



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 : 17874

To cite this version :

Biot, Lilian. *Synthèse des connaissances actuelles sur la cistude d'Europe (Emys orbicularis) et étude d'une pathologie de sa carapace*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2017, 187 p.

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

SYNTHESE DES CONNAISSANCES ACTUELLES SUR LA CISTUDE D'EUROPE (EMYS ORBICULARIS) ET ETUDE D'UNE PATHOLOGIE DE SA CARAPACE

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

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

par

BIOT Lilian

Né, le 16 janvier 1989 à MIGENNES (89)

Directeur de thèse : M. Philippe JACQUIET

JURY

PRESIDENT :
M. Gérard CAMPISTRON

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :
M. Philippe JACQUIET
M. Guillaume LE LOC'H

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MEMBRE INVITE :
M. Frédéric BEAU

Chargé d'Etudes de la Réserve Naturelle de Chérine

Ministère de l'Agriculture de l'Agroalimentaire et de la Forêt
ECOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE 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. MILON Alain, *Microbiologie moléculaire*
- M. PETIT Claude, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. SCHELCHER 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*
- Mme CHASTANT-MAILLARD Sylvie, *Pathologie de la Reproduction*
- M. DUCOS Alain, *Zootchnie*
- M. FOUCRAS Gilles, *Pathologie des ruminants*
- Mme GAYRARD-TROY Véronique, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
- Mme HAGEN-PICARD, Nicole, *Pathologie de la reproduction*
- M. JACQUIET Philippe, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. LEFEBVRE Hervé, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. LIGNEREUX Yves, *Anatomie*
- M. MEYER Gilles, *Pathologie des ruminants*
- M. PICALET Dominique, *Pathologie infectieuse*
- 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 BOURGES-ABELLA Nathalie, *Histologie, Anatomie pathologique*
- M. BRUGERE Hubert, *Hygiène et Industrie des aliments d'Origine animale*
- Mme CADIERGUES Marie-Christine, *Dermatologie Vétérinaire*
- M. GUERRE Philippe, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. GUERIN Jean-Luc, *Aviculture et pathologie aviaire*
- Mme LACROUX Caroline, *Anatomie Pathologique, animaux d'élevage*

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 **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
Mme **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. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des Ruminants*
M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
Mme **MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation*
Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*
M. **VERWAERDE Patrick**, *Anesthésie, Réanimation*

MAITRES DE CONFERENCES (classe normale)

M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*
Mme **BENNIS-BRET Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
Mme **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
Mme **BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
Mme **BOUHSIRA Emilie**, *Parasitologie, maladies parasitaires*
M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*
M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
M. **CUEVAS RAMOS Gabriel**, *Chirurgie Equine*
Mme **DANIELS Hélène**, *Microbiologie-Pathologie infectieuse*
Mme **DEVIERS Alexandra**, *Anatomie-Imagerie*
M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophthalmologie vétérinaire et comparée*
Mme **FERRAN Aude**, *Physiologie*
M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
Mme **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*
M. **LE LOC'H Guillaume**, *Médecine zoologique et santé de la faune sauvage*
M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie Chirurgicale*
Mme **MILA Hanna**, *Elevage des carnivores domestiques*
M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*
M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction (en disponibilité)*
Mme **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
Mme **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*
Mme **WASET-SZKUTA Agnès**, *Production et pathologie porcine*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

Mme **COSTES Laura**, *Hygiène et industrie des aliments*
Mme **LALLEMAND Elodie**, *Chirurgie des Equidés*
Mme **SABY-CHABAN Claire**, *Gestion de la santé des troupeaux bovins*

REMERCIEMENTS OFFICIELS

A Monsieur le Professeur Gérard CAMPISTRON

Professeur des Universités
Praticien Hospitalier
Physiologie et Hématologie

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse,

Hommages respectueux.

A Monsieur le Professeur Philippe JACQUIET

Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Parasitologie – Maladies parasitaires

Qui nous a aidé et dirigé dans notre travail,

Qu'il trouve ici l'expression de notre reconnaissance et de notre profond respect.

A Monsieur Guillaume LE LOC'H

Maître de Conférences de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Médecine zoologique et santé de la faune sauvage

Qui nous a fait l'honneur de participer à notre jury de thèse,

Sincères remerciements

A Monsieur Frédéric BEAU

Chargé d'Etudes de la Réserve Naturelle de Chérine

Qui a bien voulu accepter notre invitation dans notre jury de thèse,

Qu'il trouve ici l'expression de toute notre gratitude

REMERCIEMENTS AUX COLLABORATEURS

A tous ceux qui m'ont aidé dans ce travail :

- **La Fédération Francophone d'Élevage et de Protection des Tortues, l'Agence de l'Eau Loire-Bretagne** et l'association des **Amis des Tortues du Centre** pour le financement de l'étude étiologique ;
- Mesdames **Bérangère COUSIN, Christel BESIO, Muriel BIOT** et Monsieur **Dominique SOMMIER** pour la correction de ce manuscrit ;
- Mesdames **Zoey OWEN-JONES** et **Laura VAN INGEN** ; Messieurs **Frédéric BEAU, Matthieu BERRONEAU, Romain CHAZAL, Anthony OLIVIER** et **Florian VERRON** ; ainsi que les Docteurs **Jennifer LAHOREAUX** et **Pierre MOISSON** pour la transmission des données de l'étude épidémiologique ;
- Messieurs **Timothée SCHWARTZ** et **Joël TORRES** ainsi que les Docteurs **Katia ORTIZ, Virginie RODIER, Pierre MOISSON, Pierre PICQUET, Benoît QUINTARD, Lionel SCHILLIGER** et **Rudy WEDLARSKI** pour leur aimable réponse au questionnaire en ligne et leurs conseils avisés ;
- Mesdames **Fanny PERCONTE, Amandine BERNARD, Aurélie BERNA, Manon GUILAIN, Laurette HIVERT, Marie JULIEN** et **Alexia PIGEAULT** ; Messieurs **Claude NOTTEBAERT, Gabriel CHIRAC, Kévin COLIN, Jocelyn GUIHO, Guillaume LASSALLE, Fabrice LEVRESSE, Laurent BARTHE, François BRISCHOUX** et **Olivier SCHER** ainsi que les Docteurs **Barbara BLANC, David GOMIS** et **Norin CHAI** pour leurs conseils avisés ;

- Les Docteurs **Mathilde PAUL**, **Océane AMBLARD**, **Florian SALVE** et **Stéphane BERTAGNOLI** ainsi que les Professeurs **Didier CONCORDET**, **Benoît SEVