permet d'améliorer l'apport en oxygène aux cellules musculaires et cérébrales et compense l'acidose métabolique liée à la production musculaire d'acide lactique.

ii. Température corporelle : l'hyperthermie de stress

Dans de nombreuses situations de stress, chez l'homme et l'animal, on observe une augmentation la température corporelle. Cette observation a été effectuée en premier chez les rongeurs, lors de manipulations mais aussi lors de l'exposition à d'autres sources de stress, comme l'isolation des congénères (Lecci et al. 1990; Zethof et al. 1994). La même observation a depuis été réalisée chez plusieurs mammifères dont l'homme, le babouin, le porc, le lapin, les bovins ou encore le renard argenté (Vinkers et al. 2008).

Ce phénomène, communément nommée « hyperthermie de stress », ou stress-induced-hyperthermia (SIH) est observé en l'absence de lutte physique de l'animal lors de la manipulation et même en l'absence de contention. Des renards d'élevage ont montré un pic d'hyperthermie lors de la présence d'une personne qui n'a aucun contact avec eux (Moe et al. 1997). De même, chez l'impala (*Aepyceros melampus*), la hausse de température observée lors de tentatives de capture

avortées est bien plus faible que lors d'une capture réussie (Meyer et al. 2008). Il est donc évident que ce phénomène n'est pas uniquement lié à l'activité motrice mais qu'il intervient lors de stress psychologique ou par anticipation d'un stress à venir (Long et al. 1990).

Même si les mécanismes restent mal connus, il semble que la SIH soit liée à une modification centrale de la thermorégulation liée ici à l'activation des systèmes orthosympathique et corticotrope (Groenink et al. 1994). Cette régulation fait appel à plusieurs médiateurs à savoir des cytokines et des prostaglandines. En particulier la prostaglandine E et les interleukines IL-1 et IL-6 (Oka et al. 2001).

L'augmentation de la température est immédiate et atteint son sommet en dix minutes environ après l'apparition du stresser chez la souris. La température corporelle diminue ensuite progressivement jusqu'à sa valeur de base atteinte après 60 à 80 minutes. Cette diminution a lieu que le stresser soit toujours présent ou non. La variation est en général de l'ordre de 1 à 1,5°C même si des variations de 1,9°C ont été observées chez la souris de laboratoire (Zethof et al. 1994). Chez des mammifères de plus grande taille, l'intensité est variable : moins de 1°C chez le renard argenté mais jusqu'à 3°C chez l'impala (Meyer et al. 2008).

Plusieurs facteurs sont rapportés comme influençant l'hyperthermie de stress.

Le premier est la nature du stresser. Plus le stresser est considéré comme éprouvant, plus la variation de température est marquée. Il en est de même pour le délai nécessaire au retour à une valeur de base (Vinkers et al. 2008).

La température de l'environnement ne semble elle pas avoir d'influence sur l'intensité du phénomène (Long et al. 1990; Meyer et al. 2008). Toutefois, si la température ne modifie pas la SIH, il est évident qu'elle intervient sur la température basale de l'animal. Chez les animaux dont la température basale est haute, soit parce que l'environnement est chaud, soit lors de processus infectieux par exemple, l'intensité de la SIH est limitée (Vinkers et al. 2008). Le rythme circadien de la température corporelle est aussi connu pour modifier ce phénomène (Bouwknicht et al. 2002; Peloso et al. 2002). Il faut donc rester prudent, en particulier lors d'études sur la faune sauvage, et une mesure ponctuelle sans notion de la variation de température semble plus difficile à étudier en l'absence de donnée sur la température de l'environnement.

Le lien entre hyperthermie et habituation au stresser semble plus variable. Dans certains cas, aucune habituation n'est observée (Zethof et al. 1994) mais dans d'autres, l'intensité de la SIH décroît avec le nombre d'exposition chez les rongeurs (Vinkers et al. 2008) mais aussi chez l'impala, plus proche de notre modèle d'étude (Meyer et al. 2008).

L'espèce étudiée influe sur ce phénomène comme nous l'avons vu mais c'est aussi le cas de la souche et de la génétique des animaux (Bouwknicht et al. 2002; Vinkers et al. 2008). Le sexe semble avoir un rôle irrégulier, avec une réaction plus importante chez les souris femelles, mais au contraire plus faible chez les rattes (Vinkers et al. 2008).

Enfin, l'hypothermie est un effet secondaire bien connu des phénothiazines et en particulier de l'acépromazine qui bloque les récepteurs post-synaptiques à la dopamine (Plumb 2011). Toutefois, les études sur le chevreuil semble montrer que la tranquillisation n'a aucun effet sur ce phénomène (Montané et al. 2007).

iii. Effets sur les systèmes digestif, urinaire et reproducteur

Le stress aigu est connu pour être à l'origine de perturbations de la plupart des organes. Si les organes considérés comme essentiels pour faire face au stress (cerveau, cœur, muscles) sont privilégiés, la diminution du flux sanguins vers les autres modifie leur perfusion (Moberg et al. 2000).

On note en particulier des modifications du péristaltisme intestinal, inhibé par la noradrénaline (Sparker 1993), associées à un déséquilibre au niveau des sécrétions digestives : pepsine, gastrine et acide chlorhydrique par l'estomac et hormones digestives circulantes. Ces productions sont parfois génératrices d'ulcères digestifs par action sur la muqueuse digestive (Lapeyrade 2014). Les corticoïdes médicaux sont aussi connus pour causer des ulcères digestifs. Lors de stress aigu particulièrement important, des diarrhées peuvent apparaître sous l'influence de la CRH qui accélère le transit colique, et par réabsorption des solutés par stimulation vagale cholinergique (Beata 2011).

L'inhibition centrale provoque un relâchement des sphincters anal et vésical à l'origine de miction et défécation intempestives qui facilite l'apparition de diarrhée (Beata 2011).

Le système reproducteur est l'organe le plus superflu en cas de stress et il est mis de côté par l'organisme. Toutefois, ces modifications sont plutôt observées lors de stress chronique. A court terme, aucune modification majeure du système reproducteur n'est rapportée. On observe quand même des modifications de la concentration des hormones sexuelles, en particulier la progestérone, qui augmente chez le chien lors de stimuli aversifs ou chez le veau après écornage (Cooper et al. 1995; Beata 2011).

iv. Effets oculaires

Les épisodes de stress sont suivis de modifications oculaires. Sous l'effet du système orthosympathique, on peut ainsi observer une mydriase, une rétraction de la membrane nictitante ou bien encore une diminution des sécrétions lacrymales (Beata 2011).

b. Modifications des paramètres sanguins

De nombreux effets des axes corticotrope et autonome ont des répercussions sur le compartiment circulant. L'hématologie et la biochimie sanguine, modifiées par plusieurs organes, sont ainsi intéressantes à observer.

i. Modifications hématologiques

- Une contraction splénique influe sur la lignée rouge et les plaquettes

La capsule splénique est un des nombreux organes possédant des récepteurs aux catécholamines α -adrénergiques. La réaction au stress provoque une splénocontraction rapide associée à un relargage important du sang contenu dans la rate vers la circulation sanguine (fig 17). Chez des chèvres splénectomisées, aucune variation des paramètres de la lignée rouge n'est observée suite à l'injection d'adrénaline (Abdelatif et al. 2012). Le sang y étant beaucoup plus riche en hématies que celui de la circulation (hématocrite de 70-80% contre 40-50%), ce phénomène est à l'origine d'une augmentation de la concentration en globules rouges, de l'hématocrite et de l'hémoglobinémie (Stockham et al. 2013).

Ce phénomène est extrêmement rapide. Chez les ovins, des études ont montré que la rate peut séquestrer jusqu'à 25% des globules rouges totaux et les relarguer dans la circulation en moins de 3 minutes (Torrington et al. 1989; Jain 1993). Toutefois, les variations interspécifiques sont importantes : la rate du cheval et du phoque peut séquestrer jusqu'à 50% de leurs hématies, tandis que chez l'homme, elles représentent une part beaucoup plus marginale du contenu splénique (Stewart 2002; Stewart et al. 2002 a).

Un second mécanisme peut expliquer en partie ces variations sanguines lors des captures, la déshydratation (Thrall et al. 2012). L'effort intense de la fuite et de la lutte entraîne une sudation à l'origine d'une hémococentration et donc d'une augmentation de l'hématocrite, de l'hémoglobinémie et de la concentration en globules rouges. Ceci a été particulièrement observé chez les chevaux de sport (Boucher et al. 1981). Néanmoins, l'intensité et la durée de l'exercice des chevreuils au cours des captures restent moins importantes et l'observation sur le terrain n'a pas mis en évidence de sudation particulière des animaux. L'influence de ce mécanisme dans notre cas semble donc accessoire.

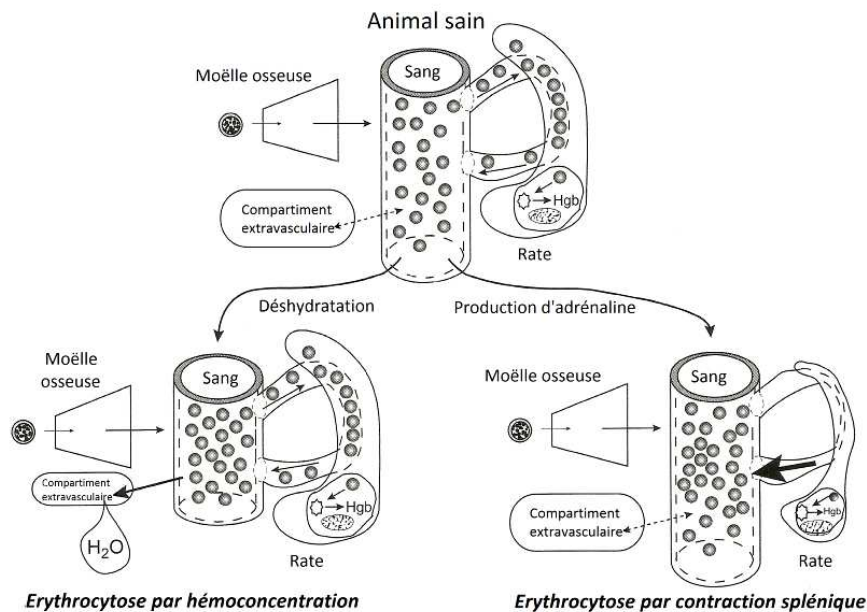


Fig. 17 : Mécanismes physiologiques à l'origine d'une érythrocytose consécutive à la capture (Stockham et al. 2013)

Au niveau des plaquettes, une augmentation de la concentration attribuée à la contraction splénique a aussi été observée après un exercice intense ou l'injection d'adrénaline. Jusqu'à un tiers des plaquettes est stocké dans la rate et, comme nous l'avons vu précédemment pour les hématies, la contraction splénique constitue la principale cause de thrombocytose en cas de stress (Weiss et al. 2011). Des études sur l'homme suggèrent aussi un rôle des poumons dans ce phénomène (Dawson et al. 1969; Ljungqvist 1971). Enfin, les glucocorticoïdes inhibent l'agrégation plaquettaire et peuvent aussi augmenter leur concentration sanguine (Peterson 2012).

La tranquillisation influe enfin sur ces paramètres hématologiques. L'utilisation de l'acépromazine provoque une relaxation splénique par blocage des récepteurs adrénergiques et entraîne par conséquent une séquestration des érythrocytes (Jain 1993; Plumb 2011). Cet effet est très rapide. Chez plusieurs cervidés, dont le chevreuil, une différence entre les animaux tranquilisés ou non a été observée immédiatement après la capture et la tranquillisation ou au maximum une heure après (Lopez-Olvera et al. 2007; Montané et al. 2007; Casas-Diaz et al. 2010). La tranquillisation a donc l'effet inverse du stress sur les paramètres de la lignée rouge et les plaquettes et modère les variations sanguines liées au stress de capture.

- Activation du système immunitaires : la formule de stress

Les effets immunologiques du stress sont bien connus. Contrairement aux globules rouges, dont la variation est essentiellement liée à la réponse orthosympathique, les deux voies de réponse au stress ont des répercussions au niveau des globules blancs. Les deux types cellulaires touchés principalement sont les granulocytes neutrophiles et les lymphocytes. Les variations obtenues sont communément regroupées sous le terme de « formule de stress ».

Il est primordial à ce niveau de bien distinguer le stress aigu du stress chronique. Le stress chronique est connu pour déréguler la réponse immunitaire, voire la supprimer et donc augmenter la sensibilité de l'organisme à des agressions extérieures. Les effets sur le système immunitaire sont alors considérés comme délétères (Beerda et al. 1997).

Au contraire, lors de l'exposition à un stress de courte durée, l'organisme prépare le système cardiovasculaire, musculo-squelettique et endocrinien à faire face à la perturbation. Sous certaines conditions, le système immunitaire est lui aussi préparé à un éventuel besoin, par exemple une plaie ou une infection suite à la rencontre avec un prédateur. Cette réponse adaptative passe par une augmentation du nombre de cellules immunitaires mais aussi par une redistribution des cellules vers certains tissus (Contrada et al. 2010). Nous allons détailler ces mécanismes pour chaque type de leucocyte.

Les deux voies d'activation sont à l'origine d'une neutrophilie. Les glucocorticoïdes inhibent l'adhésion des cellules à l'endothélium vasculaire en diminuant la production de molécules d'adhésion. Cette démarginalisation des cellules vers la circulation peut aller jusqu'à doubler la concentration en neutrophiles chez les animaux domestiques (chien, chat, cheval, bovin). Elle est associée à une modification des transferts entre compartiments : diminution de la diapédèse vers les tissus et augmentation de la production au niveau de la moelle osseuse (Weiss et al. 2011). Cette production reste toutefois beaucoup moins importante que lors de processus inflammatoires.

Parallèlement, la libération de catécholamines influe elle aussi sur l'adhérence des cellules aux endothéliums en agissant sur les récepteurs β -adrénergiques présents à leur surface. La démarginalisation entraîne une augmentation rapide de la concentration en neutrophiles mais celle-ci revient relativement rapidement à des valeurs de base (moins d'une heure) lorsque le stimulus disparaît (Stockham et al. 2013). Elle est plus fréquente chez les jeunes (Jain 1993).

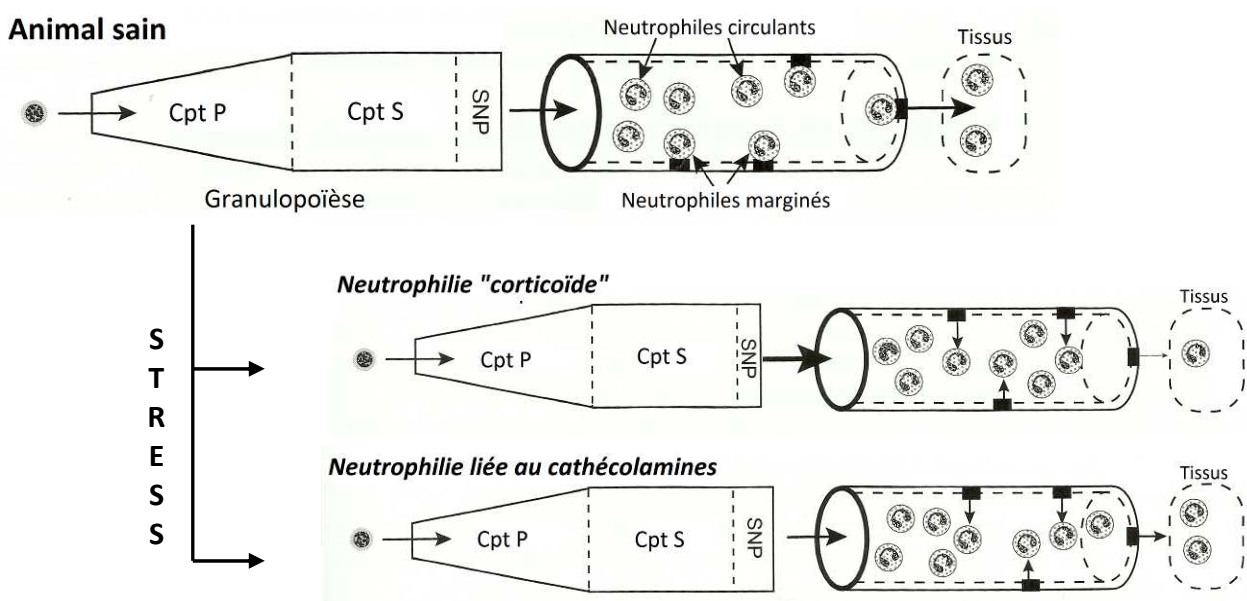


Fig. 18 : Mécanismes physiologiques à l'origine d'une neutrophilie au cours d'un épisode de stress aigu (Stockham et al. 2013)

De la même manière que pour les neutrophiles, la sécrétion de catécholamines provoque une démarginalisation des lymphocytes, dans la rate en particulier, qui partent dans la circulation sanguine, à l'origine d'une augmentation de la concentration en lymphocytes. Cette lymphocytose est rapide à se mettre en place mais dure en général peu de temps : en général moins de 30 minutes (Weiss et al. 2011).

Elle est suivie par une diminution de leur quantité liée à la sécrétion de corticoïdes. Sous leur effet, les lymphocytes circulants adhèrent aux cellules endothéliales (Davis et al. 2008). Une redistribution entre les différents compartiments est aussi rapidement mise en place, attribuée, selon les auteurs, soit à une moindre production par les noeuds lymphatiques, soit à un flux vers la moëlle osseuse. L'ensemble est à l'origine d'une lymphopénie. Lorsque la présence de glucocorticoïdes persiste dans le temps, des effets lymphotoxiques apparaissent, à l'origine d'une diminution de la lymphopoïèse qui amplifie le phénomène.

Au final, lors d'un épisode de stress, on observe une lymphocytose transitoire, suivie par une lymphopénie qui persiste jusqu'à la disparition du stress. La sévérité et la persistance de cette lymphopénie sont en général proportionnelles à la dose et au temps de sécrétion des glucocorticoïdes (Stockham et al. 2013).

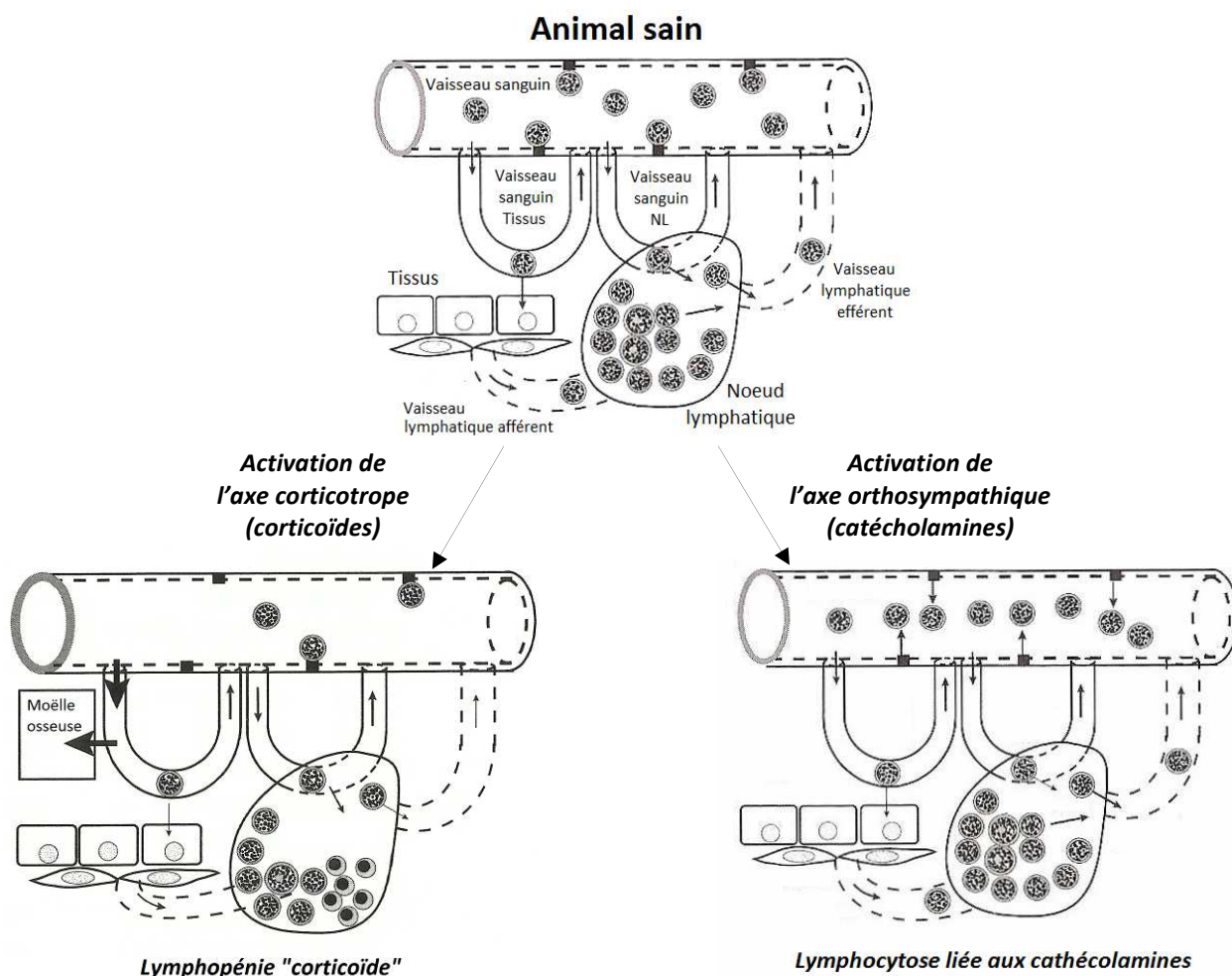


Fig. 19 : Mécanismes physiologiques à l'origine de modifications de la cinétique des lymphocytes lors d'un épisode de stress (d'après Stockham et al. 2013)

De façon plus accessoire, la réponse corticotrope au stress est à l'origine chez l'animal d'une éosinopénie, vraisemblablement liée à un effet β -adrénergique des catécholamines (Jain 1993). Une monocytose a déjà été observée chez le chien où elle est très variable (Lapeyrade 2014), ainsi que chez l'isard après un transport (Lopez-Olvera et al. 2006). Chez le rat, c'est au contraire une monocytopénie qui est associée au stress (Dhabhar et al. 1994).

Au final, un stress aigu est à l'origine d'une modification biphasique de la quantité de cellules immunitaires sanguines. Peu après la survenue du stress, on observe une redistribution des leucocytes sous l'effet des catécholamines, à l'origine d'une augmentation de la concentration sanguine en cellules immunitaires. Si le stress continue, la sécrétion de glucocorticoïdes modifie encore la distribution en déplaçant les leucocytes vers les organes susceptibles ne nécessiter une réponse immunitaire face au stress : peau, poumons, muqueuses, tube digestif et nœuds lymphatiques. S'en suit une diminution de la concentration sanguine en leucocytes. Si l'on s'intéresse à chaque type de leucocytes, en faisant abstraction de l'augmentation transitoire des lymphocytes, un stress aigu est à l'origine d'une neutrophilie associée à une lymphopénie. Ces variations sont visibles au niveau de la quantité de cellules mais aussi au niveau de leurs proportions (Contrada et al. 2010). La « formule de stress » est au final constituée par l'association leucocytose – neutrophilie – lymphopénie – éosinopénie.

La réponse leucocytaire est plus longue à se mettre en place que ne l'est la variation érythrocytaire. Chez le cheval, des injections de glucocorticoïdes ne modifient le profil leucocytaire qu'après 2h chez le jeune et 4h chez l'adulte (Burguez et al. 1983). Chez les animaux domestiques, le pic neutrophilie/lymphopénie est atteint en 4 à 8h (Jain 1993; Montané et al. 2002). Depuis, d'autres travaux ont toutefois montré que ces variations peuvent être plus rapides. Des variations significatives ont été observées moins de deux heures après la capture chez le renard roux (Moe et al. 1997), l'isard (Lopez-Olvera et al. 2006), le bouquetin d'Espagne (Casas-Diaz et al. 2010) ou bien encore le chevreuil (Montané et al. 2007). Le retour à la normale est lui aussi relativement rapide mais les variations observées peuvent persister jusqu'à 24h après la source de stress comme dans le cas du stress de transport chez les bovins ou les caprins (Kannan et al. 2000).

ii. Modifications biochimiques

- Mobilisation des réserves et hyperglycémie

Lors d'un état de stress, les catécholamines stimulent la libération de glucose par l'action de divers mécanismes. Elles stimulent la glycogénolyse via une action α_1 et β_2 -adrénergique au niveau du foie, et dans les muscles via les récepteurs β_2 -adrénergiques. Elles ont également une action sur le pancréas en diminuant la sécrétion d'insuline par des mécanismes α_2 -adrénergiques (Halter et al. 1984).

Les glucocorticoïdes ont eux aussi un effet hyperglycémiant bien connu en favorisant la néoglucogenèse et inhibant la glycolyse par des phénomènes d'induction et de répression enzymatique. La production de glucose se fait à partir de substrats non glucidiques et notamment les protéines. Les acides aminés sont libérés dans la circulation par action de protéases (PAL) puis utilisés comme précurseurs glucidiques. Les glucocorticoïdes ont aussi un effet anti-insulinique en inhibant l'entrée de glucose dans certains tissus (Lapeyrade 2014). Lors d'épisodes aigus, l'augmentation de la glycémie est plutôt liée à la glycogénolyse tandis qu'après 24 heures elle est due à l'augmentation de la néoglucogenèse

Enfin, les hormones thyroïdiennes sont elles aussi hyperglycémiantes (Lapeyrade 2014).

Au final, ces trois axes ont un effet hyperglycémiant qui peut être quantitativement important. Chez le chat, la glycémie peut atteindre 6g/L lors d'épisodes de stress aigu mais cette espèce est toutefois particulièrement sensible à ce phénomène (Opitz 1990).

Par ailleurs, les tranquillisants, en particulier l'acépromazine, semblent avoir un léger effet sur la glycémie, avec des valeurs supérieures pour les animaux tranquilisés. Cette observation a été réalisée chez l'isard (*Rupicapra pyrenaica*, Lopez-Olvera et al. 2007) et le markhor (*Capra falconeri megacero*, Jalanka 1988). Cet effet reste toutefois variable. Chez le chevreuil, aucune différence significative n'a été mise en évidence (Montané et al. 2007).

- Modification des marqueurs rénaux

La vascularisation rénale est innervée par le système nerveux sympathique. Lors d'un épisode de stress, la noradrénaline et l'adrénaline agissent sur les reins au niveau de récepteurs α -adrénergiques localisés préférentiellement sur les artérioles afférentes. Cette vasoconstriction diminue la perfusion rénale et le débit de filtration glomérulaire (DFG). La diminution de la filtration rénale est alors à l'origine d'une augmentation de la créatinine et de l'urée sanguines (Koeppen et al. 2007).

Par ailleurs, l'activité musculaire de l'animal peut parfois être très intense au cours de sa capture, entre la fuite initiale et la lutte dans les filets. Elle est à l'origine de deux phénomènes : une déshydratation d'intensité variable et un catabolisme protéique accru dans les myocytes. Ces deux phénomènes s'observent eux aussi par une augmentation des deux paramètres sanguins, soit au niveau de la production (catabolisme protéique), soit au niveau de l'élimination, puisque la déshydratation diminue la perfusion rénale et donc le DFG (Finco 1997).

Au contraire, l'effet α -bloquant de l'acépromazine sur les artérioles rénales favorise la vasodilatation et donc la filtration glomérulaire, à l'origine d'une diminution de l'urémie et de la créatinémie (Lopez-Olvera et al. 2007; Montané et al. 2007).

La modification de la filtration rénale entraîne de la même manière une augmentation du potassium sanguin (Lopez-Olvera et al. 2006). Les ions K^+ sont aussi produits par la lyse cellulaire liée à l'exercice musculaire ce qui peut amplifier le phénomène (Montané et al. 2002). Toutefois le cortisol intervient aussi dans l'équilibre hydro-électrique par un mécanisme aldostérone-like. Il induit alors la synthèse d'antiports Na/K et augmente l'excrétion urinaire de potassium et la rétention sodée. Au final, les mécanismes de régulation du potassium sont nombreux et d'autres auteurs sont plutôt en faveur d'une hypokaliémie (Trevisi et al. 2009).

- Augmentation des protéines sériques

Une augmentation de la protéinémie durant la contention physique a été décrite chez plusieurs ongulés sauvages : cerf élaphe (Marco et al. 1999), daim (*Dama dama*, English et al. 1981), daguet gris (*Mazama gouazoubira*, Munerato et al. 2010). Elle est principalement attribuée à une hémococoncentration secondaire aux pertes hydriques dues à l'effort de l'animal et concerne donc tous les types de protéines (albumine et différentes globulines).

La tranquillisation est au contraire impliquée dans une diminution de la protéinémie. La perméabilité des capillaires est modifiée par les agents anesthésique, provoquant une hémodilution par augmentation du volume plasmatique ainsi que des pertes protéiques et donc une diminution des protéines, en particulier de l'albumine (Wolkers et al. 1994; Munerato et al. 2010).

Les effets biologiques du stress aigu sont au final très nombreux et variés. Nous n'en avons évidemment pas dressé ici une liste exhaustive. Le schéma récapitulatif présenté ci-après contient quelques autres paramètres influencés par le stress.

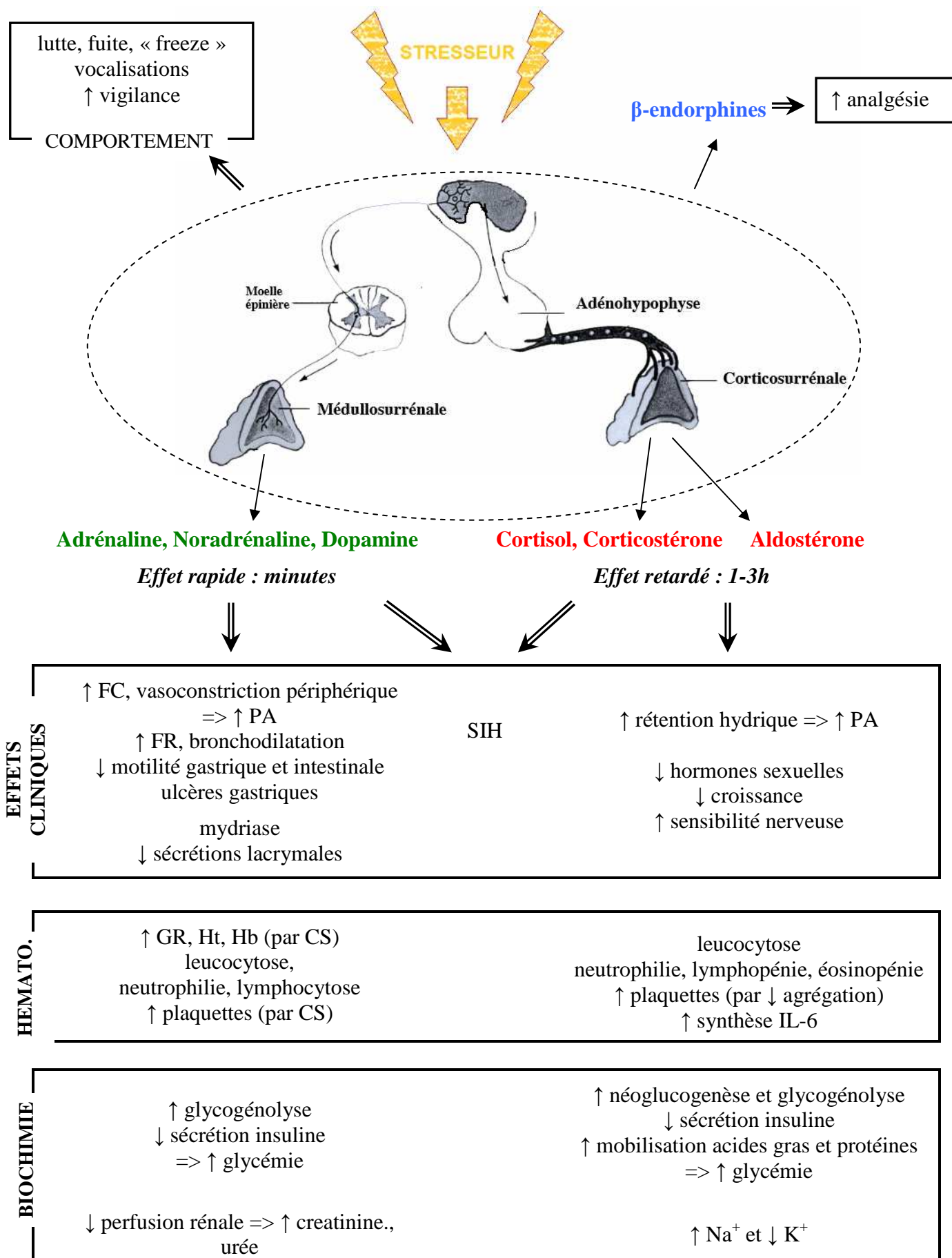


Fig. 20 : Schéma récapitulatif des différents effets du syndrome de stress sur l'organisme

IV. Marqueurs du stress aigu utilisables pour chez le chevreuil

L'étude du stress et de son impact sur les animaux nécessite d'évaluer la réponse individuelle. Certains des changements détaillés jusqu'à présent sont donc utilisés afin d'appréhender le stress des animaux lors de situations expérimentales. Ces indicateurs de stress reflètent les réponses de l'organisme face à une situation de stress, à travers des variations comportementales, cliniques ou biologiques.

Il est alors important de distinguer les effets du stress aigu et du stress chronique, les deux n'ayant parfois pas du tout les mêmes répercussions (Trevisi et al. 2009).

Nous allons voir ici possibilités d'utilisation et les limites de chacun d'eux comme marqueurs de stress aigu chez le chevreuil. Nous porterons évidemment plus d'attention sur les paramètres disponibles dans notre étude expérimentale.

1) Réponse comportementale

L'évaluation du comportement d'un animal est le premier moyen utilisable pour évaluer sa réponse au stress (Reimoser 2012). Elle nécessite néanmoins de prendre des précautions. Le premier point à prendre en compte est la nature du stressor auquel le chevreuil est exposé. Comme nous l'avons vu, la réponse comportementale est adaptée au stressor afin de pouvoir le surmonter et les paramètres observés doivent donc être choisis en fonction de celui-ci.

D'autres part, Ewbank souligne le fait que plusieurs comportements anormaux doivent être observés et que l'intensité de la réponse comportementale doit être corrélée aux réponses biochimiques afin d'être utilisée comme marqueur de stress (Ewbank 1985). Chez le porc, par exemple, l'intensité des vocalisations lors de la castration a été corrélée positivement à la sécrétion de cortisol sanguin et donc à l'activation de l'axe corticotrope, ce qui en fait, selon la définition précédente, un marqueur potentiel du stress perçu lors de cet acte (White et al. 1995). Enfin, chaque protocole doit être construit par rapport au modèle animal ciblé. La détermination des comportements utiles nécessite une connaissance précise du mode de vie de l'espèce afin d'interpréter les changements observés.

Chez les animaux de rente comme les animaux sauvages, de nombreux changements comportementaux sont observés dans une situation stressante ; en premier lieu la fuite, l'affrontement du danger ou la lutte lors de contentions. Des changements posturaux ou des modifications d'activité, plus subtils, sont également mis en évidence (Broom 2003).

Plusieurs paramètres ont été utilisés pour indexer le stress chez le chevreuil. La distance de fuite permet ainsi d'évaluer directement la réponse aiguë face à une intrusion (Bonnot et al. 2014). D'autres observations, comme la proportion de vigilance de l'animal, ses activités ou bien encore l'occupation du territoire, sont moins spécifiques du stress aigu mais apportent tout de même des informations sur la réaction de l'animal (Reimoser 2012; Bonnot et al. 2014). L'observation des activités d'un animal est très exigeante en termes de connaissances sur sa biologie et de rigueur expérimentale. Ainsi, Reimoser, dans ses travaux expérimentaux sur le chevreuil, définit 48 actions comportementales distinctes, dont certaines sont provoquées par le stress lors de perturbations par l'homme. Enfin, les vocalisations et cris ont parfois été utilisés mais à notre connaissance pas chez les cervidés (Lay et al. 1992).

Au final, le comportement exprimé par l'individu au cours de sa capture sera utilisé comme un marqueur de la capacité de l'animal à répondre à ce stress aigu. Il reste toutefois prudent de

l'associer à des observations biologiques étant donné la complexité d'interprétation du comportement animal. Les comportements analysés dans notre protocole seront détaillés dans la partie expérimentale.

2) Paramètres cliniques

a. Systèmes cardiovasculaires et respiratoires

Les modifications du rythme cardiaque et respiratoire sont considérées comme des moyens fiables d'évaluer la réponse d'un animal à un stress aigu (Moberg 1985). Ils ont été utilisés chez plusieurs espèces d'ongulés pour évaluer le stress des animaux dans différentes circonstances comme la capture (Arnemo et al. 2005; Montané et al. 2007) et le transport (Waas et al. 1999; Montané et al. 2002; Lopez-Olvera et al. 2007). Le rythme cardiaque a aussi été associé à la capacité individuelle de réponse, avec des différences observées chez le cheval (Visser et al. 2002).

Chez des espèces où l'évaluation de la fréquence cardiaque est particulièrement difficile, comme les oiseaux, la fréquence respiratoire est plus commode à mesurer (Carere et al. 2004).

Toutefois, les fréquences cardiaques et respiratoires sont très variables au cours du temps et une mesure ponctuelle de la fréquence après capture est rarement suffisante pour observer les effets du stress lors de celle-ci. L'évaluation de la variation lors de la perception du stress par l'animal nécessite d'équiper les animaux avec des systèmes de mesures embarqués qui vont suivre la fréquence lors de la soumission de l'animal au stress (Hopster et al. 1994; Lopez-Olvera et al. 2007; Reimoser 2012)

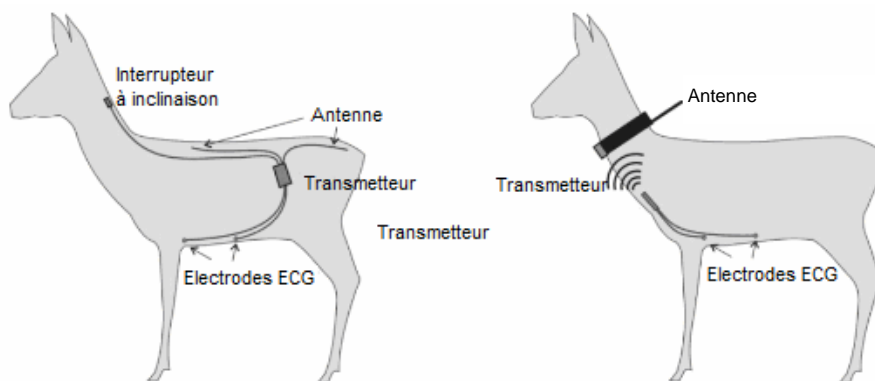


Fig. 21 : Systèmes ECG embarqués, placés sur des chevreuils et des cerfs par Reimoser et son équipe (Reimoser 2012)

Ces dispositifs, parfois coûteux, ne sont pas adaptés à notre étude dans laquelle les animaux sont relâchés en milieu naturel. Nous n'utiliserons donc pas ces paramètres cliniques.

b. Température corporelle

Des différences interindividuelles importantes dans la réaction d'hyperthermie de stress ont été observées chez plusieurs espèces dont le renard (Moe et al. 1997), le mouton (Pedernera-Romano et al. 2010) et les rongeurs. Chez les perroquets, l'hyperthermie de stress a été reliée de façon nette à la personnalité (Carere et al. 2004). De plus, l'historique et l'expérience de l'animal semble aussi influencer l'amplitude du phénomène (Bhatnagar et al. 2006).

Chez les ongulés sauvages, la plupart des études sur le stress lors de captures montrent une diminution de la température suite à la capture (Lopez-Olvera et al. 2007; Montané et al. 2007;

Casas-Diaz et al. 2010). Après le pic d'hyperthermie, la température revient en effet progressivement à des valeurs normales. Au cours des captures, lorsque la première mesure est effectuée, ce pic d'hyperthermie est déjà dépassé. De plus, l'animal, capturé, a tendance à se refroidir après les efforts de fuite et de lutte soutenus. Toutefois, cette diminution n'influe pas sur la comparaison entre individus. Plus l'intensité du stress perçu est importante, plus la température est élevée.

L'hyperthermie de stress semble donc être un moyen fiable d'évaluer la capacité individuelle de réponse au stress chez différentes espèces animales. La facilité de la mesure et la faible réaction qu'elle entraîne chez l'animal motive aussi son utilisation comme marqueur de stress dans notre étude.

c. Activité des systèmes digestif, urinaire et reproducteur

Si le dosage des enzymes digestives et des hormones reproductrices pourrait être envisagé, le coût, la technicité et les difficultés d'interprétation font que ces paramètres ne sont pas utilisés.

D'autres part, ces effets sont souvent observés lors de stress chroniques et sont alors plutôt délétères. Cela se traduit par des troubles médicaux et des baisses de performances chez les animaux de rente. On pourra toutefois citer l'utilisation de certains paramètres dans l'évaluation du stress aigu dans des contextes précis. C'est ainsi le cas avec le débit d'éjection du lait chez la vache laitière lors de la traite (Trevisi et al. 2009). Dans notre contexte, ces paramètres ne peuvent cependant pas être utilisés.

3) Paramètres sanguins

a. Sécrétions endocrines : cortisol et autres hormones

Comme nous l'avons vu dans la partie précédente, les différences interindividuelles se retrouvent au niveau des sécrétions hormonales, avec des concentrations en médiateurs plus ou moins élevées. Ceux-ci seraient donc particulièrement intéressants pour évaluer la réponse individuelle au stress.

Evaluation de l'activation de l'axe corticotrope :

De nombreuses études utilisent le plus souvent le dosage immunoenzymatique du cortisol sanguin pour indexer le stress de l'animal. Si un dosage sanguin permet d'évaluer plutôt un stress aigu, il est aussi possible de doser le cortisol et ses métabolites dans les selles, le lait ou encore la salive des animaux. Ces dosages reflètent une production de cortisol antérieure au prélèvement (Dehnhard et al. 2001). Une augmentation peut alors représenter un stress chronique mais aussi un épisode aigu antérieur, avec un délai variable selon la nature de l'échantillon. Au contraire, l'accumulation dans les poils, dans lesquels le dosage est aussi envisageable, se fait sur une période plus longue en fonction de leur pousse et serait plutôt un marqueur du stress chronique mais son utilisation reste rare chez la faune sauvage (Davenport et al. 2006; Macbeth et al. 2010).

Les dosages de l'ACTH, des catécholamines ou de la CRH peuvent aussi être effectués. Si, des études ont montré que la quantité de glucocorticoïdes est souvent dissociée des indicateurs comportementaux du stress chez le rat, les singes ou l'homme, ce n'est par contre pas le cas pour les catécholamines (Natelson et al. 1987).

Le dosage du cortisol reste quand même le plus utilisé, des valeurs élevées étant considérées comme marqueur du stress de l'animal. Chez les ongulés, plusieurs études le prennent en compte (Lopez-Olvera et al. 2006; Munerato et al. 2010). Il reste toutefois difficile à analyser car de

nombreux facteurs interviennent sur la concentration basale, en particulier le rythme circadien (Mostl et al. 2002), saisonnier ou le statut physiologique.

Evaluation de l'activation du système orthosympathique

Les dosages des catécholamines, adrénaline et noradrénaline, sont réalisables sur le sang ou dans l'urine. L'interprétation des variations reste toutefois délicate à cause de la courte demi-vie des molécules mais aussi des variations spontanées très importantes (Sapolsky et al. 2000). Ils sont ainsi rarement utilisés chez la faune sauvage et sont limités à des expérimentations spécifiques où le cadre est contrôlé, avec par exemple des dispositifs de collecte de sang à demeure.

Dans notre étude, aucun de ces dosages n'est malheureusement disponible.

Enfin, les variations des β -endorphines plasmatiques peuvent aussi être utilisées comme marqueur de stress. Toutefois, l'écorchage des jeunes bovins n'a pas mis en évidence d'augmentation de la quantité de ces molécules (Cooper et al. 1995).

b. Marqueurs hématologiques

Le stress influe sur de nombreux paramètres hématologiques, de la lignée rouge comme de la lignée blanche. La commodité de ces mesures fait que ces modifications sont couramment utilisées chez les animaux, et chez les cervidés en particulier, pour indexer le stress.

Pour la lignée rouge, la contraction splénique est à l'origine d'une augmentation de trois paramètres : hémocrite, hémoglobémie et concentration en hématies. Les trois sont couramment utilisés dans l'étude du stress chez les cervidés (Montané et al. 2007; Mentaberre et al. 2010). De plus, un lien entre intensité du stress et ces paramètres sanguins a déjà été observé chez le phoque de Weddel (*Leptonychotes weddellii*), dont la taille de la rate est inversement proportionnelle à la concentration en catécholamines (Hurford et al. 1996), elle-même proportionnelle à l'intensité du stress perçu par l'individu (Moberg 1985). Cette contraction étant à l'origine de l'augmentation des trois paramètres lors du stress, plus l'animal est stressé, plus la quantité de globules rouges relarguée est grande.

Les autres paramètres de la lignée rouge (VGM, CCMH et TCMH), bien que parfois cités, ne semblent pas liés à la réaction individuelle au stress (Munerato et al. 2010).

Les modifications immunitaires observées sont aussi couramment utilisées. Bien que le mécanisme soit un peu plus complexe, avec une lymphocytose transitoire, la plupart des publications s'accordent sur le fait que les hormones de stress provoquent une augmentation des quantités absolue et relative de neutrophiles et une diminution de celle des lymphocytes (Montané et al. 2007; Casas-Diaz et al. 2010; Mentaberre et al. 2010; Munerato et al. 2010). Les changements de la lignée blanche présentent l'intérêt d'être moins rapides à se mettre en place (3-4h) et moins fugaces ce qui facilite la mesure sur le terrain. Afin de combiner les observations sur les neutrophiles et les lymphocytes, le rapport neutrophiles/lymphocytes (N/L) est aussi calculé chez de nombreuses espèces. Il augmente lors d'exposition de l'animal à un stress aigu et de façon proportionnelle à la quantité de glucocorticoïdes sécrétée (Davis et al. 2008). Chez les ruminants domestiques, ce rapport est souvent inversé (supérieur à 1) suite à un stress (Weiss et al. 2011). Toutefois, l'interprétation nécessite de prendre en compte les paramètres sanitaires. Comme la quantité de cellules immunitaires, le ratio est en effet sensible aux réponses inflammatoires concomitantes (de Jager et al. 2010).

Parmi les autres cellules immunitaires, seuls les granulocytes éosinophiles sont parfois utilisés chez les cervidés. La réaction au stress est alors marquée par une éosinopénie (Montané et al. 2002; Munerato et al. 2010).

Pour les plaquettes, bien qu'elles soient censées augmenter avec le stress, aucune modification n'a été observée chez les cervidés à notre connaissance.

c. Marqueurs biochimiques

- Marqueurs rénaux

Les augmentations des paramètres rénaux en cas de stress sont variables selon les publications. Chez le chevreuil, Mentaberre observe une augmentation de deux paramètres, la créatinine une heure après la capture et l'urée 3h après (Mentaberre et al. 2010). Montané n'observe lui l'augmentation de l'urémie que chez les chevreuils en captivité (Montané et al. 2007). Dans tous les cas, les protocoles anesthésiques ou de tranquillisation, en particulier l'acépromazine, limitent ces variations (Casas-Diaz et al. 2010; Mentaberre et al. 2010; Munerato et al. 2010), voire provoque une diminution de ces paramètres (Lopez-Olvera et al. 2006).

L'intensité du stress de l'animal serait de plus liée à l'augmentation de ces deux paramètres urée et créatinine. Il a été montré chez le mouflon canadien (*Ovis canadensis*) que les animaux considérés stressés (à partir d'éléments comportementaux, médicaux et du déroulement de la capture) avait des valeurs supérieures aux autres (Kock et al. 1987 b).

La créatinine et l'urée sanguines constitueraient donc des marqueurs de stress utilisables chez le chevreuil.

- Protéines sériques

L'augmentation des protéines sériques est parfois utilisée dans l'étude du stress (Marco et al. 1999; Broom 2003; Munerato et al. 2010). Liée aux pertes hydriques, l'ensemble des catégories protéiques sont touchées de la même manière. Toutefois, certaines études ne mettent pas en évidence d'accroissement significatifs lors de la capture des chevreuils (Montané et al. 2002).

- Glycémie

L'hyperglycémie de stress est couramment employée pour investiguer l'état de stress d'un animal. Chez les ongulés, une hyperglycémie a été observée chez la plupart des espèces lors de captures ou de transports. Cette augmentation reste toutefois moins intense que les chiffres rapportés chez le chat avec des variations de 0,7 g/L chez la chèvre domestique (Zulkifli et al. 2010) et de moins de 0,2 g/L chez l'isard (*Rupicapra pyrenaica*, (Lopez-Olvera et al. 2006) lors d'un transport. Lors de captures de chevreuil, les variations observées sont également de l'ordre de 0,2 g/L (Montané et al. 2007).

Cette plus faible variation chez les ongulés sauvages peut s'expliquer par l'activité musculaire intense de la fuite et de la lutte lors de la capture, à l'origine d'une consommation du glucose sanguin. Cette hypothèse est utilisée par certains auteurs pour expliquer les diminutions du glucose sanguin qui sont parfois observées (Wesson et al. 1979; Munerato et al. 2010)

Malgré la variabilité observée, un lien entre l'hyperglycémie et la réponse individuelle a été mis en évidence : des variations plus importantes ont été observées chez les individus les plus stressés chez le rhinocéros noir (*Diceros bicornis*, (Kock et al. 1990) et le mouflon canadien (*Ovis canadensis*, (Kock et al. 1987 b).

- Concentrations ioniques

Plusieurs concentrations ioniques sont parfois mesurées. Il s'agit des ions sodium, chlorures et potassium, avec une préférence pour la kaliémie (Seal et al. 1972; Marco et al. 1998; Marco et al. 1999; Montané et al. 2007; Casas-Diaz et al. 2010). Les observations sont variables et plusieurs de ces travaux rapportent plutôt une diminution de la kaliémie avec le temps suite à la capture (Montané et al. 2002; Casas-Diaz et al. 2010).

- Enzymes musculaires

Enfin, l'activité des enzymes musculaires (aspartate aminotransférase ASAT, créatine kinase CK, alanine aminotransférase ALAT et lactate déshydrogénase LDH) est encore un moyen indirect couramment utilisé pour évaluer le stress d'un animal. Les lésions musculaires, dues à la fuite et à la lutte, entraînent une augmentation de la concentration sanguine de ces enzymes. Cette augmentation a aussi été observée après administration d'adrénaline et ACTH sans fuite marquée (Sconberg et al. 1993).

Chez les ongulés, une augmentation liée au stress a été observée chez plusieurs espèces suite à la capture ou au transport des animaux (Montané et al. 2007; Casas-Diaz et al. 2010; Kientz 2014). Kock observe de plus des valeurs plus importantes chez les animaux considérés comme stressés (Kock et al. 1987a; Kock et al. 1987b). Toutefois, la classification des individus est en partie basée sur la durée de poursuite et l'intensité de lutte, qui ont pour conséquence évidente des lésions musculaires plus importantes.

Ces enzymes ne sont pas mesurées dans notre étude expérimentale.

Conclusion de la revue bibliographique

Le stress peut être considéré comme l'ensemble des réponses de l'organisme face à une menace susceptible de mettre en péril son allostase interne. La réponse initiée par l'animal a pour unique objectif de permettre à l'animal de s'affranchir de cette menace, grâce à la sollicitation de multiples mécanismes comportementaux et biologiques.

Cette réponse est très variable selon l'individu. Son vécu, ses expériences passées mais aussi sa génétique et sa personnalité influencent la capacité d'un animal à répondre aux menaces auxquelles il est confronté et modulent les mécanismes physiologiques impliqués. Ainsi, des stratégies d'adaptation, ou coping styles, décrivent la capacité d'un individu à répondre face à un stressor mais aussi certains aspects de son comportement général. Les individus répondant de façon active et marquée face au stress auraient ainsi un comportement exploratoire plus audacieux. Ces « traits de caractère » se retrouvent dans différentes situations de vie comme l'occupation du territoire. Dans ce contexte, évaluer la capacité de réponse au stress aigu imposé à l'animal, comme la capture, permet de donner une idée de sa capacité de réponse en général et même d'apporter des indices sur son mode de vie.

Trois axes principaux sont impliqués dans le stress : une réaction comportementale contrôlée par le système nerveux central, le système nerveux orthosympathique qui sécrète immédiatement les catécholamines (adrénaline et noradrénaline) ; puis après un court délai, l'axe corticotrope, qui active la production de glucocorticoïdes par les glandes surrénales. Ces médiateurs activent à leur tour de nombreux organes effecteurs répartis dans l'organisme.

Les observations comportementales, comme les mesures de plusieurs paramètres cliniques et biologiques sont utiles à l'indexation du stress aigu.

Dans le contexte de la capture, la mesure de l'hyperthermie de stress est un paramètre clinique évaluable de façon fiable. Plusieurs paramètres hématologiques et biochimiques pourraient ainsi être utilisés. Il s'agit en particulier de la concentration en hématies, de l'hémoglobine et de l'hématocrite pour la lignée rouge, de la quantité de neutrophiles, lymphocytes et éosinophiles pour la lignée blanche, associée au rapport neutrophiles/lymphocytes. Les paramètres biochimiques à conserver sont eux les médiateurs endocrines (cortisol, ACTH, adrénaline...), les marqueurs rénaux, urée et créatinine, la protéinémie, la glycémie ainsi qu'éventuellement les enzymes musculaires. Aucun d'eux n'est parfaitement sensible et spécifique, aussi la plupart des auteurs cherchent à combiner différents marqueurs, comportementaux et biologiques.

Dans la suite du travail, nous étudierons expérimentalement une sélection de ces marqueurs mesurés lors de captures d'individus sauvages afin de déterminer lesquels peuvent aider à évaluer la réponse individuelle au stress de capture chez le chevreuil.

Seconde partie

Etude expérimentale

Nous avons vu dans la partie précédente que certains paramètres hématologiques et biochimiques présentent un intérêt dans l'évaluation du stress chez différentes espèces de mammifères, dont certains cervidés. Toutefois, leur utilisation dans l'étude des profils réactionnels face au stress chez le chevreuil est très peu documentée.

Nous avons donc cherché à mettre en relation expérimentalement différents paramètres sanguins avec plusieurs témoins de l'intensité du stress perçu par l'animal lors de sa capture. Cette étude a été conduite sur un grand échantillon d'individus sauvages.

I. Matériel et méthodes

1) Présentation des sites d'étude et des populations de chevreuils

Les chevreuils étudiés proviennent de deux sites différents du sud-ouest de la France (Haute-Garonne, 31). Les individus sauvages sont capturés sur une zone située aux alentours de la commune d'Aurignac. Le second site correspond à des chevreuils en captivité. Les enclos sont localisés sur la commune de Gardouch (fig. 22). Toutefois, ces animaux ne seront pris en compte que dans la partie suivante.

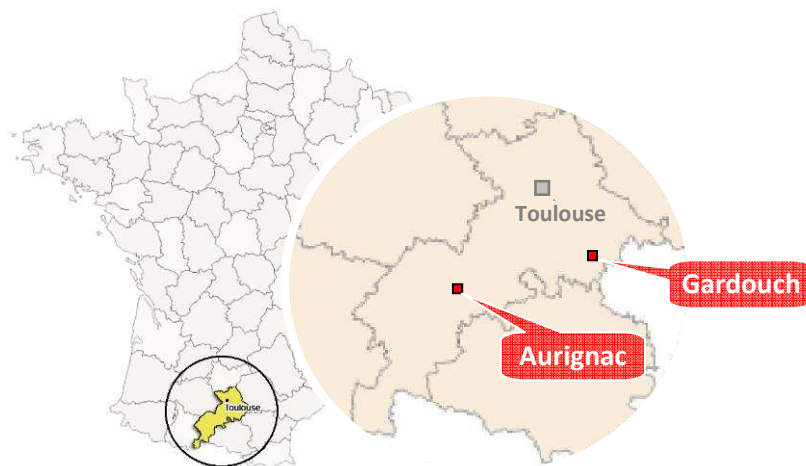


Fig. 22 : Localisation des deux sites d'étude

La zone d'étude d'Aurignac est un paysage agricole hétérogène et vallonné d'une surface de 10000 Ha environ. Elle est composée de prairies (36,1%), de champs cultivés (32,1%) et de surfaces forestières morcelées en 2 forêts et de multiples bosquets (23,7%). Le reste correspond à des haies caractéristiques du milieu bocager (4,3%).

La population de chevreuils y est suivie depuis plus d'une quinzaine d'années à travers la méthode de Capture-Marquage-Recapture (CMR). Cette méthode est basée sur la capture annuelle, le marquage et le suivi d'individus sauvages grâce à des systèmes GPS et VHF. Les animaux sont capturés une première fois et équipés de système de géolocalisation. Grâce au suivi régulier, le nombre de chevreuils marqués occupant la zone d'étude est connu et lors de sessions d'observation, la proportion des animaux marqués qui sont observés peut être déterminée. En extrapolant cette proportion aux animaux non marqués, on peut estimer la densité totale de chevreuils sur des secteurs échantillons (Pradel 1996; Besbeas et al. 2002). La densité de chevreuils sur notre zone d'étude a ainsi été estimée à 9,3 chevreuils pour 100 ha (Hewison et al. 2007). De nombreuses recherches sur l'écologie du chevreuil y sont menées sur des sujets aussi

variés que l'alimentation, la physiologie de la reproduction, la dynamique des populations ou bien encore les maladies infectieuses (Gaillard et al. 1993; Morellet et al. 2009; Bonnot et al. 2013). Les analyses sanguines n'étant réalisées que depuis 2009, notre travail portera uniquement sur les individus capturés entre 2009 et 2014.

Sept sites de capture sont répartis sur la zone d'étude. Cinq d'entre eux sont situés en milieu semi-ouvert (Embargade, Fabas plaine, Réservoir Nord, Peyrissas, Bois communal) alors qu'un seul concerne un milieu entièrement forestier (forêt de Fabas jusqu'en 2009, remplacée par la forêt de Mauboussin depuis 2010). Chaque année, une session de capture a lieu entre début janvier et mars sur chacun des sites où les individus sont suivis d'une année sur l'autre.

Le protocole de capture, qui sera détaillé plus loin, est le même dans chaque site. Dans notre étude, nous distinguons les individus purement forestiers capturés en forêt de Fabas et Mauboussin des individus occupant des milieux plus ouverts dans les cinq autres sites.

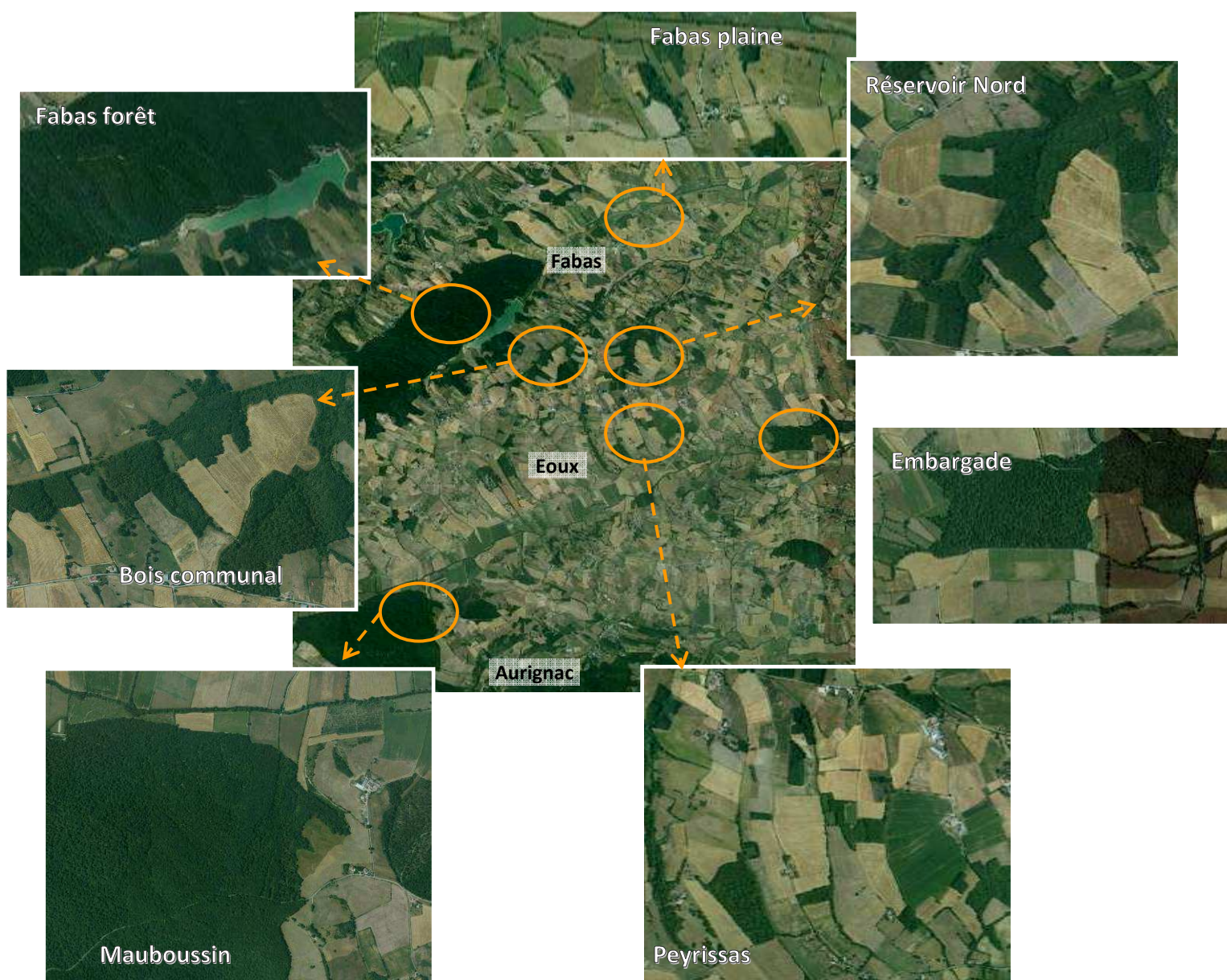


Fig. 23 : Localisation des différents sites de captures des chevreuils sauvages (Source : GoogleMap)

La période hivernale est la plus propice aux captures d'ongulés. Tout d'abord vis-à-vis de leur physiologie puisque les femelles sont en début de gestation (l'implantation embryonnaire différée a lieu entre fin décembre et début janvier) et que les mâles sont en repos sexuel (rut en juillet-août). Ils sont d'ailleurs pour la grande majorité encore en velours et représentent donc moins de danger pour les participants. De plus, les jeunes sont déjà grands et capable de porter un collier. Enfin la saison de chasse est presque terminée ce qui réduit les risques de tir sur un chevreuil porteur de collier.

Certaines contraintes techniques motivent aussi ce choix : les cultures ne sont pas encore semées, la végétation est moins épaisse et donc plus facile à parcourir, surtout en milieu forestier. Seule la météo peut rendre l'exercice plus laborieux en hiver (cf fig.24).

2) Protocole de capture

a. Déroulement de la capture

Les animaux sont capturés grâce à la technique dite « drive net » ou panneautage.

La veille de la capture, 84 filets d'une cinquantaine de mètres de longueur pour une hauteur de 2 m sont disposés autour du site, pour une longueur totale d'environ 4 km. Les filets sont laissés au sol et ne sont mis en place que le jour de la capture afin d'éviter toute prise accidentelle durant la nuit. Des sabots, caisses de bois destinées à héberger les animaux jusqu'à leur relâche sont disposées régulièrement le long des filets.



Fig. 24 : Dispositif de capture en place dans des milieux et des conditions climatiques différents :
1-milieu ouvert (Fabas forêt le 06/02/2014), 2-lisière de bois (Bois communal le 08/01/2015),
3-forêt (Mauboussin le 20/01/2015), 4-neige (Peyrissas le 05/02/2015)- (Photographies personnelles)

La capture mobilise une centaine de personnes : personnels du CEFS, étudiants et élèves de lycées agricoles recrutés pour l'occasion. Les personnes expérimentées sont placées au niveau des filets, tous les 30 à 50 mètres en fonction de la topographie et du nombre de participants présents, afin d'intervenir le plus rapidement possible lorsqu'un animal est capturé. Le reste des participants forme une ligne de rabat et parcourt le dispositif pour déloger les animaux et les pousser vers les filets.

La forme du dispositif est adaptée au relief et à la végétation et au cours d'une session de capture, plusieurs rabats successifs peuvent être parcourus, avec déplacement des filets entre les phases.

Dès la capture d'un animal, celui-ci est pris en charge par au minimum 3 personnes. Une contention immédiate et précise est nécessaire pour limiter les risques d'échappée et de blessure. Une injection de 0,3 mL d'acépromazine (CalmivetND, Vétéquinol) est réalisée immédiatement par voie intramusculaire dans la cuisse. Pour des raisons pratiques, ces doses sont préparées à l'avance et distribuées au personnel expérimenté. En fonction des lieux de capture de chaque animal, il arrive ainsi que pour certains animaux, aucune dose ne soit disponible. Ces animaux ne sont donc pas tranquilisés.

L'animal est ensuite démailloté avec plus ou moins de facilité, placé dans un sabot et le filet est remis en place. L'heure de capture, le temps passé dans le filet ainsi que le comportement de l'individu avant le piégeage et durant celui-ci sont relevés par le capteur, qui surveille ensuite l'animal dans le sabot placé à proximité jusqu'à la fin de la session de capture.



Fig. 25 : Extraction d'un brocard pris dans un filet. (Photographie : S.Poillion)

En cas de capture accidentelle d'une autre espèce (sanglier, lièvre ...) l'animal est démailloté et relâché immédiatement.

Une fois la session de capture terminée, les filets sont détachés et les sabots pleins sont transportés à la main ou par véhicule jusqu'à un lieu de marquage préalablement défini et situé au cœur du dispositif. Les animaux y sont manipulés un par un pour la récolte des données, en tenant compte de leur heure de capture et d'éventuelles blessures. Les prélèvements sont réalisés par une équipe restreinte et parfaitement rodée afin de limiter les risques pour le chevreuil et les participants. L'animal est sorti du sabot par les postérieurs et contenu sur une table, en décubitus latéral gauche, par trois personnes (contention des postérieurs, des antérieurs et de la tête). Toute la manipulation se fait dans le calme et la vue de l'animal est masquée afin de minimiser le stress (Gibert 1991;

Chevrier T 2009). L'exercice n'en reste pas moins mouvementé pour certains animaux comme le montre la photo suivante.



Fig. 26 : Extraction d'une femelle du sabot et contention d'un autre individu sur la table de marquage durant la récolte de fèces (Photographies personnelles)

Le temps passé entre la capture de l'animal et sa manipulation est très variable en fonction du moment de capture et du nombre d'individus capturés, avec des valeurs allant de 24 à 445 minutes (soit de 24 min à 7h45min).

Les animaux capturés pour la première fois sont identifiés par des boucles auriculaires de type Tiptag (associées à un transpondeur électronique sous-cutané depuis 2015). Lorsqu'une boucle est manquante sur un adulte déjà connu, elle est remplacée et le nouveau numéro est intégré dans la base de données. Diverses mesures et prélèvements sont réalisés dans le cadre de plusieurs thématiques de recherche variant d'une année sur l'autre.

Les animaux sont enfin équipés de colliers GPS, VHF ou GSM dans le cadre de projets de recherche sur le comportement, le domaine vital et la dispersion des animaux.

Une fois toutes les manipulations effectuées, l'animal est relâché le plus calmement possible sur le site de capture.



Fig. 27 : Relâche d'un brocard (à gauche) et d'une jeune femelle équipée d'un collier GPS (à droite)
Noter la différence de comportement entre les deux individus. (Photographies personnelles)

Il est d'usage de permettre au bénévoles d'assister dans le calme à la manipulation des animaux. Une brève présentation sur la biologie du chevreuil, les thèmes de recherche et leurs enjeux leur est proposée. La participation des bénévoles constitue une reconnaissance pour leur présence et permet de les sensibiliser aux enjeux de la gestion de la faune sauvage. La pérennité des captures, et donc des thématiques de recherche, est liée à la présence et à la motivation de ces bénévoles.

b. Risques de la capture pour les animaux

Les chevreuils, comme tous les ongulés sauvages, sont capables de se débattre de façon extrêmement violente, en particulier dans les filets. Cette lutte peut engendrer des blessures physiques plus ou moins sérieuses. Les animaux se blessent assez régulièrement de façon superficielle au niveau de la région anale et des bois en se débattant dans le sabot. Un spray cicatrisant (AlumisolND, CEVA) est appliqué sur les lésions. Vu la finesse des membres des chevreuils, des cas plus graves de fractures ou de luxations peuvent survenir si la contention est inadaptée. Les os les plus touchés sont le tibia et le radius. Pour éviter cela, tous les intervenants ont pour consigne de maintenir les animaux le plus proximale possible au niveau des membres. On peut aussi citer les arrachements de bois, plus fréquent chez le chamois que le chevreuil ou les fractures de dents. Néanmoins, les accidents fatals restent rares dans ce type de manipulations, de l'ordre de 1-2%. (Van Laere et al. 1990; Dubray 1993)

Le niveau de stress élevé et l'activité musculaire intense liée à la fuite et au débattement dans le filet peuvent également être à l'origine d'un ensemble de syndromes mortels variés que l'on regroupe communément sous l'expression de « myopathie de capture ».

Décrit pour la première fois en 1964, ce phénomène est connu sous plusieurs dénominations : maladie de capture, dystrophie musculaire, rhabdomyolyse, maladie du muscle blanc ou bien encore maladie du stress (Fowler 2011; Paterson 2014). Comme certains noms l'indiquent, cette maladie musculaire se caractérise par une dégénérescence et une nécrose des muscles striés squelettiques (Fowler 2011). Elle a été observée chez de nombreuses espèces de vertébrés, mais touche particulièrement les Primates et les Ongulés (Nielsen 1999).

Relativement fréquente lors de captures d'animaux sauvages, c'est une maladie complexe et multifactorielle qui repose principalement sur deux phénomènes : un exercice musculaire intense

et un stress intense et parfois prolongé de l'animal. Ils ont comme conséquences principales une modification du flux sanguin vers les tissus et un dépassement des capacités du métabolisme énergétique aérobie des cellules, en particulier dans les muscles squelettiques et le myocarde.

Physiologiquement, l'état de stress provoque une vasoconstriction périphérique et d'une redistribution du flux sanguin (cf partie I). Lorsque ce stress intense se prolonge, la vasoconstriction périphérique entraîne une hypoxie des tissus et une désensibilisation brutale aux catécholamines, conduisant à une chute parfois brutale de la pression artérielle, une défaillance cardiovasculaire et la mort de l'animal.

Parallèlement, l'exercice musculaire intense et prolongé conduit à l'accumulation d'acide lactique à l'origine d'une destruction des fibres musculaires squelettiques et cardiaques et d'un relargage de calcium, de potassium et de myoglobine. Les deux ions peuvent causer des troubles du rythme cardiaque tandis que la myoglobine, toxique pour le rein, est à l'origine d'une insuffisance rénale aiguë. L'atteinte musculaire, aggravée par l'anoxie, peut conduire à différent degré de nécrose (Sparker 1993).

La gravité de cette pathologie est fonction de la durée et de l'intensité de l'effort physique de l'animal au cours de la capture. Plus l'effort est long et intense, plus le syndrome engendré sera sévère. Toutefois, elle passe souvent inaperçue sur le terrain et l'issue reste impossible à prédire. La mort de l'animal peut survenir après un délai variable en fonction du syndrome présenté. Montané a ainsi décrit la mort de trois chevreuils, capturés avec des méthodes identiques à la notre, 48h, 72h et 8 jours après la capture (Montané et al. 2002).

La prévention est le moyen le plus efficace de prévenir cette pathologie. Une intervention rapide et précise, la tranquillisation de l'animal, une équipe entraînée, une manipulation dans le calme, le masquage de la vue de l'animal ainsi qu'un monitoring de la température durant la manipulation sont autant de stratégies mises en place pour limiter au maximum les risques (Sparker 1993; Beringer et al. 1996; Wardzynski 2004).

Les contusions et le stress être aussi des facteurs d'avortement ou de mise bas prématurée chez les femelles gestantes (Norton et al. 1990). Le choix de la période de capture, qui coïncide avec la première moitié de gestation, permet de diminuer au maximum ces risques. Sur le terrain, le suivi des femelles par la suite afin de marquer les faons n'a pas mis en évidence d'anomalies de mise bas chez les chevrettes capturées. La même conclusion a été rapportée chez le renne de Svalbard (*Rangifer tarandus platyrhynchus*), chez qui aucune relation entre mise bas et stress de capture n'a été mise en évidence, quelque soit l'intensité de ce dernier, mesurée par dosage du cortisol sanguin (Omsjoe et al. 2009).

Enfin, les accidents anesthésiques à l'origine d'arrêts cardio-respiratoires sont décrits dans la littérature, mais les faibles doses utilisées dans nos protocoles n'ont aucune conséquence pathologique (Chai 2005).

Dans le cadre de notre étude à Aurignac, sur 304 individus capturés, cinq individus ont du être retirés de l'étude à cause de blessure graves survenues à la capture. Quatre ont été euthanasiés immédiatement, le dernier a été retrouvé mort dès le lendemain de la capture des suites d'une luxation à une patte. Enfin un sixième individu a été retiré car manifestement malade lors de la capture et a été retrouvé mort peu de temps après.

3) Protocole de collecte des données lors de la manipulation

a. Détermination du sexe et de l'âge

Le sexe de l'animal est extrêmement facile à déterminer lors des captures grâce à la présence des bois chez les mâles à cette époque de l'année. En cas de doute (rupture des bois par exemple), l'appareil génital est observé.

L'âge de l'individu est lui déterminé par la morphologie de l'animal et par observation de sa dentition. Les animaux sont classés en 3 classes d'âge :

- jeune : animal de moins d'un an né au printemps de l'année précédente
- yearling : animal dans sa deuxième année
- adulte : animal de plus de 2 ans

Les bois peuvent donner une indication de l'âge mais cette indication n'est jamais une certitude sauf pour les chevillards. Le seul élément pouvant renseigner précisément sur la classe d'âge est l'examen de la dentition de l'animal, réalisé sur l'hémi-mâchoire inférieure (cf fig.28 et 29).

La dentition lactéale du jeune de moins d'un an comprend 20 dents. La dentition définitive en comprend elle 32. Notons que parfois viennent s'ajouter une ou plus rarement deux canines au niveau du maxillaire supérieur. La formule dentaire du chevreuil est donc la suivante :

$$\begin{array}{l} \blacksquare \text{ dentition lactéale} \quad \frac{0 \text{ I } 0/2 \text{ C } 3 \text{ Pd } 0 \text{ M}}{3 \text{ I } 1 \text{ C } 3 \text{ Pd } 0 \text{ M}} \quad \blacksquare \text{ dentition définitive} \quad \frac{0 \text{ I } 0/2 \text{ C } 3 \text{ Pm } 3 \text{ M}}{3 \text{ I } 1 \text{ C } 3 \text{ Pm } 3 \text{ M}} \end{array}$$

La dentition évolue sur quatorze mois pour passer de celle du faon à celle de l'adulte. Deux événements ont lieu de façon concomitante, la poussée des molaires et le remplacement des dents lactéales. Les deux premières molaires apparaissent entre le 4^{ème} et 5^{ème} mois (septembre à décembre), la 3^{ème} entre 8 et 12 mois soit entre janvier et juillet.

La différence la plus évidente entre le jeune et l'adulte réside au niveau de la 3^{ème} prémolaire. La troisième prémolaire lactéale est trilobée et tombe entre le 12^{ème} et le 14^{ème} mois, avec les deux autres prémolaires. Une prémolaire bilobée prend alors sa place entre 12 et 16 mois. L'appréciation de l'âge chez l'adulte se fait ensuite par l'usure. Cette usure dépendant du régime alimentaire, une détermination précise est difficile d'où le regroupement des animaux en classe d'âge (Collin 1992).

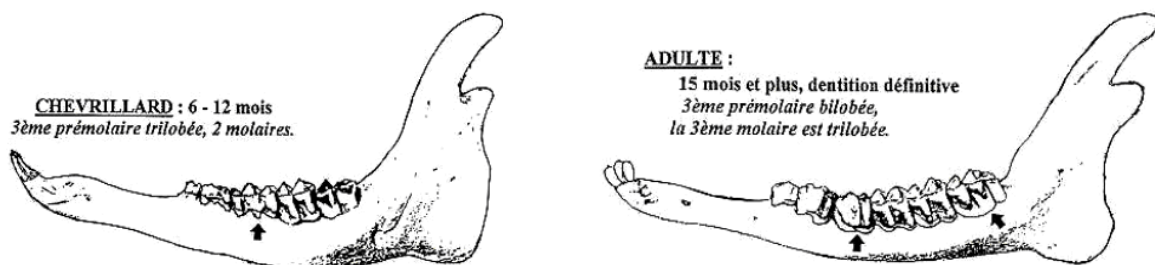


Fig. 28 : Evolution de la dentition de l'hémi-mâchoire inférieure du chevreuil avec l'âge (Boisaubert et al. 1988)

b. Mesures physiques

Chaque animal est pesé avec une balance électronique avec une précision de 0,1 kg (différence sabot plein - sabot vide) et mesuré en deux points : longueur du métatarse et circonférence du cou. Ces deux paramètres permettent d'évaluer la condition corporelle (Toïgo et al. 2006).

La condition de l'individu est quand à elle étudiée par la mesure des bois pour le mâle, de la base du bois jusqu'à la pointe de l'andouiller le plus long (Pettorelli et al. 2002; Toïgo et al. 2006; Douhard et al. 2013). L'observation des mamelles chez la femelle, dont la taille et l'aspect reflètent l'allaitement d'un faon de l'année précédente, permet d'évaluer le statut reproducteur.

c. Collecte de sang

i. Prélèvement sanguin

Une prise de sang est réalisée sur chaque individu à la veine jugulaire gauche avec compression manuelle. Le matériel utilisé est constitué d'un porte-tube associé à une aiguille de 20 Gauge (0,9 mm), d'une longueur de 25 mm (Venoject, Terumo Europe N.V, Louvain, Belgique). Quatre tubes de 4 mL sont collectés dans l'ordre suivant : 2 tubes secs, 1 tube EDTA et 1 tube citraté. Les tubes sont ensuite retournés une dizaine de fois afin d'éviter la formation de caillots.



Fig. 29 : Estimation de l'âge de l'animal par examen de la dentition et prélèvement sanguin sur un individu déjà capturé par le passé (la trace du collier est encore visible) (Photographies personnelles)

ii. Analyse des échantillons

Dès la collecte, les échantillons sanguins sont réfrigérés dans une glacière.

Le soir même, les prélèvements sont divisés et centrifugés en fonction des analyses à mener, afin d'être acheminés dans les différents laboratoires partenaires. Notre étude s'intéresse à deux analyses : l'analyse hématologique et l'analyse de plusieurs paramètres biochimiques sanguins.

- *Analyse hématologique*

Pour la numération formule sanguine, ou NFS, deux frottis sanguins sont réalisés et une partie du tube de sang prélevé sur EDTA (ethylene diamine tetraacetic acid), qui est l'anticoagulant de choix en hématologie, est conservé à 4°C. Selon le nombre de chevreuils capturés, les frottis ont été réalisés entre trente minutes et quatre heures après la prise de sang.

Dès le lendemain matin, ces échantillons sont acheminés au laboratoire de biologie médicale de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse (ENVT), toujours sous couvert de froid. Les spécimens y sont analysés par un automate d'hématologie (Sysmex XT-2000i, SysmexFrance, Villepinte, France) qui fonctionne selon trois principes : variation d'impédance, cytométrie de flux et méthode photométrique SLS sans cyanure).

La lecture manuelle des frottis sanguins a été utilisée par ailleurs pour la détermination du microhématocrite (μ Ht), ainsi que la proportion relative de chaque type de globules blancs. Les lames ont été colorées à l'aide de kit RAL 555 selon le protocole donné par le fabricant (réactifs RAL, Martillac, France).

Certains des paramètres étant calculés par plusieurs méthodes, nous avons sélectionné la méthode la plus fiable. Le microhématocrite déterminé visuellement, méthode considérée comme le gold standard, a donc été préféré à la mesure de l'hématocrite par l'automate.

Pour le comptage plaquettaire, deux méthodes sont utilisées. La variation d'impédance utilise le procédé Coulter c'est-à-dire le passage des cellules entre 2 électrodes. La différence de potentiel créée lors du passage crée une variation d'impédance qui permet, via des algorithmes, d'identifier telle ou telle cellule en fonction entre autre de sa taille. Le problème avec la méthode de variation d'impédance, c'est que les plaquettes ont tendance à s'agréger lorsqu'elles sont activées et que quand elles passent en amas, elles ne sont pas reconnues en tant que plaquettes, mais en tant que grosses cellules, donc cette méthode a tendance à sous-estimer la numération plaquettaire.

La cytométrie de flux est une méthode plus fine qui utilise l'optique pour différencier les cellules en fonction de leur taille mais aussi en fonction de leur structure interne. Les cellules sont canalisées via un flux hydrique pour s'aligner les unes après les autres, et passent une par une dans une chambre de mesure où plusieurs faisceaux laser permettent de faire une reconnaissance des cellules via leur taille, leur granularité, leur indice d'extinction et de diffraction. Nous avons donc choisi de conserver la cytométrie de flux (PLT-O), qui est la méthode la plus fiable. Pour simplifier, l'abréviation de la numération plaquettaire sera PLT dans la suite de l'étude.

Pour l'étude de la lignée blanche, la concentration en chaque type de globule blanc a été calculée à partir de la concentration totale (GB) déterminée par l'automate et de la proportion de chaque type cellulaire (GNN%, GNE%, GNB%, Lympho% et Mono%), déterminé lui par lecture manuelle du frottis. Ces concentrations sont notées GNN, GNE, GNB, Lympho et Mono.

En cas de présence de caillot sanguin dans le tube, l'ensemble des données hématologiques a été invalidé pour l'individu en question. De la même façon, la numération plaquettaire n'a pas été retenue en cas d'agrégats plaquettaires.

Par ailleurs, la congélation peut avoir des effets néfastes sur la conservation du sang, provoquant une hémolyse massive. Ce cas de figure a eu lieu sur 11 tubes prélevés en 2011. Les individus ont par conséquent eux aussi été retirés de l'étude.

Les différents paramètres obtenus sont présentés dans le tableau suivant :

	Paramètre	Abréviation	Unité	Mode de détermination	
AUTOMATE	Numération en globules rouges	GR	$\times 10^6/\mu\text{L}$	mesuré (VI)	
	Numération en globules blancs	GB	$\times 10^3/\mu\text{L}$	mesuré (CF)	
	Hémoglobine	Hb	g/dl	mesuré (MP)	
	Hématocrite	Ht	%	mesuré (VI)	
	Volume glomérulaire moyen	VGM	fl	calculé (VGM=Ht/GR)	
	Taux corpusculaire moyen en hémoglobine	TCMH	pg	calculé à partir de TCMH=Hb/Ht	
	Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine	CCMH	g/dl	calculée à partir de CCMH=Hb/GR	
	Comptage plaquettaire optique	PLT-O	$\times 10^3/\mu\text{L}$	mesuré (CF)	
	Comptage plaquettaire par impédance	PLT-I	$\times 10^3/\mu\text{L}$	mesuré (VI)	
MESURE MANUELLE	Microhématocrite	μHt	%	mesure manuelle	
	Proportion des types de GB	granulocytes neutrophiles	GNN%	%	mesure manuelle
		granulocytes éosinophiles	GNE%	%	mesure manuelle
		granulocytes basophiles	GNB%	%	mesure manuelle
		Lymphocytes	Lympho%	%	mesure manuelle
		Monocytes	Mono%	%	mesure manuelle
	Concentration des types de GB	granulocytes neutrophiles	GNN	$\times 10^3/\mu\text{L}$	calculé à partir de GNN=GB*GNN%
		granulocytes éosinophiles	GNE	$\times 10^3/\mu\text{L}$	calculé à partir de GNE=GB*GNE%
		granulocytes basophiles	GNB	$\times 10^3/\mu\text{L}$	calculé à partir de GNB=GB*GNB%
		Lymphocytes	Lympho	$\times 10^3/\mu\text{L}$	calculé à partir de Lympho=GB*Lympho%
		Monocytes	Mono	$\times 10^3/\mu\text{L}$	calculé à partir de Mono=GB*Mono%
Rapport neutrophiles / lymphocytes	N/L	%	calculé à partir de N/L=GNN/Lympho		

Tab. 3 : Détails des paramètres obtenus lors de l'analyse hématologique

(VI : variation d'impédance, CF : cytométrie de flux, MP : méthode photométrique SLS sans cyanure)

- *Analyse biochimique*

Les analyses biochimiques sont réalisées à partir d'un tube hépariné, conservé à 4°C dès sa collecte. Le soir même de la capture, les tubes sont centrifugés et une partie du sérum est placée dans un tube Eppendorf. Les échantillons sont ensuite expédiés et analysés au laboratoire de biochimie VetAgroSup (situé au 1 avenue Bourgelat, 69280 Marcy l'Etoile).

Les analyses sont réalisées par l'automate Konelab 30i (Thermo Fisher Scientific Inc., Villebon-sur-Yvette, France), qui fonctionne sur le principe de la spectrophotométrie. La différenciation des différentes protéines plasmatiques est obtenue grâce à un appareil semi automatisé, l'Hydrasys (Sebia Incorporation, Norcross, USA) permettant la réalisation des électrophorèses sur gel.

Cinq paramètres sont étudiés depuis 2010 : la créatinémie, l'urémie, la fructosamine sanguine, les protéines sériques totales et l'albuminémie. La globulinémie totale est calculée par différence entre la protéinémie totale et l'albuminémie. L'étude de ces globulines par électrophorèse des protéines sériques n'est disponible que depuis la saison de captures de 2013.

Paramètre	Unité	Mode de détermination
Créatinémie	μmol/L	mesuré (SP)
Urémie	mmol/L	mesuré (SP)
Fructosamine	μmol/L	mesuré (SP)
Protéines sériques totales	g/L	mesuré (SP)
Albuminémie	g/L	mesuré (SP)
Globulinémie (totale)	g/L	calculé à partir de glob. = prot. tot. – alb.
Globulinémie α1	g/L	mesuré (E)
Globulinémie α2	g/L	mesuré (E)
Globulinémie β	g/L	mesuré (E)
Globulinémie γ	g/L	mesuré (EP)

Tab. 4 : Détail des paramètres obtenus lors de l'analyse biochimique (SP : spectrophotométrie, E : électrophorèse)

d. Mesure du stress aigu lors de la capture

Lors de la capture, plusieurs données sensées indexer la réaction de l'animal vis-à-vis de l'évènement stressant, c'est-à-dire la capture, sont récoltées. Ces données permettent de construire deux mesures « objectives » du stress: la température rectale et une note de comportement mesurées lors de la manipulation des animaux au moment du marquage. Par ailleurs le stress lors du prélèvement sanguin est censé être réduit par la tranquillisation des animaux effectuée juste après la capture dans le filet. Enfin, le milieu de vie de l'individu (ouvert vs boisé) peut aussi influencer sa sensibilité au stress de capture. Ces quatre variables sont utilisées comme « témoins de stress ». Les paramètres hématologiques et biochimiques qui seront retenus comme indicateur de stress, seront ceux qui répondront le mieux aux témoins de stress lors des analyses statistiques.

i. Tranquillisation de l'animal

Les doses d'acépromazine sont réparties au départ entre les participants pour couvrir l'ensemble du dispositif. En fonction des lieux de captures, il arrive que certains animaux ne soient pas tranquilisés car aucune dose n'est disponible à proximité. Cependant, les animaux non tranquilisés restent assez peu nombreux.

La tranquillisation est sensée diminuer l'état de stress de l'animal. Nous considérerons a priori les animaux non tranquilisés comme plus stressés par la capture. Ce postulat repose à la fois sur des observations sur le terrain et des études réalisées sur les effets de l'acépromazine chez les cervidés (Lopez-Olvera et al. 2007; Montané et al. 2007; Casas-Diaz et al. 2010).

Il semble important à ce stade de noter que le volume administré est fixe : 0,3 mL soit 1,5 mg. Les animaux ayant des poids variables entre 12,5 et 28,6 kg (selon le sexe, l'âge et l'individu), la dose administrée n'est pas la même pour chacun.

ii. Milieu de vie

Deux types de chevreuils sont étudiés dans notre projet : ceux vivant dans les milieux ouverts et ceux exclusivement forestiers. Des études antérieures ont montré un lien entre le profil comportemental des individus lors d'un fort stress aigu (capture) et leur occupation du territoire. Les individus s'aventurant plus en milieu ouvert durant la journée seraient moins réactifs à un stress aigu que les individus purement forestiers (Bonnot et al. 2014). En effet, les chevreuils n'ont pas tous la même capacité à gérer le compromis entre l'accès aux ressources et le risque que représente l'occupation des milieux ouverts. Les animaux forestiers, moins habitués à gérer cette exposition au risque, auraient ainsi des réponses physiologiques et comportementales plus fortes que les autres.

iii. Observation comportementale

L'analyse du comportement est basée sur un protocole spécifique, déjà utilisé dans le cadre d'autres publications (Bonnot et al. 2013; Bonnot et al. 2014).

Pendant les quatre phases du protocole (capture, attente dans le sabot, manipulation et lâché), des observations comportementales sont réalisées. Dans les deux premières étapes, l'observateur est la personne expérimentée la plus proche du lieu de capture. Pendant la manipulation et le lâché, l'observation est toujours faite par le même membre de l'équipe pour limiter au maximum le biais lié à l'observateur.

La capture et l'attente dans le sabot sont les deux phases les plus sensibles au biais. L'observateur y est extrêmement variable en fonction de la localisation de la capture et l'arrivée de l'animal est parfois difficile à observer (milieu très fermé, captures simultanées...). La surveillance du sabot est aussi difficile à intégrer car très variable en fonction de la personne à proximité et d'éventuelles autres captures au même endroit. Peu de données comportementales sont donc retenues durant ces deux phases.

Au contraire, la période de marquage et de relâcher est toujours évaluée par la même personne ce qui diminue considérablement la subjectivité.

Au total, 19 manifestations comportementales sont observées durant la capture de l'animal et sa relâche. En se basant sur l'expérience des captures de chevreuils, six ont été retenues (Tab.5).

Pour chaque comportement, une note est attribuée en fonction de son expression (0 si absence du comportement, 1 sinon) et parfois de son intensité (0 si absence du comportement, 0,5 si expression modérée, 1 si expression intense).

Le premier paramètre conservé est l'intensité de la lutte lors de la prise dans les filets ainsi que sur la table de manipulation. Ce type de comportement est couramment utilisé dans le cadre d'étude sur le stress des animaux sauvages. Un animal qui se débat violemment est considéré comme plus sensible au stress auquel il est exposé.

Le retournement de l'animal dans le sabot est observé dans peu de cas et survient lors d'une agitation très intense dans le sabot. Un tel comportement est considéré a priori comme indicateur d'une difficulté du chevreuil à faire face à la situation stressante que constitue le confinement.

Nous conservons aussi l'allure de fuite en fin de manipulation. Un lien entre la personnalité et cette vitesse de fuite a été établi chez le bétail (Müller et al. 2006; Velters et al. 2013). Un animal plus stressé aura ainsi tendance à fuir plus rapidement une fois relâché. Cette mesure est considérée comme un moyen objectif d'évaluer la réponse comportementale lors de la manipulation (Gibbons et al. 2011). Nous lui attribuons trois valeurs : 0 si le chevreuil trotte, 0,5 s'il court à vitesse modérée et 1 lors de fuite rapide. Cette observation nécessite que les lieux de marquage et de relâche soient situés en milieu ouvert (clairière, chemin, champ) afin d'optimiser l'observation.

La chute d'un animal est un autre moyen utilisé pour évaluer le stress d'un animal, en particulier chez le bétail (Velters et al. 2013). Dans notre travail, les chutes éventuelles lors du lâché sont enregistrées.

Enfin, la tentative de l'animal pour se gratter le collier est le dernier paramètre conservé. Ce paramètre est plus spécifique à notre protocole dans lequel les animaux sont équipés de colliers.

Phase de capture	Comportement	Abréviation	Valeurs prises
Capture	intensité de lutte	C.lut	absence de lutte (0) lutte modérée (0,5) lutte intense (1)
Sabot	retournement de l'animal sur le dos	S.ret	non (0) oui (1)
Manipulation	intensité de lutte	M.lut	absence de lutte (0) lutte modérée (0,5) lutte intense (1)
Relâché	allure et vitesse de fuite	R.cou	trot (0) course modérée (0,5) course rapide (1)
	animal se gratte le collier	R.gra	non (0) oui (1)
	chute	R.tom	non (0) oui (1)

Tab. 5 : Comportements retenus pour le calcul de la note comportementale

Une note comportementale est calculée comme la moyenne des notations de ces six comportements. Ce gradient varie donc de 0 à 1. La note comportementale correspond à la capacité de réponse au stress de l'animal lors de sa capture. Plus la note comportementale d'un animal est élevée, plus il sera considéré stressé par la capture.

iv. Mesure de la température rectale

La température corporelle est modifiée lors d'un épisode stressant par la SIH (hyperthermie de stress) développée dans la première partie. Elle est ainsi utilisée comme un indice du stress aigu à la capture.

La température rectale de l'animal est mesurée au début et à la fin de la manipulation. Ce paramètre est connu pour être modifié par la réaction de l'animal face au stresser affronté à travers le mécanisme d'hyperthermie de stress (SIH) que nous avons détaillé précédemment. Pour les données jusqu'en 2012 inclus, les mesures étaient effectuées grâce à un thermomètre électronique classique (Digitemp Color Thermometer) d'une précision 0,1°C. A partir de 2013, un thermomètre filaire spécialement conçu et étalonné pour le CEFS a été utilisé (Ecoscan YSI 400 avec sonde YSI 402 flexible, AVANTEC).

La mesure retenue pour notre étude correspond à la moyenne des deux relevés de température.

e. Autres prélèvements

En plus des données détaillées jusqu'ici, notons que d'autres prélèvements sont réalisés dans le cadre d'autres thématiques de recherche. Des selles sont récoltées directement dans le rectum pour analyse coproscopique (parasitologie). Des écouvillons vaginaux sont réalisés chez les femelles pour la recherche de maladies infectieuses abortives (chlamydiae, brucellose). Enfin, un morceau de cartilage est découpé lors du marquage auriculaire pour typage génétique.

4) Etude statistique

Une première étude statistique a été conduite avec l'objectif de décrire la structure des données. Par la suite, notre hypothèse selon laquelle certains des paramètres hématologiques et biochimiques seraient indicateurs de stress a été investiguée grâce à une analyse multivariée. Toutes les analyses statistiques ont été réalisées grâce au logiciel R (R Development Core Team 2014).

a. Statistiques descriptives

Une première analyse de l'échantillon de chevreuils est réalisée par comparaison des proportions de mâles et de femelles, ainsi que des différentes classes d'âges en fonction de site et de l'année de capture des animaux. Un test de comparaison de fréquences (test du χ^2) est utilisé pour cela.

Une description statistique de la biométrie des chevreuils est menée dans un second temps par calcul de la moyenne et de la variance. Les moyennes de poids, circonférence du cou et longueur du métatarse sont comparées en fonction du sexe et de l'âge des animaux.

L'homogénéité des variances est testée grâce à un test de Fisher (2 catégories) ou de Bartlett (plus de deux catégories).

Dans le cas de deux catégories, un test de Student est utilisé si les variances sont homogènes. Dans le cas contraire, on y applique la correction de Welsh. Pour comparer plus de deux moyennes, une ANOVA par permutation est effectuée en cas d'homogénéité des variances, et un test non paramétrique de Kruskal-Wallis sinon. Lorsque le nombre de catégories est supérieur à deux et que l'analyse précédente indique qu'il existe globalement une différence significative entre les moyennes, un test de comparaisons multiples avec correction de p par la méthode de Bonferroni est utilisé pour comparer les moyennes deux à deux.

La corrélation entre la note comportementale et la température rectale a été investiguée en calculant les coefficients de corrélation linéaire de Spearman. Nous avons utilisé la fonction « spearman.test » disponible dans le package « psperman » (Savicky 2009).

Pour la relation entre la note ou la température selon la tranquillisation et le milieu de vie, le même protocole que celui utilisé pour la comparaison des moyennes des paramètres sanguins a été utilisé.

b. Modèles linéaires

Afin de déterminer quel paramètre sanguin pourrait être considéré comme un marqueur du stress, une analyse multivariée est conduite sur les données collectées. Nous avons utilisé pour cela des modèles linéaires mixtes pour expliquer chaque paramètre sanguin par les témoins de stress mesurés. L'identité de l'animal est posée comme facteur aléatoire afin de tenir compte des captures successives d'un même individu. Les variables explicatives sont quand à elles les témoins de stress, à savoir la note comportementale, la tranquillisation ou non de l'animal, sa température rectale et son milieu de vie.

Toutefois, comme nous l'avons vu précédemment, l'utilisation de l'acépromazine a un effet connu sur beaucoup des paramètres hématologiques et biochimiques, ainsi que sur l'état de stress de l'animal. Les individus étant morphologiquement différents, ils n'ont pas reçu la même dose de tranquillisant selon leur poids, mais aussi leur sexe et leur âge. Afin de s'affranchir de cette variabilité des paramètres physiques sont ajoutés aux variables explicatives : sexe, catégorie d'âge et poids de l'animal. L'effet du délai entre la tranquillisation et la prise de sang, qui varie selon les animaux, est lui aussi pris en compte en intégrant ce paramètre dans le modèle. Ces paramètres (âge, sexe, poids, délai de prélèvement) sont posés dans tous les modèles et n'interviennent pas dans la sélection des meilleurs modèles à la différence des témoins de stress, note comportementale (Note), tranquillisation ou non (ACP), température rectale (T) et milieu de vie (Milieu).

Une interaction est prise en compte, car elle repose sur des hypothèses biologiques fortes. Il s'agit de l'interaction entre la tranquillisation et le temps. En effet, l'acépromazine atteint son maximum d'efficacité en 30 à 45 minutes et son effet diminue ensuite progressivement. La durée totale d'action est estimée à 6-8 h (Plumb 2011), l'évolution du paramètre au cours du temps varie selon la tranquillisation ou non de l'animal. Au total, sept modèles linéaires mixtes sont comparés pour chaque paramètre sanguin.

N°	Paramètres contrôlés	Variables explicatives	Facteur aléatoire
1	Age + Sexe + Poids + TPS		+ (1 Ind)
2	Age + Sexe + Poids + TPS	+ ACP	+ (1 Ind)
3	Age + Sexe + Poids + TPS	+ T	+ (1 Ind)
4	Age + Sexe + Poids + TPS	+ Note	+ (1 Ind)
5	Age + Sexe + Poids + TPS	+ Milieu	+ (1 Ind)
6	Age + Sexe + Poids + TPS	+ Note + ACP	+ (1 Ind)
7	Age + Sexe + Poids + TPS	+ ACP*TPS	+ (1 Ind)

Tab. 6 : Différents modèles construits lors de l'étude multivarie des paramètres sanguins

Cette sélection est réalisée à partir du critère d'information d'Akaike corrigé (Burnham et al. 2002).

Ce critère calculé donne une estimation de la perte d'information obtenue nécessairement en utilisant un modèle pour représenter le processus qui génère les données. Il repose sur un

compromis entre la qualité de l'ajustement du modèle et la sa complexité en pénalisant les modèles ayant un grand nombre de paramètres afin de satisfaire le critère de parcimonie. Le modèle dont l'AICc est le plus faible reflète le meilleur compromis entre la vraisemblance et la simplicité du modèle. Dans notre étude, le modèle dont l'AICc est le plus faible est retenu. Dans le cas où plusieurs modèles sont proches ($\Delta AICc < 2$), le modèle le plus simple est retenu.

Dans le cas des électrophorèses des protéines sériques, pour lesquelles les données sont moins nombreuses, un seul individu non tranquilisé est disponible. Il a donc été impossible d'intégrer la tranquillisation dans la sélection de modèle. Seuls les modèles n°1, 3, 4 et 5 ont donc été comparés pour ces paramètres sanguins (globulines $\alpha 1$, $\alpha 2$, β , γ).

Si la construction de modèles linéaires permet de mettre en évidence des relations statistiquement significatives entre un paramètre sanguin et un indicateur de stress, l'analyse des graphiques des valeurs prédites par le modèle permet de visualiser l'importance quantitative de la relation et sa signification biologique. Dans cet objectif, les graphes de prédiction ont dans un second temps été construits à partir du modèle retenu pour chaque paramètre, en fixant les paramètres d'âge, de sexe, de délai et de poids.

Tous les modèles linéaires ont été construits en utilisant la fonction « lmer » du package « lme4 » (Bates et al. 2013). La sélection de modèle a été réalisée à partir de la fonction 'aictab' du package « AICCmodavg » (Mazerolle et al. 2015). Enfin, le tracé des graphiques de prédiction a quand à lui utilisé le package « ggplot2 » (Wickham H 2009).

II. Résultats

1) Description de l'échantillon de chevreuils

a. Détail des captures

Entre 2009 et 2014, 285 chevreuils sauvages ont été capturés. Parmi eux, sept individus ont été retirés de l'étude : 6 six pour des blessures graves nécessitant l'euthanasie ou une mort suite à la capture, et un autre animal capturé dans des conditions très différentes des autres animaux lors d'une capture spécifique après avoir dispersé à plus de 35 km de distance (commune de Saint Paul de Neste, 31) afin de récupérer le collier. Les données hématologiques et biochimiques ne sont pas disponibles pour celui-ci. Au total notre étude porte donc sur 278 captures.

Ces captures correspondent à des animaux rencontrés pour la première fois mais aussi à des recaptures d'animaux déjà connus, marqués soit au cours des sessions précédentes, soit lors du marquage des faons peu après la naissance dans le cadre d'autres projets de recherche. Comme nous l'avons vu précédemment, nous conserverons l'ensemble des captures pour maximiser le nombre de données. Les recaptures d'animaux représentent ainsi 23% des données (n=65), avec pour la plupart une première capture ayant eu lieu avant 2009. Parmi ces animaux, la plupart ont été capturés seulement deux ou trois fois mais une femelle a été prise dans les filets jusqu'à 6 fois successives.

Si globalement le nombre total d'animaux pris chaque année varie peu, avec un minimum de 42 animaux en 2013 et 2014 et un maximum de 52 en 2011, les variations intra et inter-sites de capture sont plus importantes comme le montre la figure suivante. Ceci s'explique d'une part par l'abondance des animaux mais aussi par le contexte et les aléas de la capture (conditions climatiques, nombre de participants, dérangements éventuels par des chasseurs ou des chiens...). On peut cependant noter que les captures en milieu purement forestier (Fabas forêt et Mauboussin) représentent un peu plus de 22% du total, avec 62 captures sur 278.

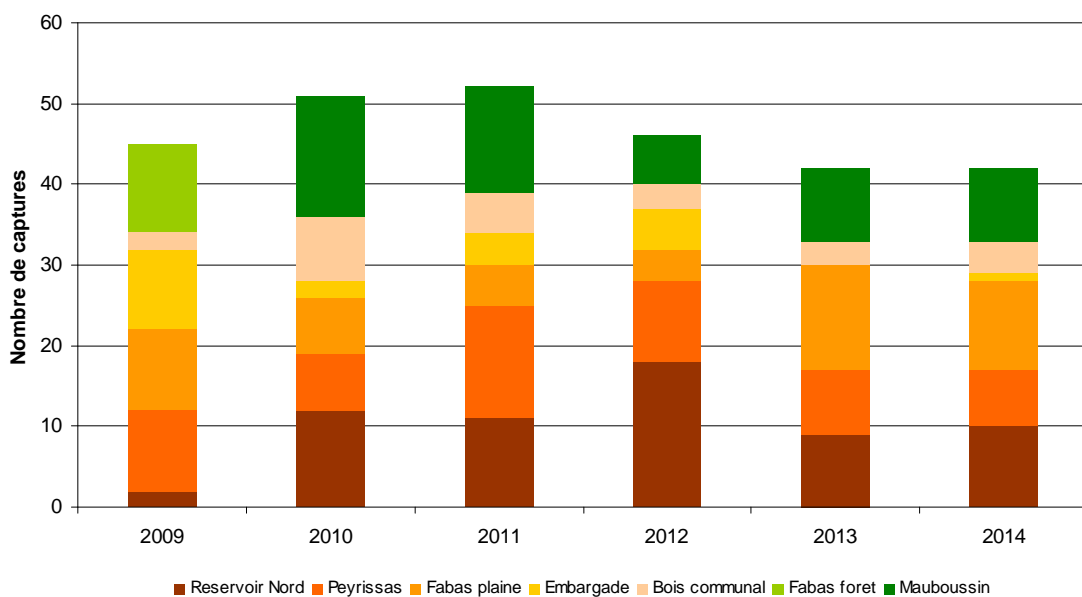


Fig. 30 : Répartition des captures par site et par année

b. Structure de la population

Les animaux capturés sont en majorité des femelles (59%) avec 166 individus contre 112 mâles. Les adultes représentent un peu plus de la moitié des individus avec 152 animaux (54%). Les chevillards et les yearlings sont moins représentés avec respectivement 85 et 41 individus (soit 31% et 15%).

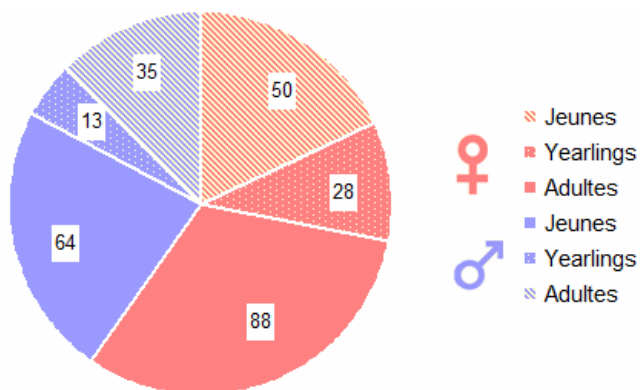


Fig. 31 : Répartition par âge et sexe des animaux capturés (le nombre d'individus est indiqué dans les cadres blancs)

Comme nous l'avons vu précédemment, les effectifs capturés sont variables selon les sites et les années. La proportion de femelles varie de 44% (Embargade) à 67% (Réservoir Nord). La proportion d'animaux de chaque classe d'âge est également variable selon le site : de 14% à 56% pour les jeunes, de 9% à 23% pour les yearlings et enfin de 31% à 71% des captures pour les animaux adultes. Pour vérifier ces éventuelles différences dans la structure des populations de chevreuils, un test de comparaison de fréquences (test du χ^2) est utilisé. Celui-ci ne montre pas de différence significative, que ce soit pour le sexe ($\chi^2=4,28$, $df=6$, $p=0,64$) ou pour l'âge des animaux ($\chi^2=9,09$, $df=12$, $p=0,70$).

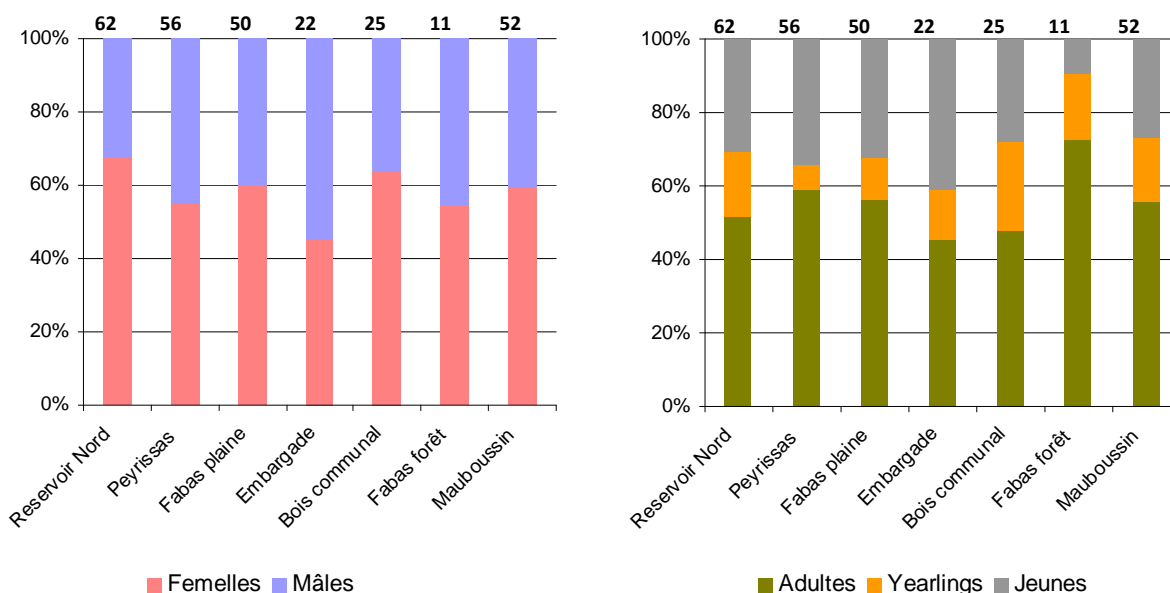


Fig. 32 : Proportion des différentes classes d'âge et des sexes des animaux capturés sur chaque site (en haut de chaque barre est indiqué le nombre total de captures par site)

Le même raisonnement a été mené sur la structure de la population de chevreuils en fonction des années. La proportion de femelles varie de 44% (Embargade) à 67% (Réservoir Nord). La

proportion d'animaux de chaque classe d'âge est également variable selon le site : de 32% à 42% pour les jeunes, de 8% à 18% pour les yearlings et enfin de 42% à 55% des captures pour les animaux adultes. Là encore, aucune différence significative n'a été mise en évidence en fonction de l'année de capture, que ce soit pour le sexe ($\chi^2=2,11$, $df=5$, $p=0,83$) ou pour l'âge des animaux ($\chi^2=6,82$, $df=10$, $p=0,74$).

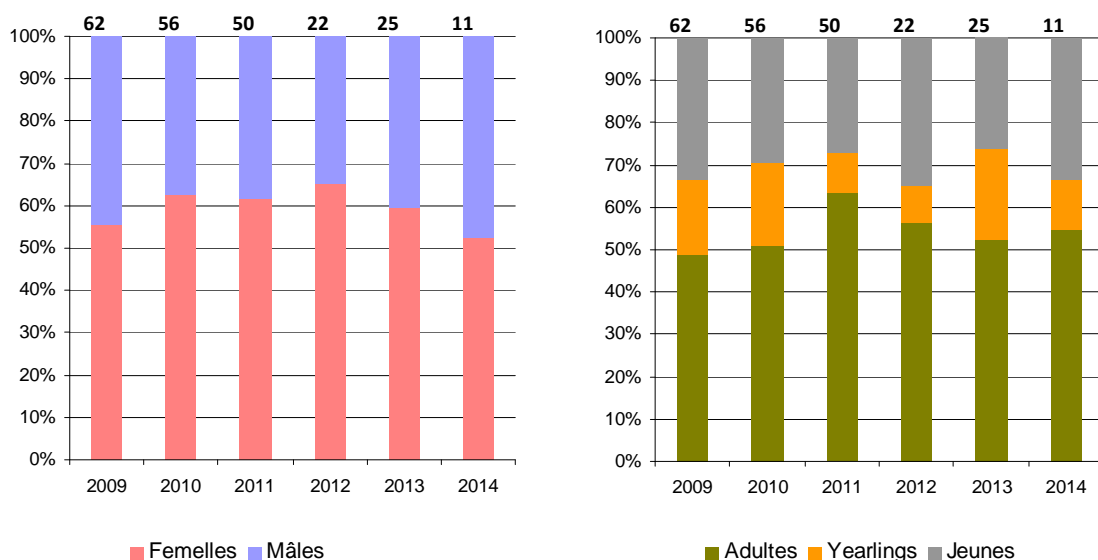


Fig. 33 : Proportion des différentes classes d'âge et des sexes des animaux capturés par année (en haut de chaque barre est indiqué le nombre total de captures par année)

c. Biométrie des animaux capturés

Les animaux capturés pèsent entre 12,5 et 28,6 kg pour un poids moyen de 20,5 kg (+/- 3,4kg). Ces valeurs sont similaires aux observations effectuées dans d'autres régions françaises (Girardot 2011; Kientz 2014) .

Les poids des animaux sont évidemment différents selon le sexe et l'âge des animaux : les mâles sont plus lourds que les femelles ($t=-3,55$, $df=262$, $p<0,01$), les jeunes plus légers que les yearlings, eux-mêmes plus légers que les adultes ($\chi^2=176,3$, $df=2$, $p<0,01$). De la même façon, les mâles ont un cou plus épais que les femelles ($t=-7,9951$, $df=270$, $p<0,01$) et des métatarses légèrement plus longs ($t=-4,2271$, $df=239$, $p<0,01$). Des différences significatives sont aussi observées entre les catégories d'âge ($F=43,5$, $df=269$, $p<0,01$ pour la circonférence du cou et $\chi^2=80,5$, $df=2$, $p<0,01$ pour la longueur du métatarse).

		Catégorie d'âge			Sexe	
		Chevillards (< 1 an)	Yearlings (1-2 ans)	Adultes (> 2 ans)	Femelles	Mâles
Poids (kg)	n	84	38	142	159	105
	moyenne	16,7	20,3	22,8	19,9	21,4
	SD	1,8	2,0	2,1	3,2	3,5
	min-max	12,5 - 19,9	15,7 - 24,5	17,9 - 28,6	12,5 - 27,3	13,3 - 28,6
Circonférence du cou (cm)	n	83	39	150	162	110
	moyenne	22,7	24,6	25,9	23,7	26,3
	SD	1,9	2,8	2,8	2,4	3,0
	min-max	18,6 - 27,5	20,0 - 30,0	20,8 - 34,0	18,6 - 31,5	20,0 - 34,0
Longueur du métatarse (cm)	n	82	39	150	161	110
	moyenne	33,1	33,9	34,5	33,7	34,3
	SD	1,0	0,8	1,1	1,2	1,1
	min-max	29,5 - 35,3	32,2 - 35,7	31,3 - 38,0	29,5 - 38,0	31,1 - 37,6

Tab. 7 : Morphologie des animaux rencontrés : variations selon le sexe et la catégorie d'âge

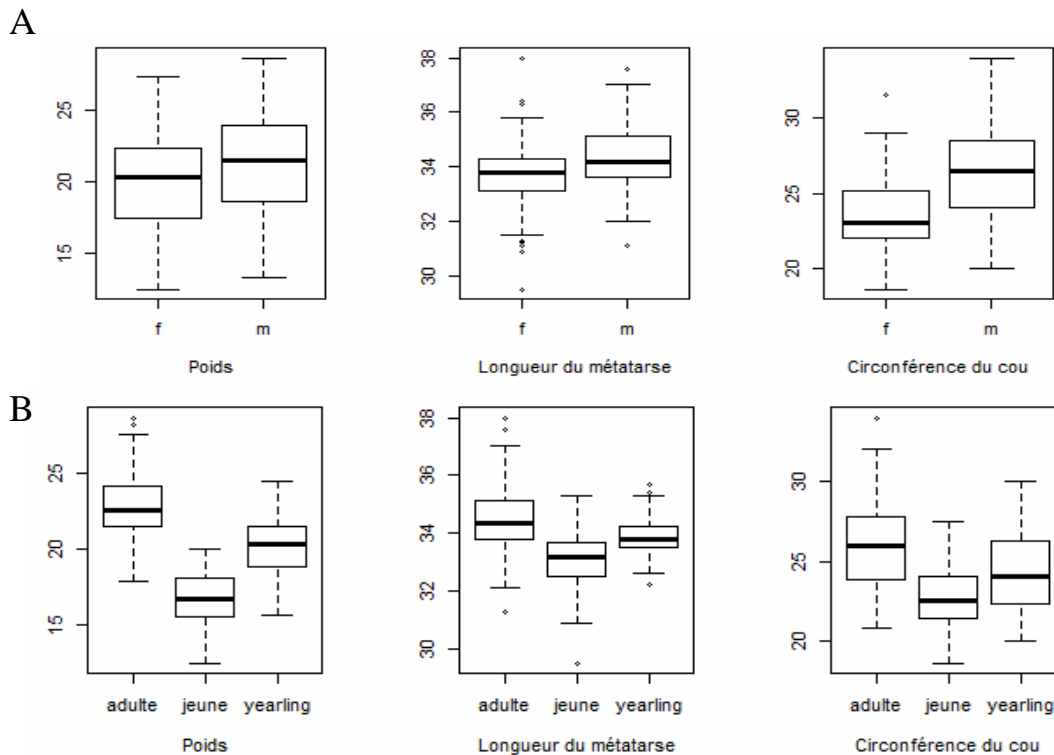


Fig. 34 : Distributions des caractéristiques morphologiques des animaux capturés selon leur sexe (A) et leur catégorie d'âge (B)

2) Description des témoins de stress évalués lors de la capture

a. Tranquillisation des animaux

Les données de tranquillisation sont disponibles pour 269 captures. Les animaux capturés ont pour une immense majorité été tranquilisés : 256 animaux sur 269 soit 95%.

En raison des contraintes techniques de terrain, la même quantité a été administrée à chaque chevreuil (0,3mL). Ceux-ci ayant des poids variables, en particulier entre des animaux d'âges différents, la dose réelle de tranquillisant reçue varie d'un individu à l'autre (fig. 35). De plus, lors de mauvaises manipulations, au cours desquelles le chevreuil n'a pas reçu sa dose complète, la dose vraisemblablement injectée a été relevée. Au final, les animaux ont reçu une dose moyenne de 0,07 mg/kg (+/- 0,025mg/kg).

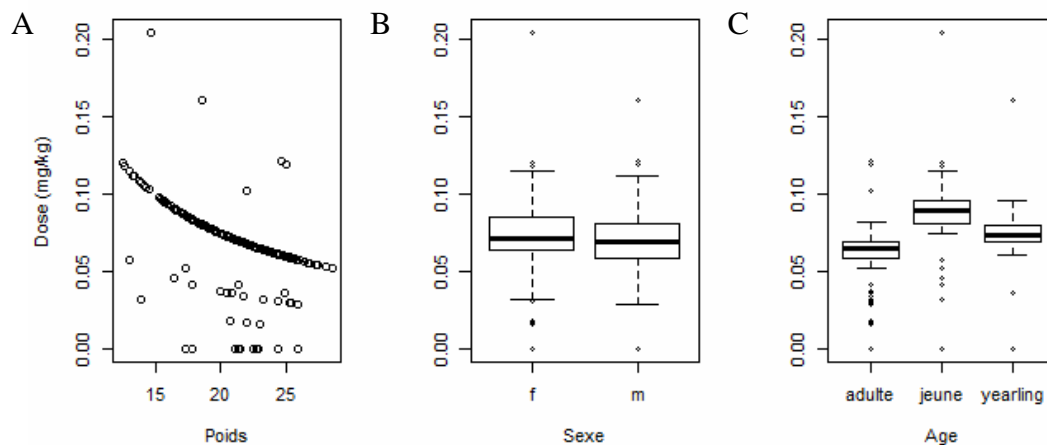


Fig. 35 : Distributions des doses d'acépromazine reçues par les animaux capturés selon leur poids (A), leur sexe (B) et leur catégorie d'âge (C)

Si le poids est lié de façon significative à l'âge et au sexe des animaux, il s'avère que la dose dépend significativement de l'âge ($F=35,7$, $df=252$, $p<0,01$) mais pas du sexe des animaux ($t=0,9677$, $df=253$, $p=0,39$).

Comme nous l'avons détaillé dans la partie I-4, le fait que les animaux n'aient pas reçu la même dose de tranquillisant est primordiale pour la suite de l'étude. Les facteurs Sexe, Age et Poids seront fixés lors de la construction de modèles linéaires afin de s'affranchir de l'effet dose sur le comportement et la physiologie des chevreuils.

De la même manière, le délai entre la tranquillisation et le prélèvement sanguin est très variable. Disponible pour 260 captures, il varie entre 24 min et 445 min (7h25), avec une moyenne de 235,8 min +/- 75,9 min (soit 3h56).

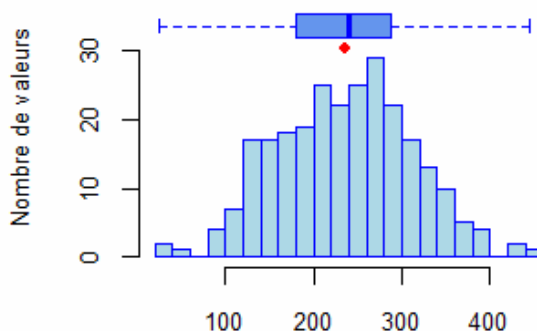


Fig. 36 : Distribution du délai entre la tranquillisation et le prélèvement sanguin en minutes.
Le point rouge correspond à la moyenne et le trait de la boîte à moustache à la médiane

Cette variabilité est liée aux contraintes du terrain, au temps nécessaire pour parcourir l'ensemble du dispositif et acheminer les animaux sur le lieu de marquage. Comme nous l'avons vu dans la première partie, l'effet de l'acépromazine atteint son pic en 45 min puis s'estompe progressivement pour une durée totale de 3 à 6h (Plumb 2011). De la même manière que pour le sexe, l'âge et le poids, ce facteur temps (TPS) sera fixé lors de la construction de modèles linéaires afin de s'affranchir de l'évolution de l'effet tranquillisant sur l'animal.

b. Milieu de vie

Sur l'ensemble des animaux capturés, 22,7% ($n=63$) l'ont été dans les forêts de Mauboussin ou de Fabas et sont considérés comme majoritairement forestiers. Les animaux de milieux plus ouverts représentent 77,3% de l'échantillon ($n=215$).

c. Comportement

Comme nous l'avons vu précédemment, les 19 manifestations comportementales observées lors de la capture reçoivent une note de 0 à 1 en fonction de l'expression ou non du comportement et parfois de son intensité. Le tableau suivant présente les résultats de chaque paramètre observé pour la totalité des 278 captures.

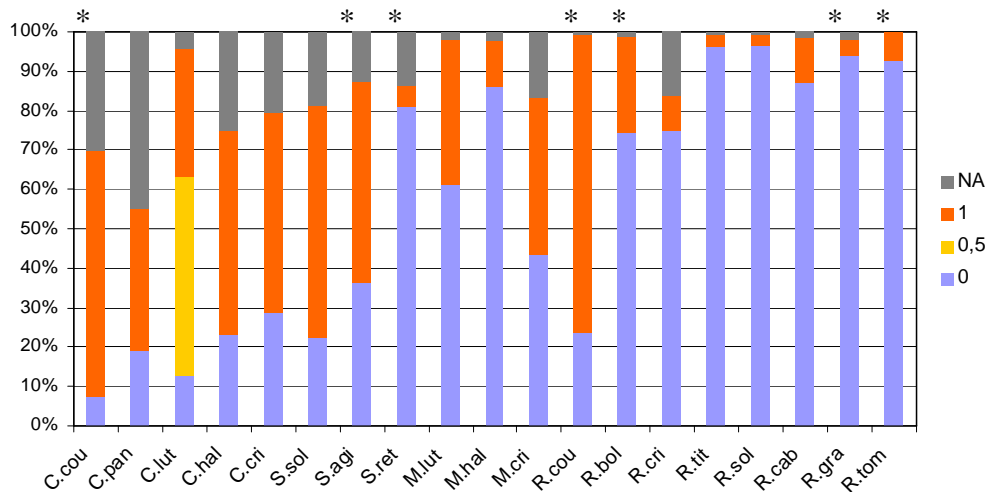


Fig. 37 : Disponibilité des données pour l'ensemble des comportements observés sur la totalité des captures: les colonnes marquées d'un * correspondent aux comportements retenus dans le calcul de la note comportementale.

On remarque notamment que le relevé des observations est plus rigoureux durant les phases de manipulation et de relâche, où l'observateur est toujours le même et est dédié à ce rôle. La variabilité de l'observateur et l'activité sur le terrain font que pour les paramètres plus précoces, le nombre de valeurs manquantes est plus important.

On note par ailleurs une importante diversité dans l'expression des comportements. Si une grande majorité des animaux se débat dans le filet (plus de 80%), moins de 10% des animaux se couchent lorsqu'ils sont lâchés.

La note comportementale calculée à partir de 6 comportements détaillés plus tôt a été obtenue pour 223 captures. Elle peut prendre 13 valeurs comprises entre 0 et 1. Sa moyenne s'élève à 0,25 (+/- 0,14).

On constate que les notes comportementales sont assez peu dispersées, avec seulement 7% des individus avec une note supérieure à 0,5.

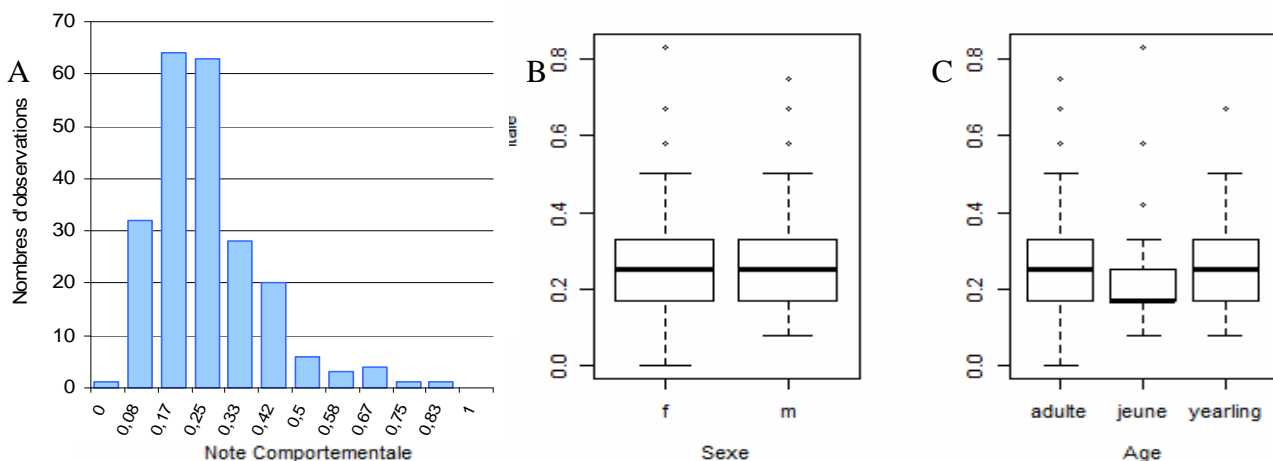


Fig. 38 : Distribution de la note comportementale des animaux capturés : seule (A) , par rapport à l'âge (B) et rapport au sexe (C)

Aucune différence significative n'est observée pour cette note entre les sexes ($t=-0,74$, $df=193$, $p=0,46$). Par contre, la note exprimée par les animaux de moins d'un an est plus faible que celle des autres chevreuils ($\chi^2=8,49$, $df=2$, $p=0,01$).

d. Température rectale

La température rectale est disponible pour 270 captures. Elle varie entre 36,1°C et 41,1°C selon les individus, avec une moyenne de 38,9°C (+/- 0,68).

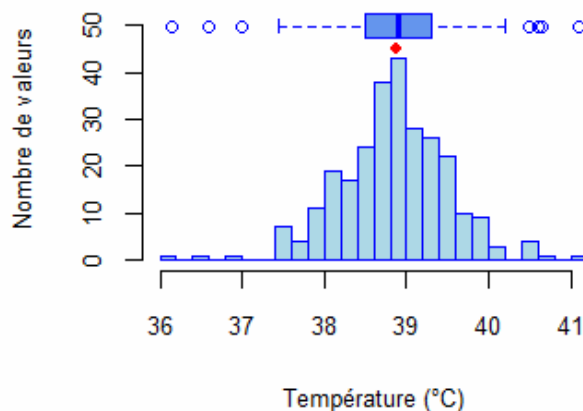


Fig. 39 : Distribution de la température rectale des animaux capturés
Le point rouge correspond à la moyenne et le trait de la boîte à moustache à la médiane

e. Corrélation entre les indicateurs de stress

Une corrélation significative positive a été observée entre la note comportementale et la température rectale, avec un coefficient de corrélation des rangs de Spearman évalué à 0,18 ($p < 0,01$).

Au contraire, les variations de la note comportementale selon la tranquillisation et le milieu ne sont pas significatives (respectivement $t = 0,19$, $df = 7,45$, $p = 0,85$ et $t = -1,54$, $df = 221$, $p = 0,12$). De même pour les variations de la température selon la tranquillisation et le milieu (respectivement $t = 0,27$, $df = 12,94$, $p = 0,79$ et $t = -1,27$, $df = 268$, $p = 0,21$).

3) Description des paramètres sanguins analysés sur les échantillons

a. Hématologie

Le tableau suivant présente les résultats moyens obtenus pour l'ensemble des prélèvements effectués.

Notons que tous les paramètres n'ont pas été étudiés sur le même nombre d'échantillons. Si la majorité porte sur 225 échantillons, certains diffèrent. Le microhématocrite n'a ainsi pas été mesuré sur une série d'individus en 2009 et les données comptent donc 218 valeurs. Pour une douzaine d'individus, la numération par l'automate n'a pas fonctionné mais la lecture du frottis a quand même été réalisée donc les proportions de globules blancs sont présentes mais pas la valeur absolue. Enfin, la présence assez fréquente d'agrégats plaquettaires explique le plus faible nombre de données pour ce paramètre.

	Unité	n	Moyenne	SD	min - max
GR	$\times 10^6/\mu\text{L}$	225	11,37	1,05	8,94 – 14,43
Hb	g/dl	225	16,66	1,59	12,70 - 23,10
Ht	%	218	45,20	4,24	35 - 60
VGM	fL	225	42,74	3,65	31,70 – 51,10
CCMH	pg	225	34,47	1,91	31,0 – 39,5
TCMH	g/dl	225	14,68	0,86	12,10 – 17,10
GB	$\times 10^3/\mu\text{L}$	225	8,42	2,48	2,18 – 15,82
GNN	$\times 10^3/\mu\text{L}$	225	5,64	2,20	0,98 – 12,25
GNE	$\times 10^3/\mu\text{L}$	225	0,06	0,13	0 – 1,44
GNB	$\times 10^3/\mu\text{L}$	225	0,07	0,09	0 – 0,42
Lympho	$\times 10^3/\mu\text{L}$	225	2,51	0,91	0,71 – 5,16
Mono	$\times 10^3/\mu\text{L}$	225	0,14	0,15	0 – 0,65
GNN	%	237	65,94	11,28	24 - 92
GNE	%	237	0,70	1,34	0 - 13
GNB	%	237	0,87	1,00	0 - 5
Lymphocytes	%	237	30,84	10,87	8 - 74
Monocytes	%	237	1,64	1,71	0 - 10
Rapport GNN/Lympho.		237	2,59	1,51	0,32 – 11,50
PLT	$\times 10^3/\mu\text{L}$	178	336,00	121,20	28 - 663

Tab. 8 : Valeurs moyennes de paramètres hématologiques de l'ensemble des animaux capturés

Afin de préciser la distribution des paramètres sanguins, nous avons construits différents graphes présentés ci-après.

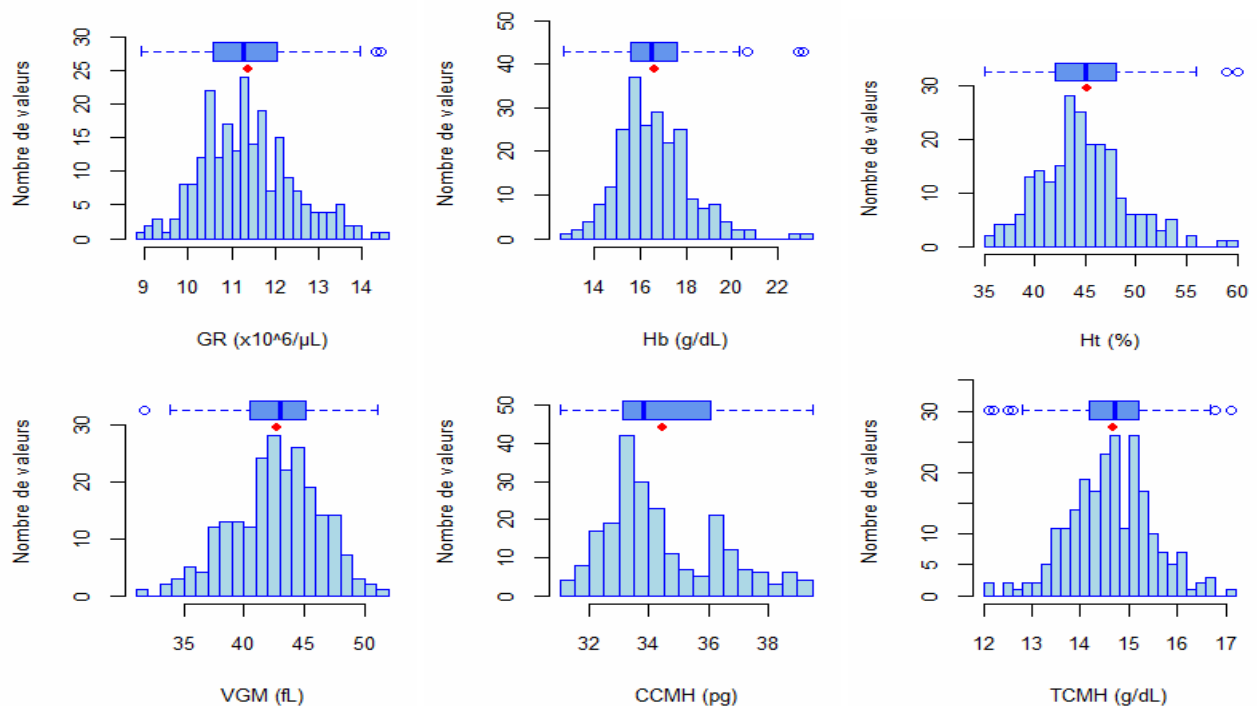


Fig. 40 : Distributions des paramètres hématologiques de l'ensemble des animaux capturés.

Le point rouge correspond à la moyenne et le trait de la boîte à moustache à la médiane

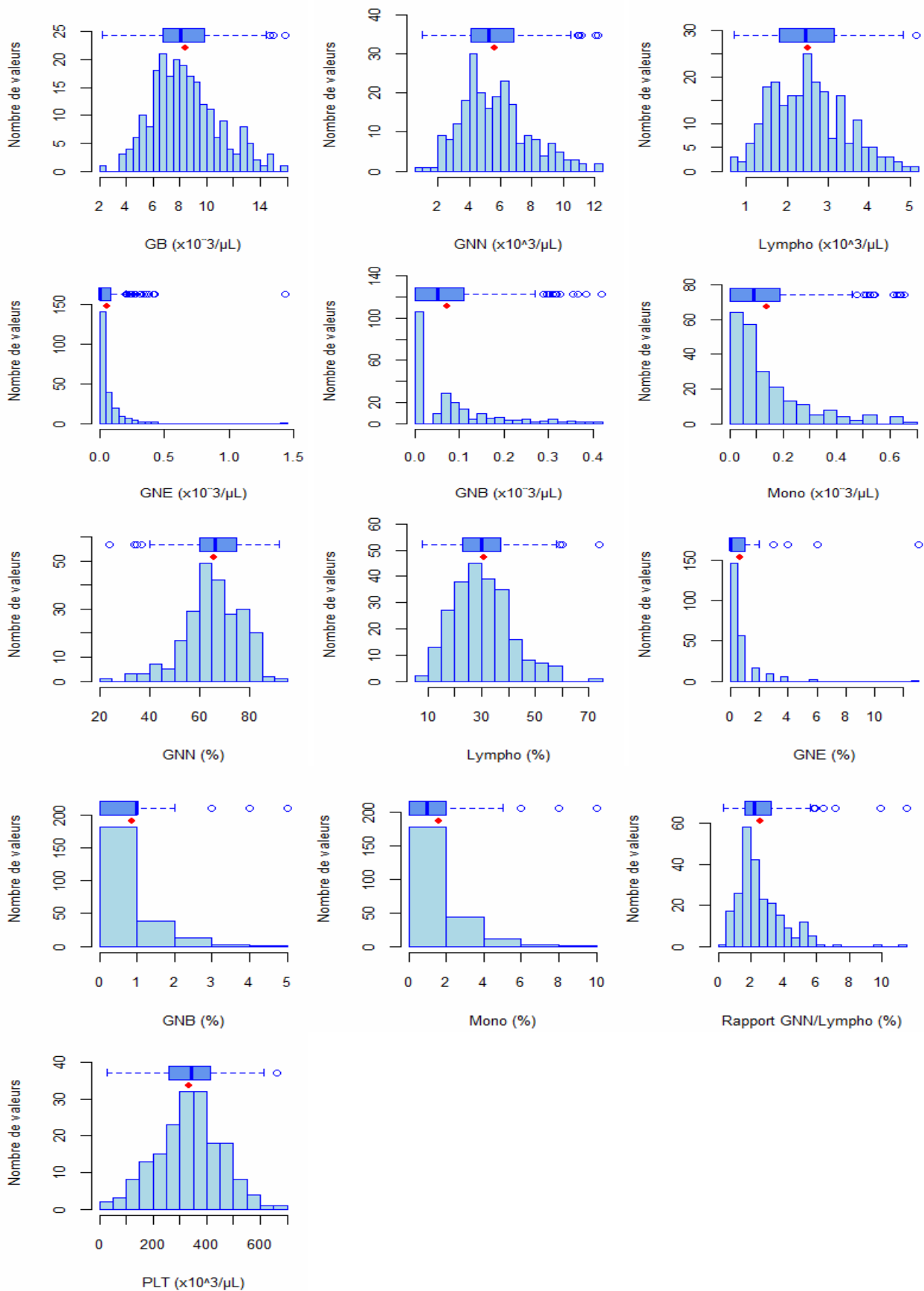


Fig. 41 : Distributions des paramètres hématologiques de l'ensemble des animaux capturés (suite)
 Le point rouge correspond à la moyenne et le trait de la boîte à moustache à la médiane

b. Biochimie

Un tableau, construit de la même façon que le précédent, présente les résultats moyens obtenus pour l'analyse biochimique de l'ensemble des prélèvements effectués. 216 échantillons ont été analysés pour chaque paramètre à l'exception de l'électrophorèse des protéines plasmatiques qui n'a commencé qu'en 2013 et compte 78 échantillons.

	Unité	n	Moyenne	SD	min - max
Créatinine	μmol/L	216	104,1	22,96	55 – 214
Urée	mmol/L	216	8,29	2,61	3,59 – 20,7
Fructosamine	μmol/L	216	295,1	48,85	182,5 – 445,0
Protéines totales	g/L	216	62,09	5,33	41,92 – 75,0
Albumine	g/L	216	34,62	5,23	21,0 – 48,3
Globulines	Total	g/L	27,47	5,05	17,9 – 43,0
	α1	g/L	3,31	0,59	2,4 – 5,1
	α2	g/L	4,53	0,60	3,1 – 6,9
	β	g/L	5,64	1,40	3,8 – 11,7
	γ	g/L	11,68	3,09	6,20 – 22,50

Tab. 9 : Valeurs moyennes de paramètres biochimiques de l'ensemble des animaux capturés

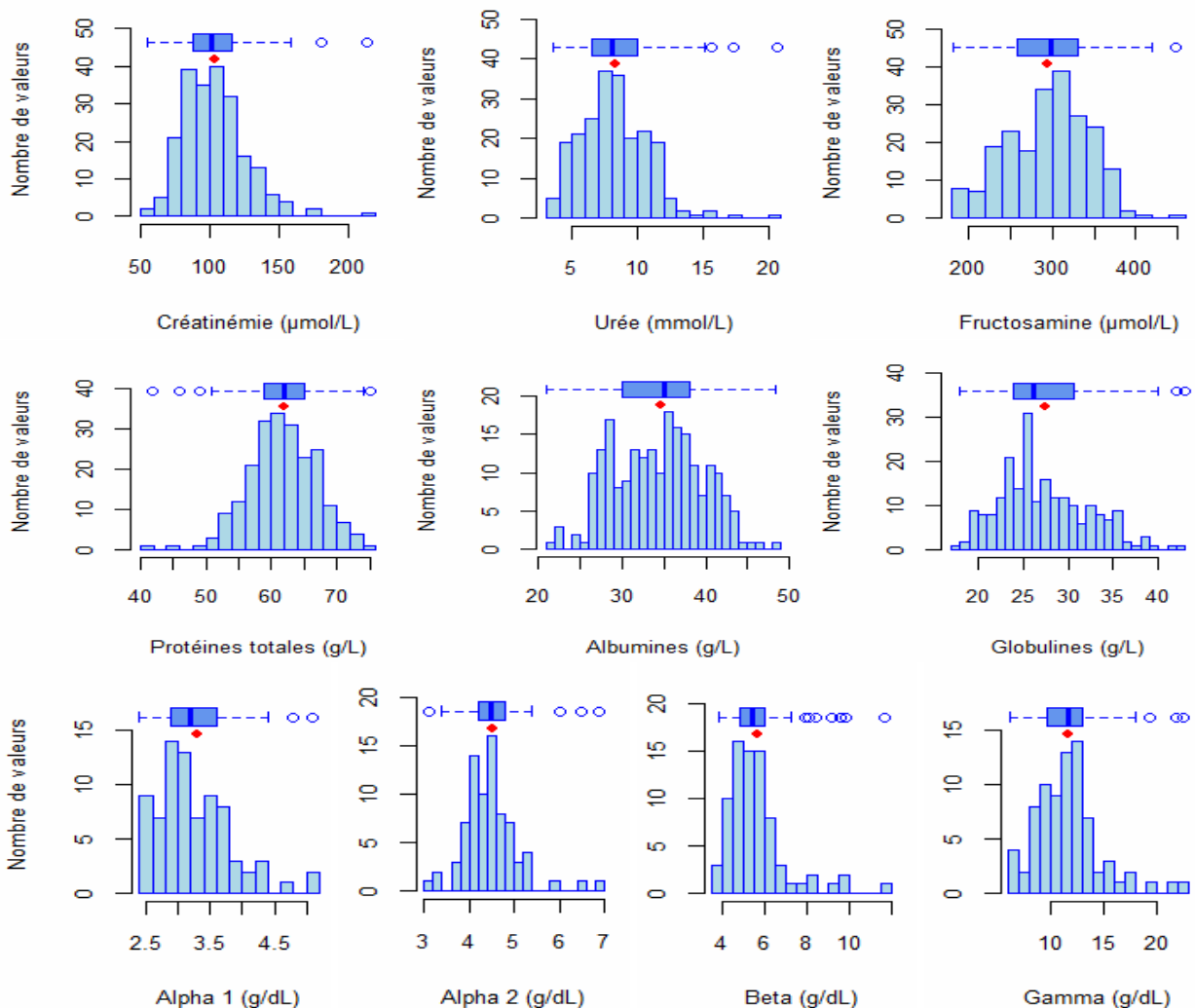


Fig. 42 : Distributions des paramètres biochimiques de l'ensemble des animaux capturés

4) Détermination des relations entre paramètres sanguins et marqueurs de stress

L'analyse des paramètres sanguins a été réalisée grâce à des modèles linéaires mixtes à travers le protocole présenté précédemment. Nous détaillerons ici dans un premier temps la sélection des modèles puis l'analyse des différents modèles retenus.

a. Sélection du modèle

Les différents modèles linéaires ont été construits pour chaque paramètre sanguin et le meilleur modèle a été sélectionné selon le protocole basé sur l'utilisation du Critère d'Information d'Akaike corrigé (AICc). L'AICc est donnée pour chaque modèle, ainsi que la différence par rapport au modèle possédant l'AICc la plus faible. Le modèle retenu est présenté en gras et coloré. Un récapitulatif du modèle sélectionné pour chaque paramètre sanguin sera présenté par la suite.

		Paramètres sanguins											
		Globules rouges		Hémoglobine		Hématocrite		VGM		CCMH		TCMH	
Modèle	k	AICc	ΔAICc	AICc	ΔAICc	AICc	ΔAICc	AICc	ΔAICc	AICc	ΔAICc	AICc	ΔAICc
Age + Sexe + Poids + TPS	8	528,9	31,3	622,3	27,3	934,4	27,6	862,4	5,6	687,4	4,9	379,2	0,6
Age + Sexe + Poids + TPS + ACP	9	509,8	12,2	606,8	11,8	917,5	10,7	858	1,2	685	2,5	378,6	0
Age + Sexe + Poids + TPS + T	9	530,7	33,1	625,1	30,1	935,3	28,5	864,6	7,8	690,4	7,9	383,8	5,2
Age + Sexe + Poids + TPS + Note	9	515,6	18,0	609,6	14,6	923,3	16,5	861,5	4,7	685,6	3,1	380,8	2,2
Age + Sexe + Poids + TPS + Milieu	9	532,4	34,8	625,2	30,2	935,4	28,6	859,2	2,4	682,6	0,1	383,4	4,8
Age + Sexe + Poids + TPS + Note + ACP	10	497,6	0	595	0	906,8	0	856,8	0	682,5	0	380,8	2,8
Age + Sexe + Poids + TPS + ACP*TPS	10	519,2	21,6	615,6	20,6	924	17,2	864,9	8,1	692,5	1	389,4	10,8

		Paramètres sanguins											
		Globules blancs		GNN		GNE		GNB		Lymphocytes		Monocytes	
Modèle	k	AICc	ΔAICc	AICc	ΔAICc	AICc	ΔAICc	AICc	ΔAICc	AICc	ΔAICc	AICc	ΔAICc
Age + Sexe + Poids + TPS	8	774,9	0,7	727,4	1,0	-272,6	0,0	-232,4	0,0	459,3	0,0	-114,4	0,0
Age + Sexe + Poids + TPS + ACP	9	775,1	0,9	727,7	1,2	-265,6	7,0	-226,8	5,6	451,8	2,5	-108,5	5,8
Age + Sexe + Poids + TPS + T	9	776,7	2,5	729,7	3,2	-263,4	9,2	-226,6	5,8	462,5	3,2	-105,8	8,5
Age + Sexe + Poids + TPS + Note	9	774,2	0,0	726,5	0,0	-266,3	6,3	-227,8	4,6	459,7	0,4	-111,6	2,8
Age + Sexe + Poids + TPS + Milieu	9	776,7	2,5	729,4	2,9	-267,1	5,5	-226,9	5,5	461,7	2,4	-107,6	6,8
Age + Sexe + Poids + TPS + Note + ACP	10	774,5	0,3	726,9	0,4	-259,4	13,2	-222,1	10,4	462,0	2,7	-105,8	8,6
Age + Sexe + Poids + TPS + ACP*TPS	10	781,9	7,7	732,4	5,9	-252,1	20,5	-213,1	19,3	465,1	5,8	-95,7	18,6

Tab. 10 : Sélection des modèles linéaires mixtes pour l'investigation de la variation des paramètres sanguins en fonction des témoins de stress des chevreuils : tranquillisation (ACP), température rectale (T), milieu de vie (Milieu) et note comportementale à la capture (Note).

Le modèle de base inclut l'âge, le sexe, le poids, le délai entre la tranquillisation et la prise de sang et l'individu comme facteur aléatoire. AICc est la valeur du Critère d'Information d'Akaike corrigé et k fait référence au nombre de paramètres estimés pour chaque modèle. Le modèle sélectionné est coloré pour chaque paramètre sanguin étudié.

		Paramètres sanguins											
Modèle	k	GNN (%)		GNE (%)		GNB (%)		Lympho (%)		Mono (%)		Rapport N/L	
		AICc	ΔAICc	AICc	ΔAICc	AICc	ΔAICc	AICc	ΔAICc	AICc	ΔAICc	AICc	ΔAICc
Age + Sexe + Poids + TPS	8	1303,9	9,0	543,4	0,0	541,8	3,3	1297,7	11,0	684,4	2,4	627,9	2,5
Age + Sexe + Poids + TPS + ACP	9	1300,5	5,5	545,3	2,0	543,2	4,7	1293,8	7,2	685,5	3,5	629,4	3,9
Age + Sexe + Poids + TPS + T	9	1303,8	8,9	547,7	4,3	538,5	0,0	1297,7	11,1	688,1	6,2	631,9	6,5
Age + Sexe + Poids + TPS + Note	9	1298,0	2,1	544,7	1,4	540,8	2,4	1290,2	3,5	681,9	0,0	625,4	0,0
Age + Sexe + Poids + TPS + Milieu	9	1301,8	6,9	544,5	1,1	544,1	5,7	1295,9	9,3	686,3	4,4	630,3	4,9
Age + Sexe + Poids + TPS + Note + ACP	10	1294,9	0,0	456,7	3,3	542,3	3,9	1286,6	0,0	683,0	1,1	627,0	1,6
Age + Sexe + Poids + TPS + ACP*TPS	10	1296,9	2,1	553,9	10,5	551,9	13,5	1290,0	3,4	693,7	11,8	631,7	6,3

		Paramètres sanguins											
Modèle	k	Plaquettes		Créatinine		Fructosamine		Urée		Protéines totales		Albumine	
		AICc	ΔAICc	AICc	ΔAICc	AICc	ΔAICc	AICc	ΔAICc	AICc	ΔAICc	AICc	ΔAICc
Age + Sexe + Poids + TPS	8	1547,4	16,1	1506,7	14,7	1791,0	20,3	823,4	12,8	1071,8	8,7	1066,3	4,1
Age + Sexe + Poids + TPS + ACP	9	1539,6	8,3	1498,0	6,0	1784,3	13,6	823,4	12,8	1070,1	7,0	1064,6	2,5
Age + Sexe + Poids + TPS + T	9	1540,9	9,6	1504,4	12,5	1787,5	16,8	822,2	11,6	1069,6	6,5	1066,1	4,0
Age + Sexe + Poids + TPS + Note	9	1539,0	7,7	1500,1	8,2	1777,7	7,0	813,1	2,5	1064,6	1,5	1063,8	1,6
Age + Sexe + Poids + TPS + Milieu	9	1540,1	8,8	1502,7	10,8	1780,0	9,3	810,6	0,0	1070,9	7,8	1066,7	4,5
Age + Sexe + Poids + TPS + Note + ACP	10	1531,3	0,0	1491,9	0,0	1770,7	0,0	813,4	2,8	1063,1	0,0	1062,2	0,0
Age + Sexe + Poids + TPS + ACP*TPS	10	1535,9	4,6	1500,3	8,3	1784,5	13,8	827,2	16,6	1075,0	11,9	1069,5	7,4

Tab. 11 : Sélection des modèles linéaires mixtes pour l'investigation de la variation des paramètres sanguins en fonction des témoins de stress des chevreuils : tranquillisation (ACP), température rectale (T), milieu de vie (Milieu) et note comportementale à la capture (Note). (suite)

Le modèle de base inclut l'âge, le sexe, le poids, le délai entre la tranquillisation et la prise de sang et l'individu comme facteur aléatoire. AICc est la valeur du Critère d'Information d'Akaike corrigé et k fait référence au nombre de paramètres estimés pour chaque modèle. Le modèle sélectionné est coloré pour chaque paramètre sanguin étudié.

		Paramètres sanguins									
Modèle	k	Globulines		Globulines $\alpha 1$		Globulines $\alpha 2$		Globuline β		Globuline γ	
		AICc	Δ AICc	AICc	Δ AICc	AICc	Δ AICc	AICc	Δ AICc	AICc	Δ AICc
Age + Sexe + Poids + TPS	8	1044,6	6,2	127,3	0	143,6	4,1	226,1	0	330,6	1,8
Age + Sexe + Poids + TPS + ACP	9	1042,4	4								
Age + Sexe + Poids + TPS + T	9	1045,6	7,2	129,3	2	147,8	8,3	227,7	1,6	328,8	0
Age + Sexe + Poids + TPS + Note	9	1040,3	1,9	129,5	2,2	139,5	0	226,2	0,1	329,0	0,2
Age + Sexe + Poids + TPS + Milieu	9	1043,8	5,4	131,8	4,5	147,5	8	228,4	2,3	328,9	0,1
Age + Sexe + Poids + TPS + Note + ACP	10	1038,4	0								
Age + Sexe + Poids + TPS + ACP*TPS	10	1047,5	9,1								

Tab. 12 : Sélection des modèles linéaires mixtes pour l'investigation de la variation des paramètres sanguins en fonction des témoins de stress des chevreuils : tranquillisation (ACP), température rectale (T), milieu de vie (Milieu) et note comportementale à la capture (Note). (suite)

Le modèle de base inclut l'âge, le sexe, le poids, le délai entre la tranquillisation et la prise de sang et l'individu comme facteur aléatoire. AICc est la valeur du Critère d'Information d'Akaike corrigé et k fait référence au nombre de paramètres estimés pour chaque modèle. Le modèle sélectionné est coloré pour chaque paramètre sanguin étudié.

Les modèles retenus sont différents selon le paramètre sanguin observé. Si certains ne prennent en compte aucun marqueur du stress utilisé pour notre analyse, d'autres paramètres semblent liés de façon significative à ces marqueurs. Un tableau récapitulatif des modèles retenus pour chaque paramètre sanguin est présenté ci-dessous.

Paramètres		Modèle retenu							
		Sexe + Age + Poids + Délai + ... + (1 Individu)							
		/	Note	ACP	T	Milieu	Note + ACP	ACP*TPS	
H E M A T O L O G I E	GR						×		
	Hb						×		
	Ht						×		
	VGM			×					
	CCMH					×			
	TCMH	×							
	GB	×							
	GNN	×							
	GNE	×							
	GNB	×							
	Lympho	×							
	Mono	×							
	GNN %						×		
	GNE %	×							
	GNB %				×				
	Lympho %						×		
	Mono %		×						
	PLT						×		
	Rapport N/L		×						
B I O C H I M I E	Créatinine						×		
	Urée					×			
	Fructosamine						×		
	Protéines Totales		×						
	Albumine		×						
	Globulines	Totales		×					
		α1	×						
		α2		×					
β,		×							
	γ	×							

Tab. 13 : Tableau récapitulatif des modèles sélectionnés pour chaque paramètre sanguin analysé

b. Construction des graphes de prédiction

Pour qu'un paramètre sanguin puisse potentiellement servir de marqueur du stress aigu de l'animal à la capture, il faut que le modèle retenu prenne en compte un ou plusieurs des indicateurs de stress connus : note comportementale, température ou tranquillisation de l'animal. Dans notre étude, une dizaine de paramètres hématologiques et les cinq paramètres biochimiques pourraient potentiellement être utilisés comme marqueurs du stress. Une relation statistiquement significative existe entre eux et les marqueurs de stress, en particulier

la note comportementale et la tranquillisation ou non de l'animal. Toutefois, si cette relation est significative, l'intensité de cette relation n'est pas évaluée à partir de la simple sélection d'un modèle.

Pour pouvoir quantifier cette relation, nous avons tracé les graphes de prédiction obtenus à partir des modèles. Lorsque le modèle retenu contient à la fois la note comportementale et la tranquillisation de l'animal, les deux graphes sont présentés côte à côte. Pour cette représentation graphique, tous les paramètres retenus dans le modèle et non représentés nécessitent d'être fixés : ainsi, pour tous les graphes présentés ci-après, la prédiction du paramètre sanguin choisi en fonction du marqueur de stress est déterminée pour un animal adulte, de sexe mâle et d'un poids de 20,5kg correspondant à la moyenne des poids observés. Le délai entre tranquillisation et manipulation expérimentale est fixé à 235,8 min soit 3h55min, ce qui correspond aussi à la moyenne observée sur l'ensemble des captures.

Pour les graphes représentant la note comportementale, les animaux sont considérés tranquillisés (ACP=1). Enfin, pour ceux représentant la tranquillisation, la note comportementale est fixée à 0,25, ce qui correspond là aussi à la moyenne observée sur l'ensemble des animaux. Le degré de confiance est fixé à 95% pour le tracé des intervalles de confiance.

i. Paramètres hématologiques

Pour les trois paramètres de la lignée rouge, on observe une corrélation positive entre le paramètre et la note comportementale ainsi qu'une corrélation négative entre le paramètre sanguin et la tranquillisation.

Chez les individus les plus stressés (note comportementale de 1), on note une augmentation de la concentration en hématies de 20,6%, une augmentation de l'hématocrite de 16,3 % (soit une augmentation de 6,9 % d'hématocrite) et une augmentation de l'hémoglobininémie de 18,7% par rapport aux individus les moins stressés (note comportementale nulle).

A l'inverse, les animaux tranquillisés ont des valeurs inférieures aux animaux non tranquillisés : -15,0% pour la concentration en hématies, -13,1% pour l'hématocrite (soit une baisse de 6,6% d'hématocrite) et -12,5% pour l'hémoglobininémie.

Seuls quatre paramètres de la lignée blanche ont été retenus et possèdent donc une relation significative avec l'un des marqueurs de stress. Il s'agit de la proportion de granulocytes neutrophiles, de lymphocytes, de monocytes ainsi que le rapport entre neutrophiles et lymphocytes.

Les proportions de lymphocytes et granulocytes neutrophiles varient inversement avec la note comportementale : les animaux les plus stressés ont proportionnellement plus de lymphocytes et moins de granulocytes neutrophiles d'où un rapport neutrophiles/lymphocytes qui décroît avec la note comportementale. La proportion relative des deux types cellulaires varie aussi avec la tranquillisation. Les animaux tranquillisés ont proportionnellement plus de neutrophiles (66,6% contre 69,5%) et moins de lymphocytes (27,3% contre 31,2%). Toutefois le recoupement important des intervalles de confiance ne permet pas de détecter une éventuelle variation à ce niveau-là.

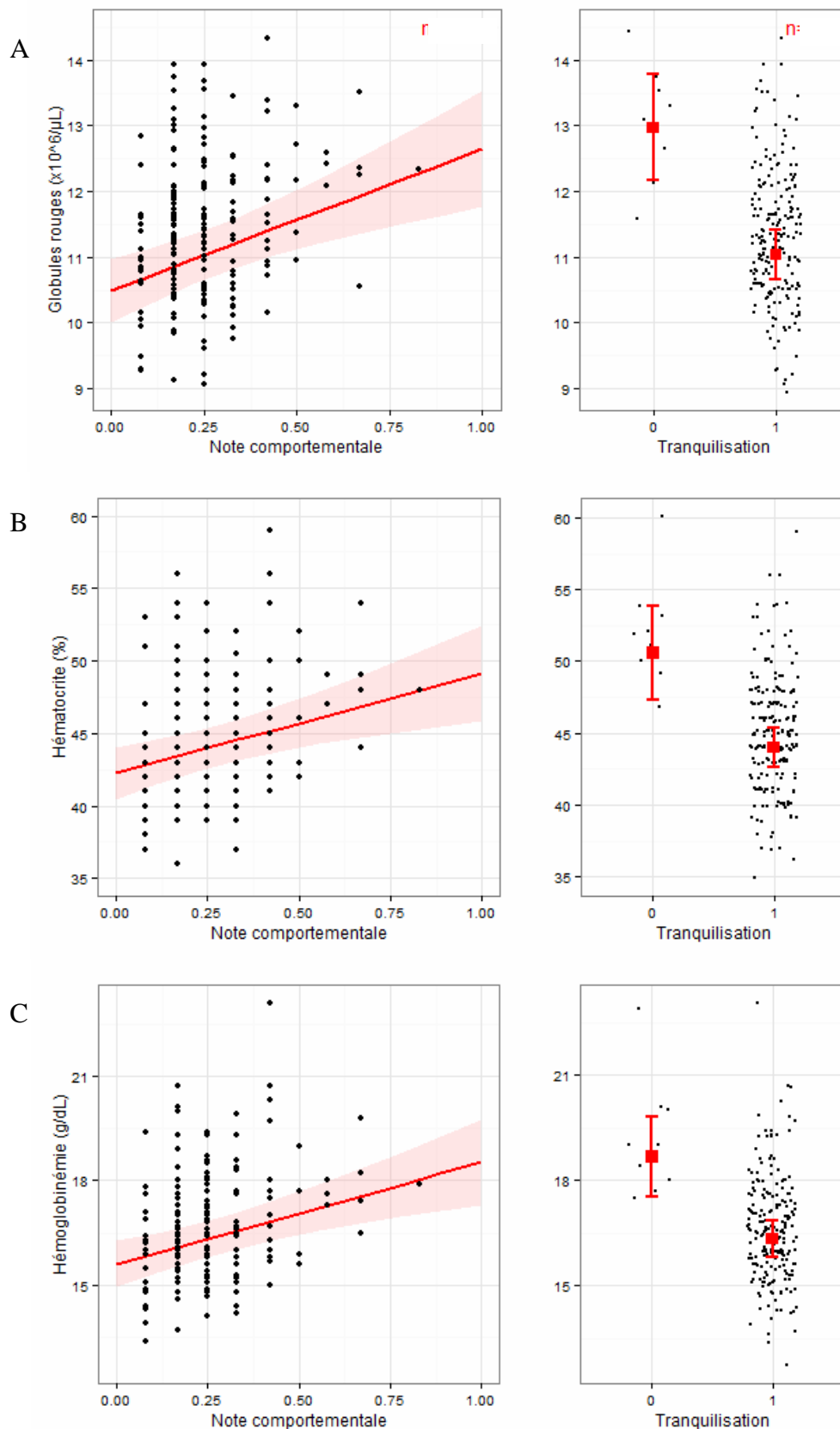


Fig. 43 : Prédiction de la concentration en hématies (A), de l'hématocrite (B) et de l'hémoglobininémie (C) de l'animal en fonction de deux marqueurs de stress : la note comportementale à la capture et la tranquillisation ou non de l'animal.

La zone colorée et les barres d'erreur représentent l'intervalle de confiance à 95% autour des valeurs prédites. Les points noirs correspondent aux valeurs observées pour l'ensemble des animaux de l'échantillon.

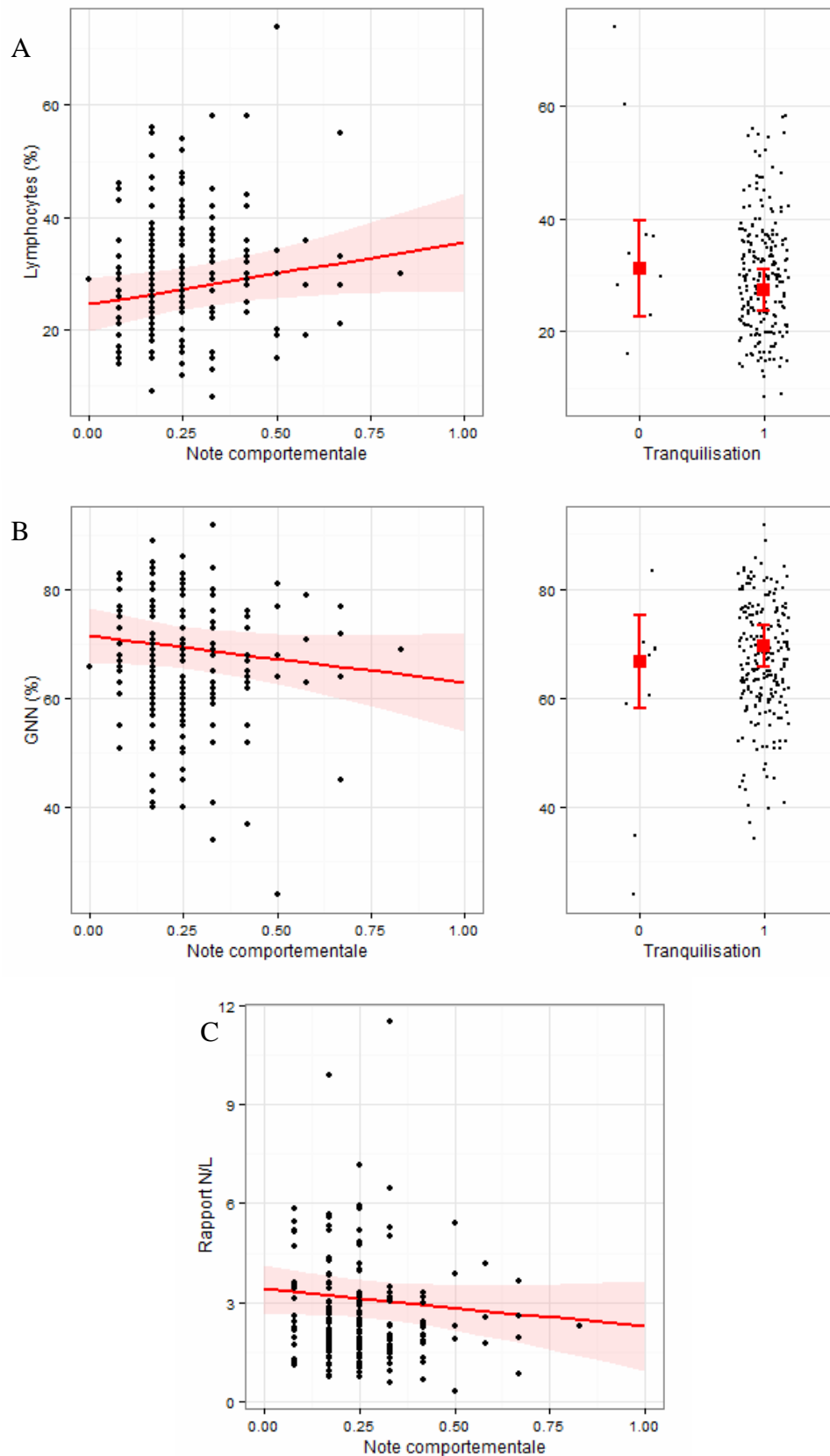


Fig. 44 : Prédiction de la proportion de lymphocytes (A), de la proportion de granulocytes neutrophiles (B) et du rapport entre ces deux types cellulaires (C) chez l'animal en fonction de deux marqueurs de stress : la note comportementale à la capture et la tranquillisation ou non de l'animal.

La zone colorée et les barres d'erreur représentent l'intervalle de confiance à 95% autour des valeurs prédites. Les points noirs correspondent aux valeurs observées pour l'ensemble des animaux de l'échantillon.

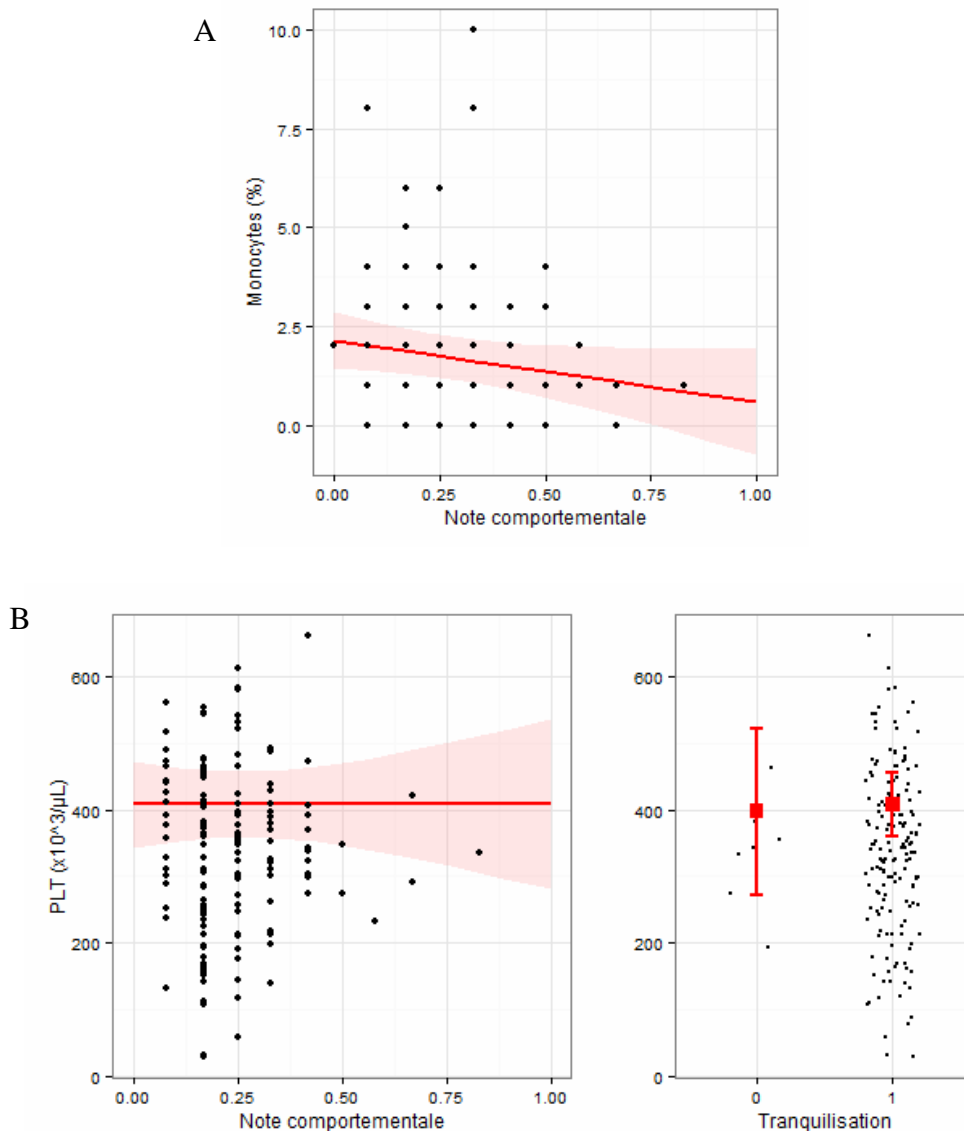


Fig. 45 : Prédiction de la proportion de monocytes (A) et de la concentration plaquettaire (B) chez l'animal en fonction de deux marqueurs de stress : la note comportementale à la capture et la tranquillisation ou non de l'animal.

La zone colorée et les barres d'erreur représentent l'intervalle de confiance à 95% autour des valeurs prédites. Les points noirs correspondent aux valeurs observées pour l'ensemble des animaux de l'échantillon.

Les animaux les plus stressés possèdent une quantité relative de monocytes inférieure aux autres, avec une différence de 1,5% entre les animaux les moins et les plus stressés.

Par ailleurs, si le modèle retenu pour les plaquettes prend en compte la note comportementale et la tranquillisation, les différences observées entre les animaux sont extrêmement faibles avec 0,2% de variation entre les animaux les moins et les plus stressés. Aucune différence n'est plus observée par rapport à la tranquillisation ou non des chevreuils.

Trois derniers paramètres hématologiques ont été retenus. Il s'agit du volume glomérulaire moyen (VGM) et de la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) pour la lignée rouge et de la proportion de granulocytes basophiles pour la lignée blanche.

Le volume glomérulaire moyen des animaux tranquilisés est légèrement supérieur à celui des animaux non tranquilisés avec $43,5 \pm 0,60$ fL contre $41,7 \pm 1,38$ fL, soit une variation de 4,1%.

La concentration corpusculaire en hémoglobine est quand à elle reliée plutôt au milieu de vie, avec des valeurs en milieu forestier légèrement inférieures aux valeurs des animaux de milieu plus ouvert, avec respectivement $33,7 \pm 0,40$ g/dL et $34,4 \pm 0,34$ g/dL.

Pour les deux, on observe cependant un recouvrement conséquent des intervalles de confiance.

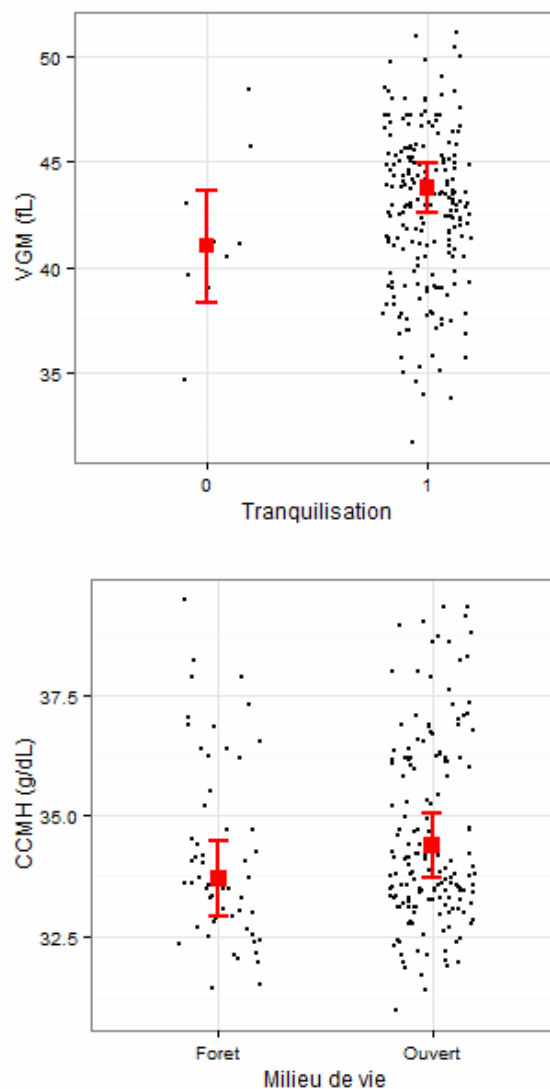


Fig. 46 : Prédiction du Volume glomérulaire moyen (VGM) de l'animal en fonction de la tranquillisation (A) , de la Concentration corpusculaire en hémoglobine (CCMH) de l'animal en fonction de son milieu de vie préférentiel (B). Les barres d'erreur représentent l'intervalle de confiance à 95% autour des valeurs prédites. Les points noirs correspondent aux valeurs observées pour l'ensemble des animaux de l'échantillon.

La proportion de GNB est enfin corrélée négativement à la température rectale des chevreuils capturés. Plus celle-ci est élevée, plus les GNB sont minoritaires. Ils représentent 1,19% des leucocytes chez les animaux à 37,5°C contre 0,46% chez ceux hyperthermes à 40,5°C.

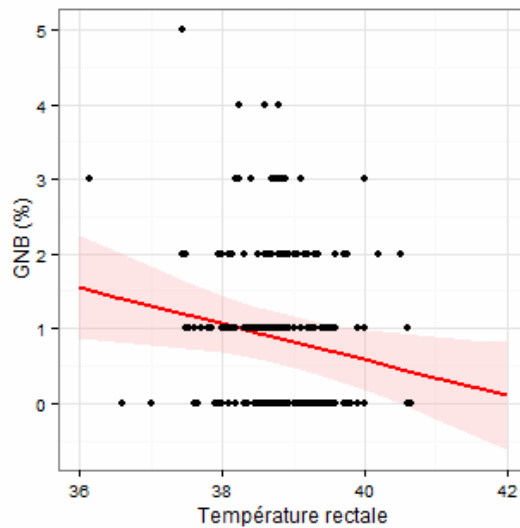


Fig. 47 : Prédiction de la Proportion de Granulocytes basophiles de l'animal en fonction de sa température rectale. La zone colorée représente l'intervalle de confiance à 95% autour des valeurs prédites. Les points noirs correspondent aux valeurs observées pour l'ensemble des animaux de l'échantillon.

ii. Paramètres biochimiques

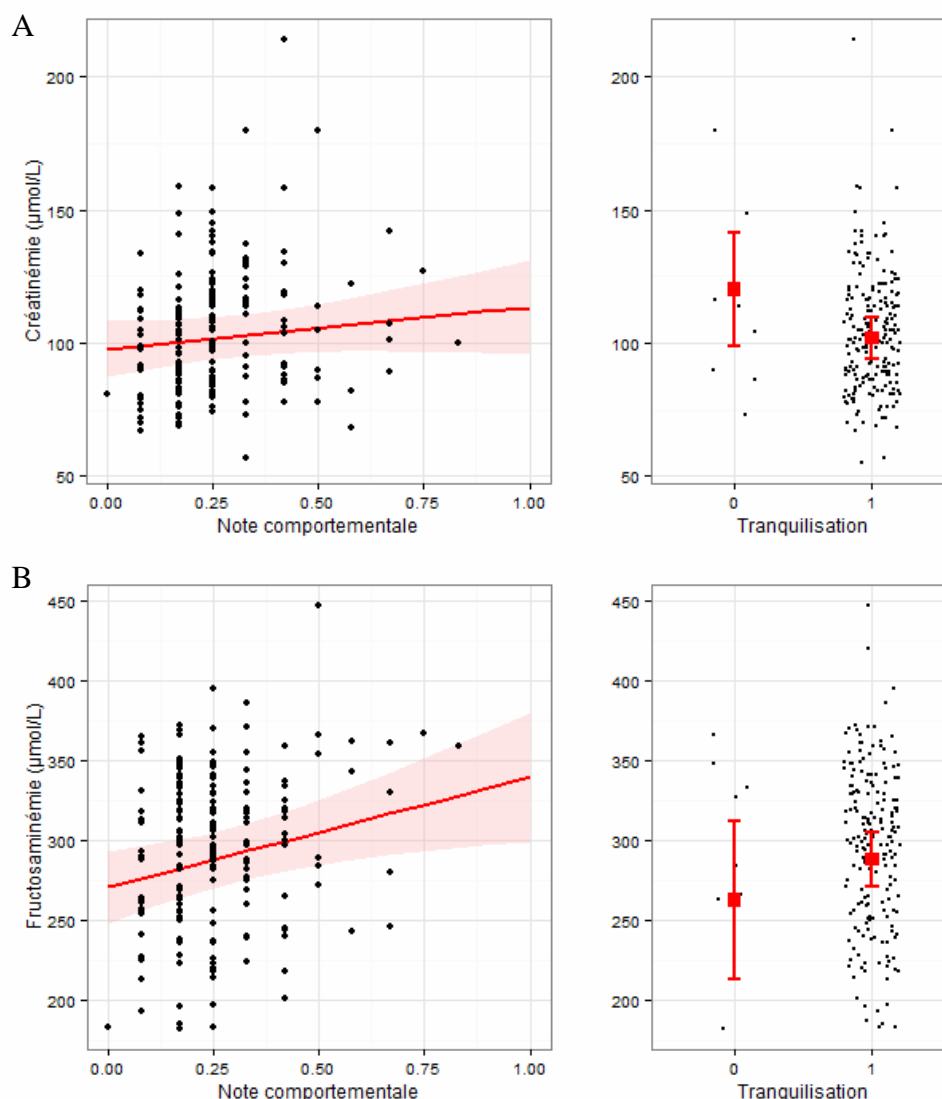


Fig. 48 : Prédiction de la créatinémie (A) et de la fructosaminémie (B) de l'animal en fonction de deux marqueurs de stress : la note comportementale à la capture et la tranquillisation ou non de l'animal.

La zone colorée et les barres d'erreur représentent l'intervalle de confiance à 95% autour des valeurs prédites. Les points noirs correspondent aux valeurs observées pour l'ensemble des animaux de l'échantillon.

Une corrélation positive est observée entre la plupart des paramètres biochimiques observés et la note comportementale.

La créatinémie des animaux stressés est légèrement plus élevée avec une différence de $15,6 \mu\text{mol/L}$ entre ceux ayant une note de 1 et ceux avec une note nulle. Les animaux tranquilisés ont aussi une créatinémie plus basse de $18,2 \mu\text{mol/L}$. Pour l'autre marqueur rénal que constitue l'urémie, la note comportementale n'a pas été retenue lors de la sélection de modèle.

La variation de la fructosamine sanguine est plus marquée avec une variation interindividuelle allant jusqu'à $68,9 \mu\text{mol/L}$. Pour ce paramètre, la tranquillisation a l'effet inverse de ceux vus précédemment puisque les animaux tranquilisés ont une valeur plus haute de $25,2 \mu\text{mol/L}$ ($262,9$ contre $288,2 \mu\text{mol/L}$).

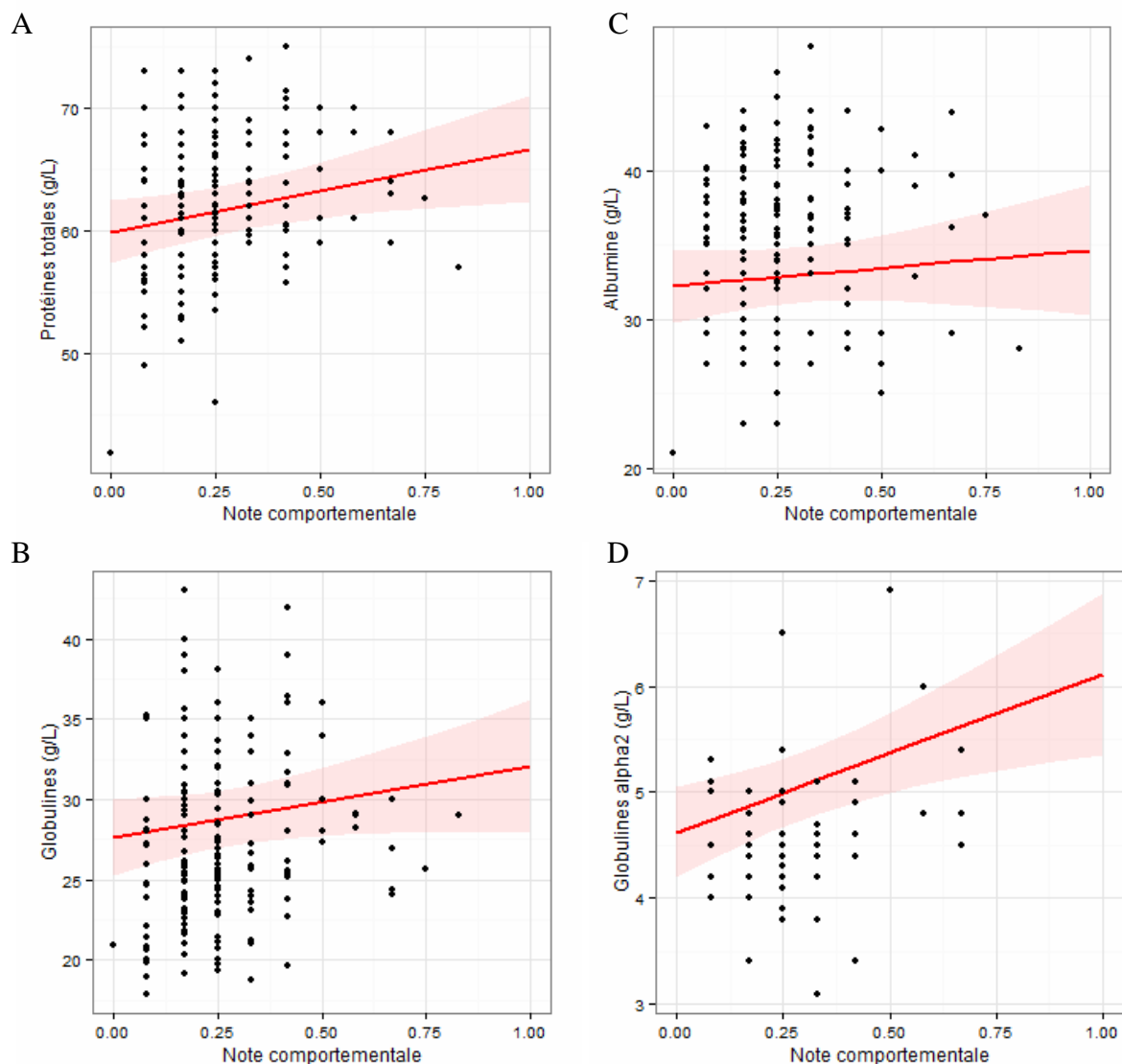


Fig. 49 : Prédiction de la protéinémie (A), de l'albuminémie (B), de la globulinémie (C) et de la globulinémie $\alpha 2$ (D) de l'animal en fonction de la note comportementale à la capture. La zone colorée représente l'intervalle de confiance à 95% autour des valeurs prédites. Les points noirs correspondent aux valeurs observées pour l'ensemble des animaux de l'échantillon.

Une relation positive est aussi observée entre la protéinémie et la note comportementale. Cette relation est présente entre la note et l'albuminémie mais plus marquée par rapport à la globulinémie et en particulier vis à vis des globulines $\alpha 2$. Lorsque la protéinémie totale varie de 6,8 g/L (+11,3 %) entre les animaux les moins et les plus stressés, l'albuminémie n'augmente que de 2,4 g/L (+ 7,5 %) contre 4,4 g/L (+ 15,9 %) pour la globulinémie. Parmi celles-ci, seule une relation significative entre les globulines $\alpha 2$ et la note comportementale est retenue. Une variation de 1,5 g/L est observée entre les individus les plus extrêmes soit une variation de 32,3%.

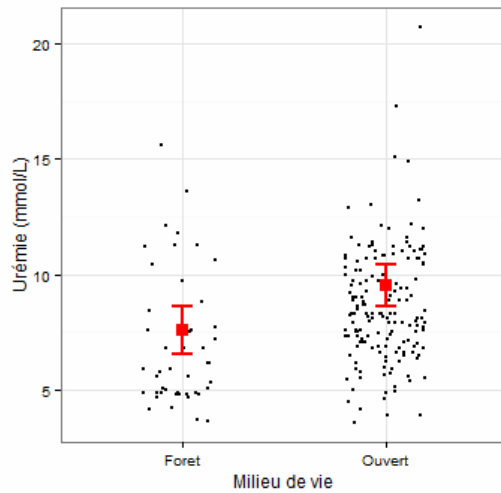


Fig. 50 : Prédiction de l'urémie de l'animal en fonction du milieu de vie. Les barres d'erreur représentent l'intervalle de confiance à 95% autour des valeurs prédites. Les points noirs correspondent aux valeurs observées pour l'ensemble des animaux de l'échantillon.

Les animaux occupant préférentiellement les milieux ouverts ont une valeur d'urée sanguine plus élevée que les individus forestiers : $9,5 \pm 0,53$ mmol/L en milieu ouvert contre $7,6 \pm 0,5$ mmol/L en forêt. Les intervalles de confiance observés ne se recoupent pas.

III. Discussion

1) Biais d'échantillonnage

Avec quasiment 300 captures, qui représentent 235 individus différents, notre échantillon peut être considéré comme représentatif. Peu d'études sur les cervidés ont été réalisées sur un nombre aussi important d'animaux en milieu naturel. Seuls les protocoles mis en place à Chizé (Deux-Sèvres) et Trois Fontaines (Haute-Marne) comptent plus de captures mais celles-ci sont menées dans des réserves fermées, non occupées par l'homme ou le bétail, non chassées et dépourvues de prédateurs. La dynamique des populations y est donc bien différente et extrapoler leurs observations à l'ensemble des populations sauvages de chevreuils semble hasardeux.

L'ensemble des catégories d'âge et des sexes est représenté. De plus, les captures ayant toutes lieux à la même période, les statuts physiologiques des animaux de même sexes sont identiques : aucun mâle n'est en rut et les femelles sont toutes au même stade de gestation. Ces facteurs étant connus pour influencer les paramètres sanguins des cervidés (DelGiudice et al. 1992; Poljicak-Milas et al. 2009), notre échantillonnage limite les biais potentiellement liés à ces différences physiologiques.

Seule la tranquillisation pose un problème d'échantillonnage. Pour des considérations éthiques, dès qu'un chevreuil est capturé, il est tranquilisé dans la mesure du possible afin de minimiser le stress perçu et d'éviter les blessures dont nous avons discuté auparavant. Ce protocole fait que très peu d'animaux non tranquilisés sont disponibles (5% des animaux environ), ce qui peut être source de confusions lors de l'analyse statistique des données.

2) Structure de notre population

Notre échantillon d'animaux comprend légèrement plus de femelles que de mâles. Ce sex-ratio est semblable à celui observé dans les autres campagnes de capture réalisées sur les sites de Trois-Fontaines et Chizé (Girardot 2011; Kientz 2014). Avec 20,5 kg de moyenne (22,8 kg pour les adultes), la morphologie des chevreuils de notre zone d'étude se rapproche de celle observée à Trois-Fontaines, qui est connue pour être plus productive que celle de Chizé (Kientz 2014).

La pyramide des âges est par contre un peu différente de celles observées lors des captures réalisées à Chizé et Trois-Fontaines, avec une population légèrement plus âgée, mais qui compte surtout moins d'animaux entre 1 et 2 ans (« yearlings »). On observe aussi une présence de jeunes plus importante qu'à Chizé. Il est assez difficile d'interpréter ces différences car ces sites ont des dynamiques de population tout à fait différentes. Nous proposons toutefois d'expliquer ces différences par la présence dans notre site d'étude d'une pression cygénétique, absente dans les deux autres. La quantité de faons, plus importante qu'à Chizé, réside probablement dans les différences de productivité entre les deux zones. Plus le milieu est riche, plus la reproduction des animaux est efficace (Gaillard et al. 1992)

3) Indicateurs de stress

Comme attendu, une corrélation positive est observée entre la note comportementale et la température rectale. Même légère, cette corrélation est en faveur d'une bonne représentativité de ces deux paramètres dans l'indexation du stress de l'animal.

Par contre, aucune différence significative n'est observée selon la tranquillisation. Nous attribuons cela au faible nombre d'animaux non tranquilisés dans notre échantillon. D'autre part, le milieu ne semble pas être en lien avec le stress de l'animal dans notre étude : aucune corrélation n'est observée avec les autres paramètres et il n'est retenu que dans un seul modèle (urée). Ce point sera abordé dans la partie suivante.

La note comportementale est plus faible chez les animaux de moins d'un an. Ce constat peut-être expliqué soit par un stress moins important chez les jeunes animaux, soit par une différence dans les manifestations comportementales face au stress de capture chez ces animaux par rapport aux plus âgés. Les jeunes animaux, connus pour s'adapter de façon plus efficace, sont en général moins stressés par les perturbations extérieures (Lansade et al. 2007). Toutefois, le lien entre la mère et son jeune est à prendre en compte. Les jeunes, pas encore sevrés, ne sont pas totalement indépendants de leur mère. Cet isolement lors de la capture peut perturber leur réaction face à la capture (Morellet et al. 2009).

4) Paramètres hématologiques et stress

L'hémoconcentration, qui se traduit par une élévation de l'hématocrite, de l'hémoglobine et de la concentration en hématies, par contraction splénique, est un phénomène attendu. Nous observons ici que ces trois paramètres sont plus faibles chez les individus tranquilisés, que nous considérons comme moins stressés que les non tranquilisés. Ceci est comparable aux observations effectuées par (Montané et al. 2007), qui note une différence significative entre les animaux tranquilisés et le groupe contrôle dès la première heure après la capture chez les individus sauvages. De même une corrélation positive entre le comportement de l'animal à la capture (matérialisé par la note) et ces trois paramètres sanguins est présente, avec une relation légèrement plus marquée pour la concentration en globules rouges. Plus l'animal montre un comportement stressé, plus les valeurs sanguines de ces trois paramètres sont élevées.

L'évaluation de l'hématocrite, de la concentration en globules rouges et de l'hémoglobine semble donc constituer des indicateurs fiables de la capacité de l'individu à répondre au stress imposé par la capture. Un individu dont le comportement de lutte et de fuite est plus marqué aurait des valeurs pour ces trois paramètres plus élevées qu'un autre moins réactif.

Les deux autres paramètres de la lignée rouge conservés sont le VGM et la CCMH.

Le volume moyen des hématies (VGM) est légèrement plus élevé chez les animaux tranquilisés ce que nous attribuons là-aussi à la contraction splénique. Les hématies stockées dans la rate sont des cellules matures, dont le volume est faible par rapport aux formes immatures circulantes. Le relargage splénique, plus marqué chez les animaux non tranquilisés aurait donc tendance à diminuer le volume moyen de ces cellules. Toutefois, la différence est légère et ce paramètre n'étant jamais rapporté dans la littérature relative au stress des cervidés, il est difficile de le considérer comme un marqueur du stress de capture.

La variation de la CCMH entre les deux milieux de vie, bien que retenu, n'est pas quantitativement intéressante, avec un important recoupement des intervalles de confiance. Ce paramètre ne paraît donc pas indiqué pour quantifier le stress individuel à la capture.

Pour la lignée blanche, nous observons sur notre population des différences interindividuelles pour les proportions de lymphocytes, de granulocytes neutrophiles et de monocytes mais pas sur la quantité totale de leucocytes ni des différents types cellulaires. L'intensité du stress des chevreuils est corrélée à une augmentation de la part des lymphocytes associée à une diminution de celle des neutrophiles, ce qui se répercute par une diminution du rapport neutrophile/lymphocyte avec l'intensité du stress de l'animal. Cette observation est l'inverse des changements attendus que nous avons détaillé dans la revue bibliographique. La plupart du temps, une formule de stress, à savoir neutrophilie et lymphopénie, est rapportée suite à un stress aigu.

Il est difficile de donner une explication à cette observation. La réponse immunitaire au stress est complexe, avec plusieurs variations successives opposées comme nous l'avons vu précédemment. Selon Koolhaas, les individus ne présentent pas les mêmes réponses selon leur traits de personnalité (Koolhaas et al. 1999). Ainsi, les chevreuils réagissant de façon exacerbée à la capture auraient plutôt une réponse du système orthosympathique, qui pourrait expliquer la proportion de lymphocytes plus importante. On observerait alors aussi une neutrophilie chez les individus avec les notes comportementales les plus fortes. Pourtant ce n'est pas le cas. De plus, si le stress aigu est en général responsable d'une activation du système immunitaire, le stress chronique l'affecte négativement. Au final, une superposition des deux formes, possibles dans notre contexte d'animaux sauvages, complexifie considérablement l'interprétation. Beaucoup d'autres paramètres influent. Si nous avons vu que la réponse varie par exemple selon le statut social, c'est encore plus marqué pour la lignée blanche : chez le porc, un effet contraire a été observé entre les animaux dominants et les subordonnés (Salak-Johnson et al. 2007).

Enfin, aucune variation similaire n'est observée sur les concentrations absolues des différents types cellulaires, ce qui, sans être en contradiction, ne penche pas en faveur de changement avec l'état de stress de l'animal.

La quantité relative de GNB est le seul paramètre sanguin pour lequel une corrélation avec la température rectale est observée dans notre étude. Les individus les plus hyperthermes ont une proportion de GNB plus faible. Ce paramètre reste très peu utilisé dans la littérature dans le cadre du stress. Son utilisation reste donc à prendre avec précaution.

Au final, l'interprétation de nos observations sur la lignée blanche est difficile. Nous n'observons pas les modifications classiquement rapportées. Aussi il semble hasardeux de conserver ces paramètres d'après nos travaux.

Même si le modèle retenu pour les plaquettes prend en compte la note comportementale, la relation entre les deux paramètres est quantitativement nulle. Relativement peu d'études sur le stress à la capture des cervidés sauvages prennent en compte le comptage plaquettaire (Marco et al. 1999; Munerato et al. 2010) et aucune ne montrent de relation avec l'état réactionnel des animaux. Ce paramètre ne paraît donc pas indiqué pour quantifier le stress aigu.

5) Paramètres biochimiques et stress

Nous observons comme attendu une légère augmentation de la créatinémie chez les individus les plus stressés. Cette variation, attribuée majoritairement à des modifications de la filtration rénale, est toutefois assez faible avec une différence maximale de moins de 20 $\mu\text{mol/L}$ entre les animaux, ce qui correspond approximativement à la variation observée chez les chevreuils sauvages par (Montané et al. 2007) en 3 heures suite à la capture.

De plus, la valeur chez les animaux tranquilisés est légèrement plus faible que chez les animaux ne l'étant pas. Les observations concordent avec d'autres auteurs qui observent une diminution avec la tranquillisation, attribuée à une augmentation de la perfusion rénale sous l'effet de l'acépromazine (Lopez-Olvera et al. 2007; Montané et al. 2007; Casas-Díaz et al. 2012).

Bien que ces variations observées soient faibles comparé aux modifications induites lors de pathologies rénales ou de déshydratation plus marquée, l'évaluation de la créatinémie semble être un paramètre intéressant pour évaluer la capacité de l'animal à répondre au stress.

Aucune variation n'a par contre été observée pour l'urée sanguine en fonction de la note comportementale ou de la tranquillisation. Seule une différence selon le milieu de vie de l'individu est observée avec des valeurs plus élevées en milieu ouvert. Ceci est contraire à nos attentes selon lesquelles les animaux purement forestiers seraient plus sensibles au stress que les autres. Nous interprétons cette différence à la nature du régime alimentaire des animaux qui diffèrent de façon importante selon le milieu. Des différences ont ainsi été observées chez plusieurs espèces de cervidés entre différentes populations se nourrissant dans des biotopes différents (Franzmann 1972; Seal et al. 1978). L'urémie est très sensible aux apports alimentaires, tant au niveau des apports que de la nature de l'alimentation : la dénutrition provoque une augmentation de l'urée sanguine (DeGiudice et al. 1990), tout comme une alimentation riche en protéines (Kirkpatrick et al. 1975). Le chevreuil est très plastique dans son régime alimentaire et des différences de choix alimentaire existent selon le milieu. Dans les plaines agricoles, le chevreuil peut consommer des plantes cultivées plus riches en nutriments, notamment en fin d'hiver à la période des captures (Abbas et al. 2011). Cette différence de régime est l'explication que nous supposons à l'origine des variations d'urémie observées.

Nous observons chez les chevreuils capturés des valeurs de protéinémie plus importantes chez les animaux les plus stressés, avec des hétérogénéités selon les types de protéines. Les variations les plus marquées concernent la quantité totale de protéines plasmatiques et les globulines α_2 .

Ces changements sont attribués principalement à une hémococoncentration secondaire aux pertes hydriques dues à l'effort de l'animal et devraient donc concerner de façon identique les différents types protéiques, ce qui n'est pas le cas chez nous. Toutefois, l'évaluation de la concentration en protéines totales plasmatiques et en globulines α_2 semble être un moyen fiable pour évaluer la réponse au stress chez le chevreuil.

Si la fructosaminémie n'a pas été décrite lors de l'étude bibliographique, c'est qu'elle n'est pas couramment utilisée dans l'étude du stress, nous l'avons tout de même intégrée à notre étude.

Le terme "fructosamine" est un terme générique qui regroupe l'albumine et les autres protéines plasmatiques lorsqu'elles sont liées à des sucres, en particulier le glucose. Cette liaison non-enzymatique irréversible forme des kétoamines dont la quantité dépend directement de la concentration du glucose sanguin. La durée de vie des fructosamines plasmatiques est équivalente à celles des protéines concernées et en particulier de l'albumine,

avec des variations interspécifiques (Stockham et al. 2013). Chez l'homme, le temps de demi-vie est d'environ 2 à 3 semaines. Chez les carnivores domestiques, elle est légèrement plus courte avec un temps de demi-vie évalué à 1 à 2 semaines (Lutz et al. 1995; Crenshaw et al. 1996).

Ainsi, le dosage des fructosamines plasmatiques est un moyen couramment utilisé chez le chien et le chat pour évaluer la glycémie d'un individu sur les semaines précédentes le prélèvement sanguin.

Lors d'un épisode aigu, comme la capture, même si la glycémie augmente, aucune variation de la fructosaminémie n'est donc attendue. Nous observons toutefois dans notre échantillon une différence interindividuelle, avec des valeurs plus importantes chez les animaux dont la réaction comportementale est élevée. Les individus les plus réactifs lors de la capture auraient donc des concentrations en glucose sanguin plus élevées, pas uniquement au moment de la capture mais aussi sur les semaines précédentes. L'hypothèse proposée pour expliquer ce phénomène est que les individus les plus stressés lors de la capture ont aussi tendance à réagir plus fortement face aux événements stressants rencontrés quotidiennement (prédateurs, randonneurs, événements météorologiques, lutte avec un congénère...). Ces phénomènes pourraient être à l'origine d'une glycémie plus importante, au moins par épisodes réguliers, associée à une augmentation de la fructosaminémie.

Peu d'études relient le stress à la fructosaminémie qui est, au contraire, souvent utilisée afin de s'affranchir des hyperglycémies de stress pour le diagnostic du diabète sucré chez les carnivores domestiques (Reusch et al. 1993). Chez le chat, il a cependant été montré que le stress, qu'il soit aigu ou chronique, a des effets sur la concentration plasmatique en fructosamine, qui est plus élevée chez les animaux stressés. L'augmentation reste toutefois peu marquée avec des valeurs ne quittant pas les intervalles de référence de l'espèce (Moraes et al. 2011).

Certains auteurs suggèrent aussi que chez le bétail, les fructosamines plasmatiques pourraient être utilisées comme des marqueurs du stress chronique (Trevisi et al. 2009).

En considérant que les fructosamines peuvent servir à indexer le stress chronique chez le chevreuil, notre étude suggère que les individus les plus stressés lors de la capture seraient aussi les animaux les plus stressés de façon chronique. L'absence des valeurs de glycémie est regrettable car la comparaison des deux données aurait permis d'affiner l'explication du phénomène. Nous suggérons ici d'étudier la possibilité de mettre en place la mesure systématique de la glycémie lors des captures à venir. Si le dosage a posteriori semble difficile, car il nécessite une prise en charge ou au minimum une centrifugation rapide pour éviter la dégradation du glucose, nous proposons d'utiliser des glucomètres portables utilisables directement après le prélèvement sanguin. Si peu d'études en faune sauvage utilisent ce type de glucomètre, il sert couramment en pratique vétérinaire sur les animaux de rente. Plusieurs études ont validé cette méthode chez les bovins et les ovins (Katsoulos et al. 2011; Wittrock et al. 2013). Toutefois une étude réalisée sur 12 faons du cerf de Virginie (*Odocoileus virginianus*) a montré un biais d'environ 0,3 g/L entre deux dispositifs portables et un analyseur en laboratoire (Burdick et al. 2012). Ceci remet en question l'utilisation des glucomètres portables chez les cervidés. Quelques études complémentaires sont donc nécessaires avant d'utiliser ce matériel.

Troisième partie

Application :

Influence de la captivité

I. Matériel et méthodes

L'installation expérimentale de Gardouch est un dispositif d'élevage de chevreuils pouvant accueillir jusqu'à une quarantaine d'animaux en semi-liberté. Ce dispositif unique en Europe offre des conditions idéales pour étudier le fonctionnement des populations de chevreuils, leur impact sur l'écosystème ou bien encore les traits de personnalité des animaux.

Il est composé de deux types d'enclos de tailles différentes. Le plus grand, d'une superficie de 15 ha, comprend une grande zone boisée entourée de prairies. Il accueille en moyenne une dizaine individus quasiment sauvages.

Les six autres enclos, de taille beaucoup plus réduite (0,5 ha), sont des prairies équipées d'abris dans lesquels les animaux sont beaucoup plus au contact de l'équipe. Ces individus n'en restent pas moins des animaux très craintifs à approcher avec précaution. Une partie de ces animaux sont nés sur place et certains ont été apprivoisés, c'est-à-dire élevés au biberon. Les autres proviennent d'autres élevages ou d'animaux récupérés par l'ONCFS ou le centre de soins à la faune sauvage de l'ENVV.

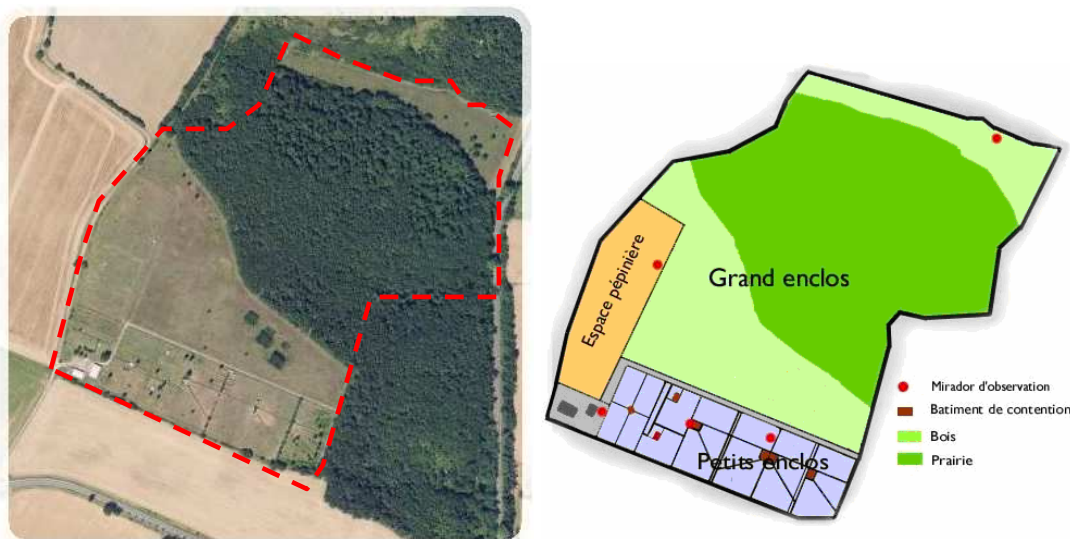


Fig. 51 : Vue aérienne et schématique du site expérimental de Gardouch
(source vue aérienne : Géoportail)

Les captures dans le grand enclos sont menées exactement de la même manière que celles décrites précédemment si ce n'est qu'elles nécessitent beaucoup moins d'intervenants et peuvent être menées tout au long de l'année. Dans les petits enclos, les animaux sont enfermés dans les cabanes où ils sont poussés un par un par un couloir dans des caisses de contention (sabot) avant d'être manipulés.

De la même façon qu'avec les chevreuils étudiés en milieu naturel, nous avons cherché à évaluer la réponse au stress de capture chez ces animaux d'enclos à partir des prélèvements sanguins réalisés. Les captures étant menées tout au long de l'année, nous avons choisi de nous limiter uniquement aux captures réalisées durant l'hiver, comme c'est le cas pour les sauvages. L'ensemble des animaux a reçu une tranquillisation par injection d'acépromazine.

II. Résultats

Notre jeu de données dispose de 75 captures réalisées sur les animaux de Gardouch, avec parfois plusieurs captures successives d'un même animal. Au total, 48 individus différents sont représentés. Parmi l'ensemble des captures, 47 concernent des femelles et 28 des mâles,

soit 63% de femelles. On compte aussi une majorité d'adultes (49%) et de jeunes (44%). Il est important de souligner que dans ce dispositif, ces proportions ont été contrôlées par l'équipe et n'apportent pas d'informations sur la démographie de l'espèce, contrairement aux captures en milieu sauvage.

Les captures dans le grand enclos sont au nombre de 19 contre 56 dans les petits.

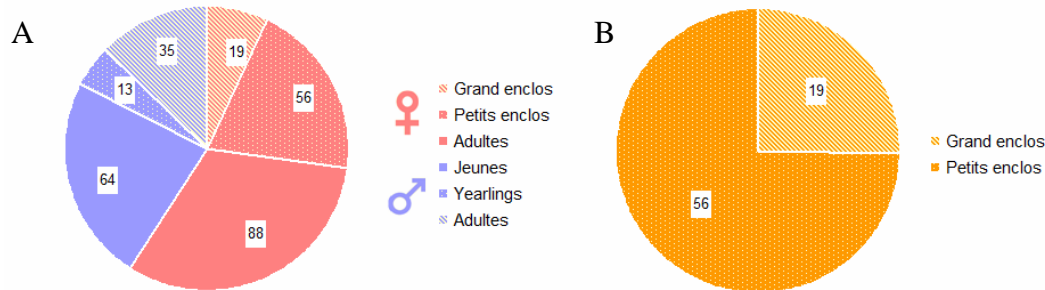


Fig. 52 : Répartition par âge et sexe des animaux capturés sur le site expérimental (A) et enclos occupés (B) (le nombre d'individus est indiqué dans les cadres blancs)

Pour chaque paramètre sanguin retenu dans notre étude expérimentale, à savoir la concentration en globules rouges, l'hémoglobine, l'hématocrite, la créatinémie, la protéinémie et enfin les fructosamines plasmatiques, nous avons construits des modèles linéaires mixtes, de la même manière que dans notre étude précédente pour rechercher les meilleurs indicateurs de stress. Ces modèles se distinguent de ceux réalisés uniquement en milieu sauvage par la prise en compte du site de vie des animaux : animal sauvage (Aurignac), animal captif en petit enclos et animal captif en grand enclos. En effet, le stress perçus par les animaux pourrait varier selon qu'ils soient habitués à la captivité ou sauvages. Ce paramètre sera nommé « Enclos » par la suite.

Comme précédemment, une sélection du meilleur modèle est réalisée par la technique de l'AICc afin d'évaluer l'influence des facteurs acépromazine et enclos. Les résultats sont présentés dans les tableaux suivants.

		Paramètres sanguins					
		GR		Hb		Hématocrite	
Modèle	k	AICc	ΔAICc	AICc	ΔAICc	AICc	ΔAICc
Age + Sexe + Poids + ACP	8	854,3	100,75	1015,1	63,7	1514,1	87,8
Age + Sexe + Poids + ACP + Enclos	9	753,4	0	951,4	0	1426,4	0

		Créatinine		Protéines totales		Fructosamine	
Modèle	k	AICc	ΔAICc	AICc	ΔAICc	AICc	ΔAICc
Age + Sexe + Poids + ACP	8	2296,3	34,9	1614,2	4,9	2732,5	33,1
Age + Sexe + Poids + ACP + Enclos	9	2261,4	0	1609,3	0	2699,4	0

Tab. 14 : Sélection des modèles linéaires mixtes pour l'investigation de l'influence de l'enclos de l'animal sur les indicateurs hématologiques et biochimiques retenus précédemment.

Le modèle de base inclut l'âge, le sexe, le poids et la tranquillisation de l'animal. L'individu comme fixé facteur aléatoire. AICc est la valeur du Critère d'Information d'Akaike corrigé et k fait référence au nombre de paramètres estimés pour chaque modèle. Le modèle sélectionné est coloré.

On constate que pour la quasi totalité des paramètres sanguins observés, le type d'animal est retenu dans le meilleur modèle comme facteur expliquant une partie de la variance observée.

Les graphes de prédiction, construits à partir du modèle retenu, sont présentés sur la page suivante. Chacun représente la prédiction pour un individu mâle adulte tranquillisé.

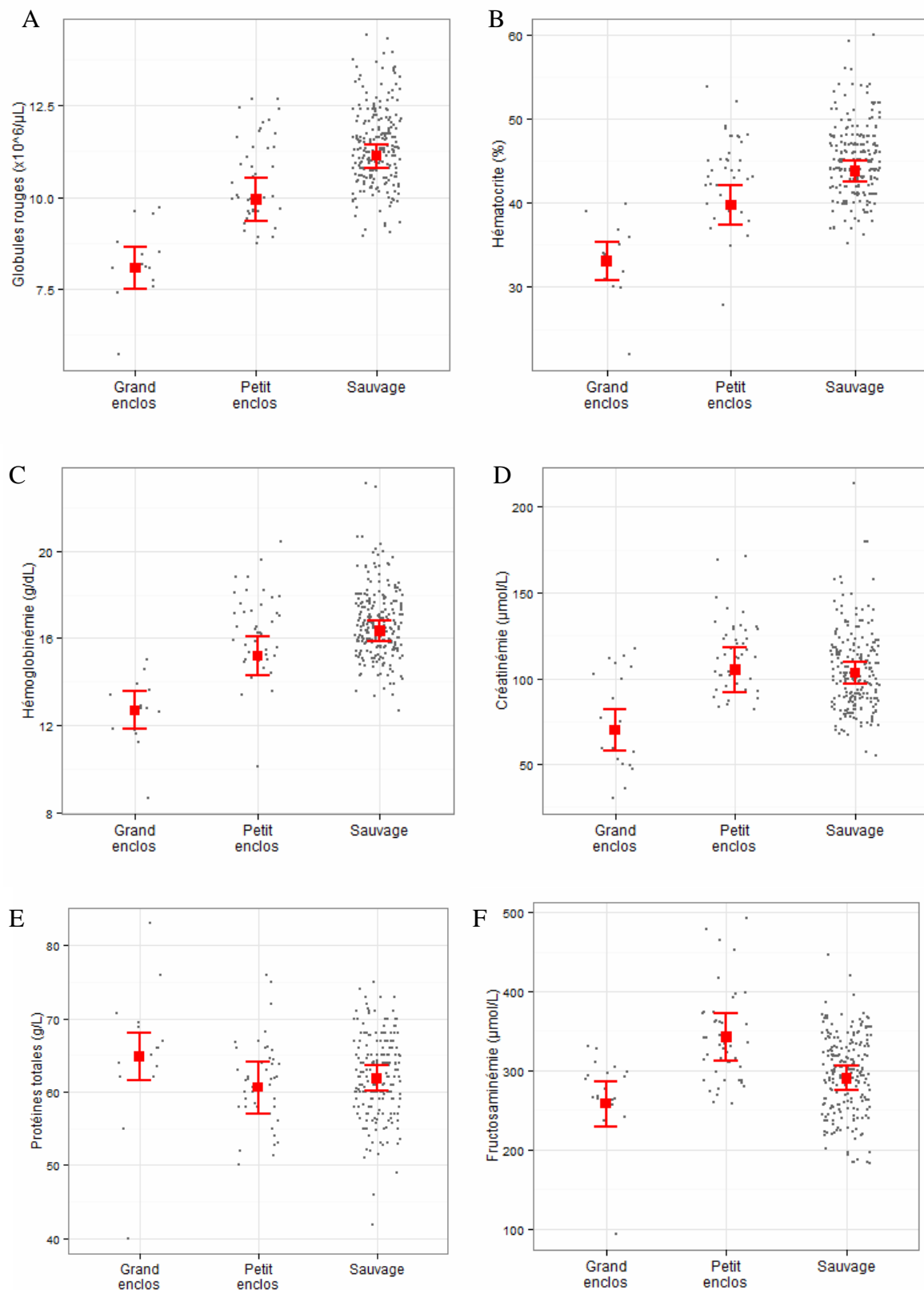


Fig. 53 : Prédiction de la concentration en globules rouges (A), de l'hématocrite (B), de l'hémoglobine (C), de la créatinémie (D), de la protéinémie (E) et de la fructosaminémie (F) de l'animal en fonction de son site de vie. La zone colorée représente l'intervalle de confiance à 95% autour des valeurs prédites. Les points gris correspondent aux valeurs observées pour l'ensemble des animaux de l'échantillon.

En premier lieu, si l'on compare les individus sauvages et ceux en captivité, on observe des valeurs hématologiques supérieures chez les premiers. La créatinémie est également plus importante chez les chevreuils sauvages mais uniquement par rapport aux individus occupant le grand enclos (104,8 $\mu\text{mol/L}$ contre 69,8 $\mu\text{mol/L}$). Enfin, c'est un peu différent pour les fructosamines pour lesquelles les individus vivant en petit enclos ont des valeurs plus élevées que les sauvages avec respectivement 342,5 $\mu\text{mol/L}$ et 290,2 $\mu\text{mol/L}$. Ceux des grand enclos ont des valeurs voisines des individus sauvages, 258,1 $\mu\text{mol/L}$.

Par contre, si l'on s'intéresse aux différences observées entre les deux types d'animaux captifs, on remarque que pour cinq des paramètres, les individus en grand enclos ont des valeurs plus faibles que les individus en petit enclos. La différence est évaluée à 23% pour la concentration en globules rouges, 20% pour l'hémoglobininémie et pour l'hématocrite, 50% pour la créatinémie et enfin 32% pour les fructosamines.

La protéinémie plasmatique est le seul paramètre pour lequel aucune différence n'est observée entre les groupes comme en témoigne le recouvrement des intervalles de confiance.

III. Discussion

La captivité est un contexte connu pour influencer la réponse des animaux aux stressseurs auxquels ils sont exposés. Chez les oiseaux, bien que le taux basal de glucocorticoïdes semble être le même chez des individus sauvages ou captifs, les variations mesurées suite à la contention sont plus importantes chez les animaux en captivité (Wingfield et al. 1997).

Cette exacerbation des réponses a aussi été observée chez les ongulés. (Hattingh et al. 1988) rapportent ainsi des concentrations en adrénaline et cortisol plus importantes chez les impalas (*Aepycerus malampus malampus*) captifs que chez les sauvages. Chez le chevreuil des variations ont été aussi observées, avec des valeurs d'hémoglobininémie, de concentration en globules rouges, de créatinémie ou encore d'enzymes musculaires plus fortes chez les animaux captifs (Montané et al. 2007).

Sur notre échantillon, nous observons au contraire des valeurs pour les paramètres de la lignée rouge plus hautes chez les individus sauvages. Ce constat a aussi été effectué chez le lynx canadien (*Lynx canadensis*) et chez le pichi (*Zaedyus pichiy*), une espèce de tatou sud-américaine (Superina et al. 2008; Moen et al. 2010). Il semble orienter vers une réaction au stress de la capture plus importante chez les animaux sauvages que chez les animaux en captivité. Au sein des captifs, les paramètres sont plus bas chez les animaux du grand enclos ce qui suggère là aussi une différence de réaction au sein même du site, les animaux des petits enclos étant plus stressés.

Au niveau des valeurs biochimiques, les résultats sont un peu différents. Pour la créatinémie, on s'attendrait à avoir les mêmes variations mais on s'aperçoit que les individus des petits enclos ont des valeurs semblables à celle des individus sauvages. Une des explications possibles est la différence d'activité des animaux. Plusieurs études ont en effet rapporté une diminution de la créatinine avec l'exercice chez les chiens de courses par activation de la fonction rénale (Kronfeld et al. 1977; Querengaesser et al. 1994). Les animaux des petits enclos ont a priori une activité physique moins importante que les autres, qu'ils soient sauvages ou dans le grand enclos, en raison du manque d'espace. Cette différence pourrait expliquer que leur créatinémie soit légèrement plus importante qu'attendu.

Les fructosamines plasmatiques varient enfin elles aussi de façon un peu différente avec des valeurs plus élevées chez les individus de petits enclos par rapport aux autres groupes.

Comme nous l'avons vu dans la partie précédente, les fructosamines sont parfois utilisées dans l'indexation du stress chronique (Trevisi et al. 2009). Or ici, les individus des petits enclos sont ceux qui ont le plus de contact avec l'homme, même si le dispositif est loin d'être un zoo et que seuls certains membres de l'équipe y circulent. Ces animaux sont donc le plus régulièrement exposés aux perturbations. Cette répétition pourrait être à l'origine d'une hausse de leur fructosaminémie. Par ailleurs, les animaux des petits enclos sont nourris ad libitum avec des granulés, il est probable que leur alimentation est de meilleure qualité que celle des animaux du grand enclos ou du milieu naturel, ce qui pourrait aussi expliquer un niveau de fructosamine plus élevé. En effet, comme nous l'avons vu précédemment, leur concentration varie selon la glycémie de l'animal et peut aussi en ce sens être influencée par la condition corporelle de l'animal (Gilot-Fromont et al. 2012; Stockham et al. 2013; Kientz 2014). Si notre modèle prend en compte le poids du chevreuil, il n'inclut pas cet apport alimentaire différent entre les animaux des petits enclos et les autres.

Au final, les individus sauvages semblent réagir de façon plus exacerbée au stress de la capture. Contrairement aux individus captifs, ces chevreuils sont soumis à la prédation, la chasse et à des nombreuses autres sources de stress, absentes du site de Gardouch. La chasse en particulier est connue pour influencer le comportement des cervidés. Un effet sur la vigilance, le choix du site de nourrissage (Boer et al. 2004; Benhaiem et al. 2008) ou encore la distance de fuite (Bonnot et al. 2013) a été observé. La réaction à la capture est elle aussi concernée par ces différences entre animaux captifs et sauvages.

Les différences observées entre les animaux captifs de petits et grands enclos peuvent être expliquée par plusieurs phénomènes. Le premier est là encore la variabilité dans l'exposition quotidienne au stress. Si les deux groupes ne sont pas exposés ni à la chasse, ni à la prédation, les chevreuils des petits enclos sont au contact rapproché de l'homme. Les enclos sont visités quotidiennement par les membres de l'équipe dans le cadre de la surveillance et du nourrissage par concentrés des animaux. Ce contact fréquent sensibiliserait les animaux, qui réagiraient de façon exacerbée à la capture.

La seconde explication est liée au phénomène d'habituation. Les animaux du grand enclos ont été capturés beaucoup plus souvent que les autres et s'habituent en quelque sorte à ce stimulus. Ce concept, connu depuis longtemps en neurobiologie, est lié au fait que l'intensité d'activation des différentes voies de réponse au stress, en particulier de l'axe corticotrope, diminue lors d'expositions répétées au même stresser (Grissom et al. 2009). Chez les ongulés, cette habituation a été observée chez de jeunes cerfs exposés à l'approche d'humains (Espmark et al. 1985). L'habituation à la capture a aussi été étudiée chez plusieurs espèces comme le mouflon (Marco et al. 1998) ou l'impala (Knox et al. 1990). Toutefois, peu de changements significatifs en terme de valeurs sanguines sont observés dans ces études. Ce point conforte notre suggestion précédente selon laquelle des études sur l'évolution de la perception du stress par les chevreuils lors d'exposition répétées seraient à envisager pour la suite.

CONCLUSION

Comme c'est le cas chez d'autres espèces animales, plusieurs paramètres sanguins hématologiques et biochimiques sont utilisables pour indexer la capacité individuelle de réponse au stress chez le chevreuil. Au niveau hématologique, la concentration en globules rouges, l'hématocrite et l'hémoglobine sont les plus pertinents. La formule leucocytaire, bien que largement utilisée chez d'autres espèces animales, reste moins fiable d'après nos travaux. Du point de vue biochimique, la créatinémie et la protéinémie totale présentent de légères variations avec le stress de l'animal. Parmi les protéines sériques, les globulines α_2 semblent les plus influencées par la réaction à la capture.

L'urée varie par contre peu avec celle-ci et semble plutôt sensible au régime alimentaire de l'animal comme ceci a été constaté chez d'autres espèces herbivores. Enfin, les fructosamines plasmatiques constituent un paramètre intéressant pour l'évaluation du stress chez le chevreuil, et en particulier du lien entre la réponse chronique et la réponse à l'évènement aigu de la capture. Cette observation souligne qu'une certaine constance semble se dégager dans la réponse au stress. Les animaux réagissant de façon marquée au stress de capture seraient aussi les plus stressés de façon chronique. Afin de préciser ce phénomène, la mesure sur le terrain de la glycémie, relativement simple et peu onéreuse, pourrait présenter un intérêt.

L'utilisation de ces paramètres sanguins a permis par ailleurs une première évaluation des différences dans la réaction au stress de la capture entre des chevreuils sauvages et des captifs. Les individus sauvages réagissent d'après nos travaux, de manière plus importante au stress de la capture. Nous attribuons cette différence à ce que certains appellent le « paysage de la peur » (ou « landscape of fear »), qui fait référence à l'exposition de l'animal au risque, en particulier de prédation (Laundré et al. 2010). Dans notre cas, les individus sauvages sont évidemment plus exposés (chasse, prédateurs,...). De plus, des différences ont de la même manière été observées entre des individus en captivité logés dans des enclos de tailles différentes, ceux des petits enclos réagissant de façon exacerbée par rapport aux autres. Là encore, le stress quotidien ressenti par ces animaux, plus au contact de l'homme sur le site de Gardouch, constitue une explication possible.

Des études ultérieures en environnement contrôlé seraient particulièrement intéressantes. La présence au CEFS d'un tel dispositif expérimental avec des animaux en captivité est un atout considérable pour investiguer le stress de manière plus précise chez le chevreuil. L'exposition répétée d'un animal au même stressor, comme plusieurs captures successives rapprochées, permettrait d'étudier l'évolution des paramètres sanguins avec l'habituation. Par ailleurs, entre deux captures, l'exposition plus ou moins régulière à un stressor aigu serait une piste utilisable pour vérifier que la répétition de stress aigus, souvent considérée comme un stress chronique, est bien responsable d'une augmentation des fructosamines plasmatiques.

Enfin, une étude complémentaire sur les chevreuils captifs, que nous n'avons pas menée par manque de temps, est envisageable. Certains des animaux étudiés ici ont été élevés au biberon par les membres de l'équipe, tandis que les autres ne sont pas apprivoisés. Sur le terrain, des différences comportementales sont facilement observables, les animaux apprivoisés étant généralement moins farouches que les autres vis-à-vis de l'homme. Étudier leur réaction face au stress de la capture permettra d'éclairer l'influence de la proximité entre l'homme et l'animal dans la réaction à un stress aigu comme la capture.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

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

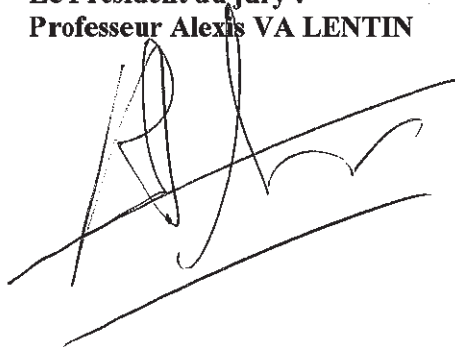
Je soussigné, **Renaud MAILLARD**, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **MORAU Mathieu** intitulée « *Utilisation de l'hématologie et de la biochimie dans l'évaluation du stress à la capture chez le chevreuil.* » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.


Fait à Toulouse, le 25 septembre 2015
Professeur Renaud MAILLARD
Enseignant chercheur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

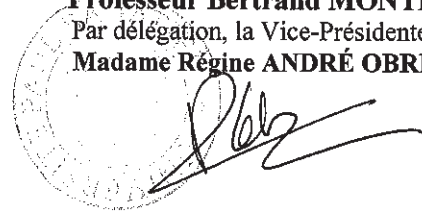
Vu :
La Directrice de l'Ecole Nationale
Vétérinaire de Toulouse
Isabelle CHMITZ



Vu :
Le Président du jury :
Professeur Alexis VA LENTIN



Vu et autorisation de l'impression :
Le Président de l'Université
Paul Sabatier
Professeur Bertrand MONTHUBERT
Par délégation, la Vice-Présidente du CEVU
Madame Régine ANDRÉ OBRECHT



M. MORAU Mathieu
a été admis(e) sur concours en : 2010
a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le : 26/06/2014
a validé son année d'approfondissement le : 24/09/2015
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

Bibliographie

- Abbas, F., N. Morellet, A. J. M. Hewison, et al. (2011). "Landscape fragmentation generates spatial variation of diet composition and quality in a generalist herbivore." Oecologia **167**(2): 401-411.
- Abbott, D. H., E. B. Keverne, F. B. Bercovitch, et al. (2003). "Are subordinates always stressed? A comparative analysis of rank differences in cortisol levels among primates." Horm Behav **43**(1): 67-82.
- Abdelatif, A. M. and S. E. Abdalla (2012). "Effects of Epinephrine Challenge and Splenectomy on Physiological Responses in Goats (*Capra hircus*)." J. Vet. Adv. **2**(10): 514-523.
- Aitken, R. (1974). "Delayed implantation in roe deer (*Capreolus capreolus*)." Journal of Reproduction and Fertility **39**(1): 225-233.
- Aizeret, C., H. Tixier, P. Ballon, et al. (2002). "Les dégâts alimentaires du chevreuil en milieu forestier." Forêt wallonne **59**: 9-15.
- Andersen, R., P. Duncan and J. D. Linnell (1998). The European roe deer: the biology of success, Scandinavian university press Oslo.
- Arnemo, J. M., T. Storaas, C. B. Khadka, et al. (2005). "Use of medetomidine-ketamine and atipamezole for reversible immobilization of free-ranging hog deer (*Axis porcinus*) captured in drive nets." Journal of Wildlife Diseases **41**(2): 467-470.
- Aulagnier, S., P. Haffner, T. J. Mitchell-Jones, et al. (2010). Guide des mammifères d'Europe, d'Afrique du Nord et du Moyen-Orient, Delachaux et Niestlé.
- Ballon, P., B. Guibert, J.-P. Hamard, et al. (1999). "Sensibilité de quelques essences forestières de reboisement à l'abrouissement par le chevreuil (*Capreolus capreolus*)." Revue forestière française **1**: 20-34.
- Ballon, P., J. P. Hamard and F. Klein (2005). "Importance des dégâts de cervidés en forêt. Principaux acquis et recommandations suite à la mise en place d'un observatoire national." Revue forestière française **LXVII**(n° 5): 399-412.
- Bates, D., M. Maechler, B. Bolker, et al. (2013). "lme4: Linear mixed-effects models using Eigen and S4." R package version **1**(4).
- Beata, C. (2011). La peur, Editions Solal.
- Beerda, B., M. B. Schilder, J. A. van Hooff, et al. (1997). "Manifestations of chronic and acute stress in dogs." Applied Animal Behaviour Science **52**(3): 307-319.
- Benhaiem, S., M. Delon, B. Lourtet, et al. (2008). "Hunting increases vigilance levels in roe deer and modifies feeding site selection." Animal Behaviour **76**(3): 611-618.
- Beringer, J., L. P. Hansen, W. Wilding, et al. (1996). "Factors Affecting Capture Myopathy in White-Tailed Deer." The Journal of Wildlife Management **60**(2): 373-380.

- Besbeas, P., S. N. Freeman, B. J. Morgan, et al. (2002). "Integrating mark-recapture-recovery and census data to estimate animal abundance and demographic parameters." Biometrics **58**(3): 540-547.
- Bhatnagar, S., C. Vining, V. Iyer, et al. (2006). "Changes in hypothalamic-pituitary-adrenal function, body temperature, body weight and food intake with repeated social stress exposure in rats." J Neuroendocrinol **18**(1): 13-24.
- Blottner, S., O. Hingst and H. H. D. Meyer (1996). "Seasonal spermatogenesis and testosterone production in roe deer (*Capreolus capreolus*)." Journal of Reproduction and Fertility **108**(2): 299-305.
- Boer, d. H. Y., v. L. Breukelen, M. J. M. Hootsmans, et al. (2004). "Flight distance in roe deer *Capreolus capreolus* and fallow deer *Dama dama* as related to hunting and other factors." Wildlife Biology **10**(1): 35 - 41.
- Boisaubert, B. and J. M. Boutin (1988). Le chevreuil, Hatier.
- Bonnot, N., N. Morellet, H. Verheyden, et al. (2013). "Habitat use under predation risk: hunting, roads and human dwellings influence the spatial behaviour of roe deer." European Journal of Wildlife Research **59**(2): 185-193.
- Bonnot, N., H. Verheyden, P. Blanchard, et al. (2014). "Inter-individual variability in habitat use: evidence for a risk management syndrome in roe deer ?" Behavioral Ecology **26**(1): 105-114.
- Boonstra, R. (2005). "Equipped for life: the adaptive role of the stress axis in male mammals." Journal of Mammalogy **86**(2): 236-247.
- Boonstra, R., B. Dantzer, B. Delehanty, et al. (2014). "Equipped for Life in the Boreal Forest: The Role of the Stress Axis in Mammals." Arctic **67**(5): 82-97.
- Boucher, J. H., E. W. Ferguson, C. L. Wilhelmsen, et al. (1981). "Erythrocyte alterations endurance exercise in horses." Journal of Applied Physiology **51**(1): 131-134.
- Boudarene, M., M. Timsit-Berthier and J. J. Legros (1997). "Qu'est ce que le stress ?" Rev Med Liege **52**(8): 541-549.
- Bouwknicht, J. A. and R. Paylor (2002). "Behavioral and physiological mouse assays for anxiety: a survey in nine mouse strains." Behav Brain Res **136**(2): 489-501.
- Bramley, P. S. (1970). "Territoriality and reproductive behaviour of roe deer." J Reprod Fertil Suppl **11**(11).
- Broom, D. M. (2003). "Transport stress in cattle and sheep with details of physiological, ethological and other indicators." Dtsch Tierarztl Wochenschr **110**(3): 83-89.
- Burdick, S., M. A. Mitchell, J. Neil, et al. (2012). "Evaluation of two point-of-care meters and a portable chemistry analyzer for measurement of blood glucose concentrations in juvenile white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*)." J Am Vet Med Assoc **240**(5): 596-599.

- Burguez, P. N., J. Ousey, R. S. G. Cash, et al. (1983). "Changes in blood neutrophil and lymphocyte counts following administration of cortisol to horses and foals." Equine Veterinary Journal **15**(1): 58-60.
- Burnham, K. P. and D. R. Anderson (2002). Model selection and multimodel inference: a practical information-theoretic approach, Springer Science & Business Media.
- Cannon, W. B. (1935). "Stresses and strains of homeostasis." The American Journal of the Medical Sciences **189**(1): 13-14.
- Carere, C. and K. van Oers (2004). "Shy and bold great tits (*Parus major*): body temperature and breath rate in response to handling stress." Physiol Behav **82**(5): 905-912.
- Casas-Díaz, E., I. Marco, J. R. López-Olvera, et al. (2010). "Use of acepromazine for stress control in Spanish ibex (*Capra pyrenaica*) captured by drive-net." Vet J **183**(3): 332-336.
- Casas-Díaz, E., I. Marco, J. R. López-Olvera, et al. (2012). "Effect of Acepromazine and Haloperidol in Male Iberian Ibex (*Capra pyrenaica*) Captured by Box-Trap." Journal of Wildlife Diseases **48**(3): 763-767.
- Chai, N. (2005). Capture et anesthésie des animaux sauvages et exotiques, Editions Yaboumba.
- Chevrier T, B. J., Leonard Y (2009). "Comment capturer des cervidés en montagne ?" Faune Sauvage(285): 16-21.
- Ciuti, S., T. B. Muhly, D. G. Paton, et al. (2012). "Human selection of elk behavioural traits in a landscape of fear." Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences **279**(1746): 4407-4416.
- Collin, B. (1992). Petit dictionnaire de la médecine du gibier, Editions du Perron.
- Contrada, R. and A. Baum (2010). The Handbook of Stress Science: Biology, Psychology, and Health, Springer Publishing Company.
- Cooper, C., A. Evans, S. Cook, et al. (1995). "Cortisol, progesterone and β -endorphin response to stress in calves." Canadian Journal of Animal Science **75**(2): 197-201.
- Corson, S. A., E. O. Corson and R. M. Andrysko (1982). "Cardiac and respiratory orienting reflexes as indices of susceptibility to psychosomatic cardio-respiratory disorders." Act Nerv Super **3**(Pt 2): 351-372.
- Creel, S. (2005). "Dominance, Aggression, and Glucocorticoid Levels in Social Carnivores." Journal of Mammalogy **86**(2): 255-264.
- Crenshaw, K. L., M. E. Peterson, L. A. Heeb, et al. (1996). "Serum fructosamine concentration as an index of glycemia in cats with diabetes mellitus and stress hyperglycemia." Journal of Veterinary Internal Medicine **10**(6): 360-364.
- Davenport, M. D., S. Tiefenbacher, C. K. Lutz, et al. (2006). "Analysis of endogenous cortisol concentrations in the hair of rhesus macaques." General and comparative endocrinology **147**(3): 255-261.

- Davis, A., D. Maney and J. Maerz (2008). "The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: a review for ecologists." Functional Ecology **22**(5): 760-772.
- Dawson, A. and D. Ogston (1969). "Exercise-induced thrombocytosis." Acta haematologica **42**(4): 241-246.
- de Jager, C. P., P. T. van Wijk, R. B. Mathoera, et al. (2010). "Lymphocytopenia and neutrophil-lymphocyte count ratio predict bacteremia better than conventional infection markers in an emergency care unit." Crit Care **14**(5): 29.
- Debeffe, L. (2013). La dispersion chez le chevreuil européen, *Capreolus capreolus*, dans un paysage hétérogène, Université de Toulouse III. **Thèse de doctorat.**
- Dehnhard, M., M. Clauss, M. Lechner-Doll, et al. (2001). "Non invasive monitoring of adrenocortical activity in roe deer (*Capreolus capreolus*) by measurement of fecal cortisol metabolites." General and comparative endocrinology **123**(1): 111-120.
- Delahay, R. J., G. C. Smith, A. M. Barlow, et al. (2007). "Bovine tuberculosis infection in wild mammals in the South-West region of England: a survey of prevalence and a semi-quantitative assessment of the relative risks to cattle." Vet J **173**(2): 287-301.
- DelGiudice, G. D., L. D. Mech, K. E. Kunkel, et al. (1992). "Seasonal patterns of weight, hematology, and serum characteristics of free-ranging female white-tailed deer in Minnesota." Canadian Journal of Zoology **70**(5): 974-983.
- DelGiudice, G. D., L. D. Mech and U. S. Seal (1990). "Effects of winter undernutrition on body composition and physiological profiles of white-tailed deer." The Journal of Wildlife Management: 539-550.
- Delorme, D. and G. Van Laere (2007). Le chevreuil, Belin.
- Delorme, D., G. Van Laere, J. Gaillard, et al. (2007). "La phase juvénile chez le chevreuil - un élément déterminant pour orienter la gestion de l'espèce." Faune Sauvage **275**: 15-22.
- Dhabhar, F. S., A. H. Miller, M. Stein, et al. (1994). "Diurnal and acute stress-induced changes in distribution of peripheral blood leukocyte subpopulations." Brain Behav Immun **8**(1): 66-79.
- Douhard, M., J. M. Gaillard, D. Delorme, et al. (2013). "Variation in adult body mass of roe deer: early environmental conditions influence early and late body growth of females." Ecology **94**(8): 1805-1814.
- Drion, P. V., C. Hanzen, D. Wirth, et al. (2003). Physiologie de la reproduction et endocrinologie chez les cervidés : une revue. Liège, BELGIQUE, Université de Liège, Faculté de médecine vétérinaire.
- Dubray, D. (1993). Techniques de capture et de marquage des ongulés sauvages: actes du symposium, Mèze, Hérault, 20, 21 et 22 mars 1990, Office National de la Chasse.
- Ellis, B. J., J. J. Jackson and W. T. Boyce (2006). "The stress response systems: Universality and adaptive individual differences." Developmental Review **26**(2): 175-212.

- English, A. W. and E. E. Lephed (1981). "The haematology and serum biochemistry of wild fallow deer (*Dama dama*) in New South Wales." J Wildl Dis **17**(2): 289-295.
- Espmark, Y. and R. Langvatn (1979). "Cardiac responses in alarmed red deer calves." Behav Processes **4**(2): 179-186.
- Espmark, Y. and R. Langvatn (1985). "Development and Habituation of Cardiac and Behavioral Responses in Young Red Deer Calves (*Cervus elaphus*) Exposed to Alarm Stimuli." Journal of Mammalogy **66**(4): 702-711.
- Ewbank, R. (1985). Behavioral responses to stress in farm animals. Animal Stress, Springer: 71-79.
- Fernández, M. H. and E. S. Vrba (2005). "A complete estimate of the phylogenetic relationships in Ruminantia: a dated species level supertree of the extant ruminants." Biological reviews **80**(2): 269-302.
- Fichant, R. (2013). Quel avenir pour le cerf, le chevreuil et le sanglier ?, Quae Editions.
- Finco, D. R. (1997). "Kidney function." Clinical biochemistry of domestic animals **4**: 496-542.
- Fowler, M. E. (1993). Horns and Antlers. Dans Zoo and Wild Animal Medicine, Current Therapy, 3rd edition., Philadelphia: W.B. Saunders: pp. 489-493.
- Fowler, M. E. (2011). Restraint and handling of wild and domestic animals, John Wiley & Sons.
- Franzmann, A. W. (1972). "Environmental Sources of Variation of Bighorn Sheep Physiologic Values." The Journal of Wildlife Management **36**(3): 924-932.
- Fraser, D. (2013). Understanding Animal Welfare: The Science in its Cultural Context, Wiley & Sons.
- Gaillard, J.-M., A. J. Sempéré, J.-M. Boutin, et al. (1992). "Effects of age and body weight on the proportion of females breeding in a population of roe deer (*Capreolus capreolus*)." Canadian Journal of Zoology **70**(8): 1541-1545.
- Gaillard, J., D. Delorme, J. Jullien, et al. (1993). "Timing and synchrony of births in roe deer." Journal of Mammalogy **74**(3): 738-744.
- Geist, V. (1998). Deer of the World: Their Evolution, Behaviour, and Ecology, Stackpole Books.
- Gibbons, J. M., A. B. Lawrence and M. J. Haskell (2011). "Consistency of flight speed and response to restraint in a crush in dairy cattle." Applied Animal Behaviour Science **131**(1-2): 15-20.
- Gibert, P. (1991). "Conséquences de la capture et des manipulations sur la physiologie des ongulés sauvages : incidence pathologique, bilans et connaissances." Bulletin mensuel de l'Office national de la Chasse: 31-40.

- Gilot-Fromont, E., M. Jégo, C. Bonenfant, et al. (2012). "Immune Phenotype and Body Condition in Roe Deer: Individuals with High Body Condition Have Different, Not Stronger Immunity." PLoS One **7**(9): e45576.
- Girardot, V. (2011). Contribution à l'étude de l'hématologie du chevreuil (*Capreolus capreolus*), Thèse de Doctorat Vétérinaire, ENVL.
- Grandin, T. (1997). "Assessment of stress during handling and transport." J. Anim. Sci **75**(1): 249-257.
- Grissom, N. and S. Bhatnagar (2009). "Habituation to repeated stress: get used to it." Neurobiol Learn Mem **92**(2): 215-224.
- Groenink, L., J. van der Gugten, T. Zethof, et al. (1994). "Stress-induced hyperthermia in mice: Hormonal correlates." Physiology & Behavior **56**(4): 747-749.
- Halter, J. B., J. C. Beard and D. Porte, Jr. (1984). "Islet function and stress hyperglycemia: plasma glucose and epinephrine interaction." Am J Physiol **247**(1 Pt 1): 47-52.
- Hargreaves, K. M. (1990). "Neuroendocrine markers of stress." Anesthesia Progress **37**(2-3): 99-105.
- Hars, J., C. Richomme, J. Rivière, et al. (2012). "Dix années de surveillance de la tuberculose bovine dans la faune sauvage française et perspective." Bull. Epid. Santé Anim. Alim. **52**: 2-6.
- Hassanin, A. and E. J. P. Douzery (2003). "Molecular and Morphological Phylogenies of Ruminantia and the Alternative Position of the Moschidae." Systematic Biology **52**(2): 206-228.
- Hattingh, J., N. I. Pitts and M. F. Ganhao (1988). "Immediate response to repeated capture and handling of wild impala." Journal of Experimental Zoology **248**(1): 109-112.
- Henry, J. P. (1992). "Biological basis of the stress response." Integrative physiological and behavioral science **27**(1): 66-83.
- Hessing, M. J., A. M. Hagelsø, J. Van Beek, et al. (1993). "Individual behavioural characteristics in pigs." Applied Animal Behaviour Science **37**(4): 285-295.
- Hewison, A. J., J. Vincent, J. Joachim, et al. (2001). "The effects of woodland fragmentation and human activity on roe deer distribution in agricultural landscapes." Canadian Journal of Zoology **79**(4): 679-689.
- Hewison, A. J. M., J.-M. Angibault, B. Cargnelutti, et al. (2007). "Using Radio-tracking and Direct Observation to Estimate Roe Deer *Capreolus Capreolus* Density in a Fragmented Landscape: A Pilot Study." Wildlife Biology **13**(3): 313-320.
- Hopster, H. and H. J. Blokhuis (1994). "Validation of a heart-rate monitor for measuring a stress response in dairy cows." Canadian Journal of Animal Science **74**(3): 465-474.
- Horrocks, P. M., A. F. Jones, W. A. Ratcliffe, et al. (1990). "Patterns of ACTH and cortisol pulsatility over twenty-four hours in normal males and females." Clin Endocrinol **32**(1): 127-134.

- Houis, V. (2011). "Chevreuils et sapins de Noël, l'exemple du Morvan." Revue scientifique Bourgogne-Nature **14**: 101-106.
- Hurford, W. E., P. W. Hochachka, R. C. Schneider, et al. (1996). "Splenic contraction, catecholamine release, and blood volume redistribution during diving in the Weddell seal." J Appl Physiol **80**(1): 298-306.
- Jain, N. C. (1993). Essentials of veterinary hematology, Wiley.
- Jalanka, H. (1988). "Evaluation of Medetomidine- and Ketamine-Induced Immobilization in Markhors (*Capra falconeri megaceros*) and Its Reversal by Atipamezole." The Journal of Zoo Animal Medicine **19**(3): 95-105.
- Jones, C. T. and A. V. Edwards (1990). "Adrenal responses to corticotrophin-releasing factor in conscious hypophysectomized calves." The Journal of physiology **430**: 25-36.
- Kannan, G., T. H. Terrill, B. Kouakou, et al. (2000). "Transportation of goats: effects on physiological stress responses and live weight loss." J Anim Sci **78**(6): 1450-1457.
- Katsoulos, P. D., A. Minas, M. A. Karatzia, et al. (2011). "Evaluation of a portable glucose meter for use in cattle and sheep." Vet Clin Pathol **40**(2): 245-247.
- Kientz, S. (2014). Étude des variations de la biochimie du chevreuil (*Capreolus capreolus*) dans deux populations en France de 2009 à 2013, Thèse de Doctorat Vétérinaire, ENVL.
- Kiffner, C., C. Lödige, M. Alings, et al. (2010). "Abundance estimation of Ixodes ticks (Acari: Ixodidae) on roe deer (*Capreolus capreolus*)." Experimental and Applied Acarology **52**(1): 73-84.
- Kirkpatrick, R., D. Buckland, W. Abler, et al. (1975). "Energy and protein influences on blood urea nitrogen of white-tailed deer fawns." The Journal of Wildlife Management: 692-698.
- Knox, C. M., J. Hattingh and J. Raath (1990). "The effect of tranquilizers on the immediate responses to repeated capture and handling of boma-kept impala." Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology **95**(2): 247-251.
- Kock, M. D., R. K. Clark, C. E. Franti, et al. (1987 a). "Effects of capture on biological parameters in free-ranging bighorn sheep (*Ovis canadensis*): evaluation of normal, stressed and mortality outcomes and documentation of postcapture survival." Journal of Wildlife Diseases **23**(4): 652-662.
- Kock, M. D., D. A. Jessup, R. K. Clark, et al. (1987 b). "Effects of capture on biological parameters in free-ranging bighorn sheep (*Ovis canadensis*): evaluation of drop-net, drive-net, chemical immobilization and the net-gun." J Wildl Dis **23**(4): 641-651.
- Kock, M. D., R. d. Toit, N. Kock, et al. (1990). "Effects of Capture and Translocation on Biological Parameters in Free-Ranging Black Rhinoceroses (*Diceros bicornis*) in Zimbabwe." Journal of Zoo and Wildlife Medicine **21**(4): 414-424.

- Koeppen, B. M. and B. A. Stanton (2007). Renal Physiology, Mosby Elsevier.
- Koolhaas, J., S. Korte, S. De Boer, et al. (1999). "Coping styles in animals: current status in behavior and stress-physiology." Neuroscience & Biobehavioral Reviews **23**(7): 925-935.
- Korte, S. M., J. M. Koolhaas, J. C. Wingfield, et al. (2005). "The Darwinian concept of stress: benefits of allostasis and costs of allostatic load and the trade-offs in health and disease." Neuroscience & Biobehavioral Reviews **29**(1): 3-38.
- Kronfeld, D. S., E. P. Hammel, C. F. Ramberg, Jr., et al. (1977). "Hematological and metabolic responses to training in racing sled dogs fed diets containing medium, low, or zero carbohydrate." Am J Clin Nutr **30**(3): 419-430.
- Lansade, L., M. F. Bouissou and X. Boivin (2007). "Temperament in preweanling horses: Development of reactions to humans and novelty, and startle responses." Developmental Psychobiology **49**: 501-513.
- Lapeyrade, E. (2014). Manifestations cliniques et endocrines liées au stress chez le chien et le chat : étude bibliographique comparative, Thèse de Doctorat Vétérinaire - ENVT.
- Laundré, J. W., L. Hernández and W. J. Ripple (2010). "The landscape of fear: ecological implications of being afraid." Open Ecology Journal **3**: 1-7.
- Lay, D., T. Friend, R. Randel, et al. (1992). "Behavioral and physiological effects of freeze or hot-iron branding on crossbred cattle." Journal of Animal Science **70**(2): 330-336.
- Lazarus, R. S. and S. Folkman (1984). Stress, appraisal and coping. New York, Springer.
- Lecci, A., F. Borsini, G. Volterra, et al. (1990). "Pharmacological validation of a novel animal model of anticipatory anxiety in mice." Psychopharmacology **101**(2): 255-261.
- Ljungqvist, U. (1971). "Platelet response to adrenalin infusion in splenectomised and non-splenectomised dogs." Acta Chir Scand **137**(4): 291-297.
- Long, N. C., A. J. Vander and M. J. Kluger (1990). "Stress-induced rise of body temperature in rats is the same in warm and cool environments." Physiol Behav **47**(4): 773-775.
- Lopez-Olvera, J. R., I. Marco, J. Montané, et al. (2007). "Effects of acepromazine on the stress response in Southern chamois (*Rupicapra pyrenaica*) captured by means of drive-nets." **71**(1): 41-51.
- Lopez-Olvera, J. R., I. Marco, J. Montane, et al. (2006). "Transport stress in Southern chamois (*Rupicapra pyrenaica*) and its modulation by acepromazine." Vet J **172**(2): 347-355.
- Lovari, S., Herrero, J., Conroy, J., Maran, T., Giannatos, G., Stübbe, M., Aulagnier, S., Jdeidi, T., Masseti, M, Nader, I., de Smet, K. & Cuzin, F. (2008). "*Capreolus capreolus*." The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2015.2, from www.iucnredlist.org.
- Lutz, T. A., J. S. Rand and E. Ryan (1995). "Fructosamine concentrations in hyperglycemic cats." The Canadian Veterinary Journal **36**(3): 155-159.

- Macbeth, B. J., M. R. L. Cattet, G. B. Stenhouse, et al. (2010). "Hair cortisol concentration as a noninvasive measure of long-term stress in free-ranging grizzly bears (*Ursus arctos*): considerations with implications for other wildlife." Canadian Journal of Zoology **88**(10): 935-949.
- Maizeret, C. and D. Tran Manh Sung (1984). Etude du régime alimentaire et recherche du déterminisme fonctionnel de la sélectivité chez le chevreuil (*Capreolus capreolus*) des Landes de Gascogne, Office national de la chasse.
- Marchal, C. (1998). Organisation socio-spatiale d'une population de chevreuils (*capreolus capreolus*) vivant en plaine agricole - recherche des déterminants proximaux, Université Toulouse III. **Thèse de Doctorat**: 186.
- Marco, I. and S. Lavin (1999). "Effect of the method of capture on the haematology and blood chemistry of red deer (*Cervus elaphus*)." Res Vet Sci **66**(2): 81-84.
- Marco, I., L. Vinas, R. Velarde, et al. (1998). "The stress response to repeated capture in mouflon (*Ovis ammon*): physiological, haematological and biochemical parameters." J. Vet. Med. A. **45**: 243-253.
- Mazerolle, M. J. and M. M. J. Mazerolle (2015). Package 'AICcmodavg'.
- Mazzuco, T. L. (2005). Contribution de l'expression anormale de récepteurs couplés aux protéines G à la tumorigénèse cortico-surrénalienne, Université Joseph-Fourier-Grenoble I. **Thèse de Doctorat**.
- McEwen, B. S. and J. C. Wingfield (2003). "The concept of allostasis in biology and biomedicine." Hormones and behavior **43**(1): 2-15.
- McEwen, B. S. and J. C. Wingfield (2010). "What's in a name? Integrating homeostasis, allostasis and stress." Hormones and behavior **57**(2): 105.
- Mentaberre, G., J. R. Lopez-Olvera, E. Casas-Diaz, et al. (2010). "Use of haloperidol and azaperone for stress control in roe deer (*Capreolus capreolus*) captured by means of drive-nets." Res Vet Sci **88**(3): 531-535.
- Meyer, L. C. R., L. Fick, A. Matthee, et al. (2008). "Hyperthermia in capture impala (*Aepyceros malampus*): a fright not flight response." Journal of Wildlife Diseases **44**(2): 404-416.
- Minton, J. and K. Parsons (1993). "Adrenocorticotrophic hormone and cortisol response to corticotropin-releasing factor and lysine vasopressin in pigs." Journal of Animal Science **71**(3): 724-729.
- Moberg, G. P. (1985). Animal stress, American Physiological Society.
- Moberg, G. P. and J. A. Mench (2000). The biology of animal stress: basic principles and implications for animal welfare, CABI.
- Moe, R. O. and M. Bakken (1997). "Effects of handling and physical restraint on rectal temperature, cortisol, glucose and leucocyte counts in the silver fox (*Vulpes vulpes*)." Acta Vet Scand **38**(1): 29-39.

- Moen, R., J. M. Rasmussen, C. L. Burdett, et al. (2010). "Hematology, serum chemistry, and body mass of free-ranging and captive Canada lynx in Minnesota." J Wildl Dis **46**(1): 13-22.
- Montané, J. (2003). Valoración del estrés de captura, transporte y manejo en el corzo (Capreolus capreolus). Efecto de la Acepromacina y de la Cautividad, Universitat Autònoma de Barcelona.
- Montané, J., I. Marco, J. López-Olvera, et al. (2002). "Transport stress in roe deer (*Capreolus capreolus*): effect of a short-acting antipsychotic." Animal Welfare **11**(4): 405-417.
- Montané, J., I. Marco, J. R. Lopez-Olvera, et al. (2007). "Effect of acepromazine on the signs of capture stress in captive and free-ranging roe deer (*Capreolus capreolus*)." Vet Rec **160**(21): 730-738.
- Montané, J., I. Marco, X. Manteca, et al. (2002). "Delayed acute capture myopathy in three roe deer." J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med **49**(2): 93-98.
- Moraes, L. F., C. M. Thomazini, R. K. Takahira, et al. (2011). "Assessment of fructosamine concentrations in cats with acute and chronic stress." 2011 **48**(5).
- Morellet, N. (2008). "La gestion des herbivores par les indicateurs de changement écologiques." Faune Sauvage **282**: 9-18.
- Morellet, N., H. Verheyden, J.-M. Angibault, et al. (2009). "The effect of capture on ranging behaviour and activity of the European roe deer *Capreolus capreolus*." Wildlife Biology **15**(3): 278-287.
- Mostl, E. and R. Palme (2002). "Hormones as indicators of stress." Domest Anim Endocrinol **23**(1-2): 67-74.
- Müller, R. and M. A. G. von Keyserlingk (2006). "Consistency of flight speed and its correlation to productivity and to personality in *Bos taurus* beef cattle." Applied Animal Behaviour Science **99**(3-4): 193-204.
- Munerato, M. S., J. M. Duarte, G. T. Pereira, et al. (2010). "Effects of physical and chemical immobilization on hematologic and biochemical variables in captive brown brocket deer (*Mazama gouazoubira*)." Vet Clin Pathol **39**(4): 454-463.
- Natelson, B. H., D. Creighton, R. McCarty, et al. (1987). "Adrenal hormonal indices of stress in laboratory rats." Physiol Behav **39**(1): 117-125.
- Nielsen, L. (1999). Chemical immobilization of wild and exotic animals, Iowa State University Press.
- Norton, J. and R. Campbell (1990). "Non-infectious causes of bovine abortion." Veterinary Bulletin **60**(12): 1137-1147.
- Oka, T., K. Oka and T. Hori (2001). "Mechanisms and mediators of psychological stress-induced rise in core temperature." Psychosom Med **63**(3): 476-486.

- Omsjoe, E. H. O. H., A. S. Stien, J. I. Irvine, et al. (2009). "Evaluating capture stress and its effects on reproductive success in Svalbard reindeer." Canadian Journal of Zoology **87**(1): 73-85.
- ONCFS Réseau Ongulés Sauvages. (2013). "Fiche espèce: le chevreuil." from <http://www.oncfs.gouv.fr/Connaitre-les-especes-ru73/Le-Chevreuil-ar977>.
- Opitz, M. (1990). "Stress hyperglycemia in cats." Berl Munch Tierarztl Wochenschr **103**(5): 151-158.
- Paterson, J. (2014). Capture Myopathy. Zoo Animal and Wildlife Immobilization and Anesthesia, John Wiley & Sons, Inc.: 171-179.
- Pedernera-Romano, C., J. L. R. de la Torre, L. Badiella, et al. (2010). "Effect of perphenazine enanthate on open-field test behaviour and stress-induced hyperthermia in domestic sheep." Pharmacology Biochemistry and Behavior **94**(3): 329-332.
- Peloso, E., M. Wachulec and E. Satinoff (2002). "Stress-induced hyperthermia depends on both time of day and light condition." J Biol Rhythms **17**(2): 164-170.
- Peterson, M. E. (2012). "Veterinary endocrinology: How Glucocorticoids affect the complete blood count." Retrieved 25/09/2015, from <http://www.endocrinevet.info/2012/04/how-glucocorticoids-affect-complete.html>.
- Pettorelli, N., J.-M. Gaillard, G. Van Laere, et al. (2002). "Variations in adult body mass in roe deer: the effects of population density at birth and of habitat quality." Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences **269**(1492): 747-753.
- Pitra, C., J. Fickel, E. Meijaard, et al. (2004). "Evolution and phylogeny of old world deer." Mol Phylogenet Evol **33**(3): 880-895.
- Plumb, D. C. (2011). Plumb's Veterinary Drug Handbook, Wiley.
- Poljicak-Milas, N., T. S. Marenjak, A. Slavica, et al. (2009). "Comparative hematological and biochemical values in pregnant and non-pregnant red, Cervus elaphus, and fallow deer, Dama dama, females." Folia Zoologica **58**(1): 36.
- Pradel, R. (1996). "Utilization of Capture-Mark-Recapture for the Study of Recruitment and Population Growth Rate." Biometrics **52**(2): 703-709.
- Querengaesser, A., C. Iben and J. Leibetseder (1994). "Blood changes during training and racing sled dogs." Journal of Nutrition **124**: 2760S-2764S.
- R Development Core Team (2014). R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria, R Foundation for Statistical Computing.
- Ranabir, S. and K. Reetu (2011). "Stress and hormones." Indian J Endocr Metab **15**: 18-22.
- Reale, D., S. M. Reader, D. Sol, et al. (2007). "Integrating animal temperament within ecology and evolution." Biological reviews **82**(2): 291-318.
- Reeder, D. M. and K. M. Kramer (2005). "Stress in free-ranging mammals: Integrating physiology, ecology, and natural history." Journal of Mammalogy **86**(2): 225-235.

- Reimoser, S. (2012). Influence of Anthropogenic Disturbances on Activity, Behavior and Heart Rate of Roe Deer (*Capreolus capreolus*) and Red Deer (*Cervus elaphus*), in Context of their Daily and Yearly Patterns. In: Deer: Habitat, behaviour and conservation (Chapter 1), Nova Science Publishers, Inc.: p1-96.
- Reusch, C. E., M. R. Liehs, M. Hoyer, et al. (1993). "Fructosamine. A new parameter for diagnosis and metabolic control in diabetic dogs and cats." J Vet Intern Med **7**(3): 177-182.
- Romero, L. M. (2004). "Physiological stress in ecology: lessons from biomedical research." Trends in Ecology & Evolution **19**(5): 249-255.
- Romero, L. M., M. J. Dickens and N. E. Cyr (2009). "The Reactive Scope Model - a new model integrating homeostasis, allostasis, and stress." Horm Behav **55**(3): 375-389.
- Roucher, F. (2008). Chevreaux d'hier et d'aujourd'hui, Gerfaut.
- Rycajal, J. (2011). "Neurosciences et comportements " Retrieved Juillet 2015, 2015, from www.neur-one.fr.
- Salak-Johnson, J. and J. McGlone (2007). "Making sense of apparently conflicting data: Stress and immunity in swine and cattle." Journal of Animal Science **85**(13): 81-88.
- Sapolsky, R. M., L. M. Romero and A. U. Munck (2000). "How Do Glucocorticoids Influence Stress Responses ? Integrating Permissive, Suppressive, Stimulatory, and Preparative Actions." Endocrine Reviews **21**(1): 55-89.
- Savicky, P. (2009). pspearman: Spearman's rank correlation test, R package version 0.2-5.
- Sconberg, S., C. F. Nockels, B. W. Bennett, et al. (1993). "Effects of shipping, handling, adrenocorticotrophic hormone, and epinephrine on alpha-tocopherol content of bovine blood." Am J Vet Res **54**(8): 1287-1293.
- Seal, U. S., M. E. Nelson, L. D. Mech, et al. (1978). "Metabolic Indicators of Habitat Differences in Four Minnesota Deer Populations." The Journal of Wildlife Management **42**(4): 746-754.
- Seal, U. S., J. J. Ozoga, A. W. Erickson, et al. (1972). "Effects of immobilization on Blood Analysis of White-Tailed Deer." The Journal of Wildlife Management **36**(4): 1034-1040.
- Seaward, B. L. (2013). Managing stress, Jones & Bartlett Publishers.
- Selye, H. (1939). "The effect of adaptation to various damaging agents on the female sex organs in the rat." Endocrinology **25**(4): 615-624.
- Sempéré, A. (1990). The Annual Antler Cycle of the European Roe Deer (*Capreolus capreolus*) in Relation to the Reproductive Cycle. Horns, Pronghorns, and Antlers. G. Bubenik and A. Bubenik, Springer New York: 396-415.
- Sparker, T. R. (1993). Stress and capture myopathy in artiodactyls, Philadelphia: W.B. Saunders.

- Stewart, I. B. (2002). "Splenic contraction, catecholamine release, and blood volume redistribution during exercise in man."
- Stewart, I. B. and D. C. McKenzie (2002 a). "The human spleen during physiological stress." Sports Med **32**(6): 361-369.
- Stewart, P. M. (2003). "Chapter 14: The Adrenal Cortex." Williams Textbook of Endocrinology / ed. par P.R. Larsen et al.: 1297 p.
- Stockham, S. L. and M. A. Scott (2013). Fundamentals of veterinary clinical pathology, John Wiley & Sons.
- Superina, M. and Y. S. R. L. Mera (2008). "Hematology and serum chemistry values in captive and wild pichis, *Zaedyus pichiy* (Mammalia, Dasypodidae)." J Wildl Dis **44**(4): 902-910.
- Thrall, M. A., G. Weiser, R. Allison, et al. (2012). Veterinary hematology and clinical chemistry, John Wiley & Sons.
- Tixier, H. and P. Duncan (1996). "Are European roe deer browsers? A review of variations in the composition of their diets." Revue d'écologie **51**(1): 3-17.
- Toïgo, C., J. M. Gaillard, G. Van Laere, et al. (2006). "How does environmental variation influence body mass, body size, and body condition? Roe deer as a case study." Ecography **29**(3): 301-308.
- Torrington, K. G., J. S. McNeil, Y. Y. Phillips, et al. (1989). "Blood volume determinations in sheep before and after splenectomy." Lab Anim Sci **39**(6): 598-602.
- Tree of Life Web Project. (2006, Version 23 February 2006). "Ruminantia. Ruminants." The Tree of Life Web Project. from <http://tolweb.org/Ruminantia/16001/2006.02.23>.
- Trevisi, E. and G. Bertoni (2009). "Some physiological and biochemical methods for acute and chronic stress evaluation in dairy cows." Italian Journal of Animal Science **8**(1s): 265-286.
- Tsigos, C. and G. P. Chrousos (2002). "Hypothalamic–pituitary–adrenal axis, neuroendocrine factors and stress." Journal of psychosomatic research **53**(4): 865-871.
- Valet, G. (2007). La chasse du chevreuil, Editions Artémis.
- Van Laere, G. and J. Boutin (1990). "Capture de chevreuils (*Capreolus capreolus*) aux filets : 25 ans de suivi dans la réserve nationale de chasse de Chizé (Deux-Sèvres)." Bulletin mensuel de l'Office national de la Chasse.
- Van Lerberghe, P. (2014). Protéger les arbres contre les dégâts du gibier: les manchons grillagés, Centre national de la propriété forestière (CNPFF), Institut pour le développement forestier (IDF).
- Vetters, M. D., T. E. Engle, J. K. Ahola, et al. (2013). "Comparison of flight speed and exit score as measurements of temperament in beef cattle." J Anim Sci **91**(1): 374-381.

- Vignon, V. and H. Barbareau (2008). "Collisions entre véhicules et ongulés sauvages: quel coût économique." Une tentative d'évaluation. Faune sauvage **279**: 31-35.
- Vincent, J. P., E. Bideau, A. J. M. Hewison, et al. (1995). "The influence of increasing density on body weight, kid production, home range and winter grouping in roe deer (*Capreolus capreolus*)." Journal of Zoology **236**(3): 371-382.
- Vinkers, C. H., M. J. V. van Bogaert, M. Klanker, et al. (2008). "Translational aspects of pharmacological research into anxiety disorders: The stress-induced hyperthermia (SIH) paradigm." European Journal of Pharmacology **585**(2-3): 407-425.
- Visser, E., C. Van Reenen, J. Van der Werf, et al. (2002). "Heart rate and heart rate variability during a novel object test and a handling test in young horses." Physiology & Behavior **76**(2): 289-296.
- Vor, T., C. Kiffner, P. Hagedorn, et al. (2010). "Tick burden on European roe deer (*Capreolus capreolus*)." Experimental and Applied Acarology **51**(4): 405-417.
- Waas, J. R., J. R. Ingram and L. R. Matthews (1999). "Real-time physiological responses of red deer to translocations." The Journal of Wildlife Management **63**(4): 1152-1162.
- Wardzynski, C. (2004). Étude de la contention des mammifères en parc zoologique des années 50 à nos jours, Thèse de Doctorat Vétérinaire, ENVA.
- Weiss, D. J. and K. J. Wardrop (2011). Schalm's veterinary hematology, John Wiley & Sons.
- Wesson, J. A., P. F. Scanlon, R. L. Kirkpatrick, et al. (1979). "Influence of chemical immobilization and physical restraint on packed cell volume, total protein, glucose, and blood urea nitrogen in blood of white-tailed deer." Canadian Journal of Zoology **57**(4): 756-767.
- White, R. G., J. A. DeShazer, C. J. Tressler, et al. (1995). "Vocalization and physiological response of pigs during castration with or without a local anesthetic." Journal of Animal Science **73**(2): 381-386.
- Wickham H (2009). ggplot2: elegant graphics for data analysis, Springer New York.
- Wingfield, J. C. (2005). "The concept of Allostasis: Coping with a Capricious Environment." Journal of Mammalogy **86**(2): 248-254.
- Wingfield, J. C. (2013). "The comparative biology of environmental stress: behavioural endocrinology and variation in ability to cope with novel, changing environments." Animal Behaviour **85**: 1127-1133.
- Wingfield, J. C., K. Hunt, C. Breuner, et al. (1997). Environmental stress, field endocrinology, and conservation biology. Behavioral approaches to conservation in the wild. Cambridge University Press, Cambridge: 95-131.
- Wingfield, J. C. and L. M. Romero (2010). Adrenocortical Responses to Stress and Their Modulation in Free-Living Vertebrates. Comprehensive Physiology, John Wiley & Sons, Inc.

- Wittrock, J. A., T. F. Duffield and S. J. LeBlanc (2013). "Short communication: validation of a point-of-care glucometer for use in dairy cows." J Dairy Sci **96**(7): 4514-4518.
- Wolkers, J., T. Wensing and G. W. Groot Bruinderink (1994). "Sedation of wild boar (*Sus scrofa*) and red deer (*Cervus elaphus*) with medetomidine and the influence on some haematological and serum biochemical variables." Vet Q **16**(1): 7-9.
- Zethof, T. J., J. A. Van der Heyden, J. T. Tolboom, et al. (1994). "Stress-induced hyperthermia in mice: a methodological study." Physiol Behav **55**(1): 109-115.
- Zulkifli, I., N. Bahyuddin, C. Wai, et al. (2010). "Physiological responses in goats subjected to road transportation under the hot, humid tropical conditions." Int. J. Agric. Biol **12**: 840-844.

Toulouse, 2015

NOM : MORAU

Prénom : Mathieu

TITRE : Utilisation de l'hématologie et de la biochimie dans l'évaluation du stress à la capture chez le chevreuil (*Capreolus capreolus*)

RÉSUMÉ

Que ce soit chez l'homme ou chez l'animal, chaque individu réagit de façon propre au stress auquel il est exposé, tant au niveau comportemental que physiologique. Comprendre cette variabilité s'avère essentiel pour expliquer et prédire la dynamique des populations et de nombreux procédés sont utilisés chez les animaux domestiques pour évaluer cette réponse. Ils sont toutefois rarement appropriés aux animaux sauvages étudiés sur le terrain, ni extrapolables à d'autres espèces. Déterminer un moyen simple et efficace d'évaluer le stress perçu par un animal sauvage lors de sa capture serait donc d'une grande utilité.

Cette étude a pour objectif de déterminer quels paramètres hématologiques et biochimiques, mesurés à l'occasion de la capture ponctuelle de chevreuils sauvages, sont susceptibles d'être utilisés pour l'évaluation de la réaction individuelle au stress. Six années ont été nécessaires pour réaliser des prélèvements sanguins sur près de 300 chevreuils sauvages (*Capreolus capreolus*) capturés par panneautage. En comparant chaque paramètre sanguin aux manifestations comportementales, à l'hyperthermie de stress et à l'utilisation éventuelle d'un tranquillisant, nous avons mis en évidence six paramètres permettant d'évaluer la réaction au stress de la capture : la concentration en globules rouges, l'hémoglobémie, l'hématocrite, la créatinémie, la fructosaminémie et la protéinémie. Les proportions de globules blancs, couramment utilisées chez d'autres espèces, ne semblent pas applicables chez le chevreuil. Par ailleurs, une certaine constance dans la réaction semble se distinguer : les individus les moins tolérants au stress aigu que constitue la capture pourraient être les plus sensibles au stress chronique reflété par les fructosamines plasmatiques. Enfin, nous avons montré grâce à ces indicateurs que des différences dans la réaction à la capture existent entre les individus sauvages et les captifs mais aussi entre des animaux captifs parqués différemment. Les individus sauvages restent généralement plus impactés que les captifs. Pour ces derniers, le contact rapproché avec l'homme dans les petits enclos constituerait une source de stress chronique et augmenterait la sensibilité aiguë des animaux.

MOTS CLÉS : STRESS, HEMATOLOGIE, BIOCHIMIE, CHEVREUIL, CAPTURE, COMPORTEMENT, PERSONNALITE, CAPTIVITE

TITLE : Use of hematology and biochemistry to asses capture stress in roe deer (*Capreolus capreolus*)

SUMMARY

In both humans and animals, responses vary between individuals in both behavioural and physiological components. Understanding this variability is essential to explain and predict population dynamics. A lot of methods can be used to assess stress reactions in domestic animals. However, they are rarely appropriate to fieldwork on wild animals and cannot be extrapolated to other species. A simple and efficient index of stress response during capture events in wild animal would be highly useful for researchers.

This study aims to determine what haematological and biochemical parameters, measured during one-time captures, could be used in individual stress reaction assessment. During six years, nearly 300 roe deer (*Capreolus capreolus*) were captured by drive-net method. By comparing each blood parameter to deer behaviour, to stress-induced hyperthermia and to possible use of tranquilizer, we highlighted six parameters usable to index capture stress reaction: red blood cell count, haemoglobin concentration, mean corpuscular volume, serum creatinine and fructosamine concentrations and total serum protein. White blood cells proportions, commonly used in other animal species, are not appropriate to index roe deer capture stress. In addition, a consistency appears in stress reaction: individuals less tolerant to capture stress seem also the most sensitive to chronic stress indexed with blood fructosamine. Finally, thanks to these indicators, we shown that stress response is different between wild and captive deer but also between captive deer housed in different conditions. Wild individuals are generally more affected than captive ones. For them, close interaction with human represent a source of chronic stress and would increase global sensitivity.

KEY WORDS : STRESS, HEMATOLOGY, BIOCHEMISTRY, ROE DEER, CAPTURE, BEHAVIOUR, PERSONNALITY, CAPTIVITY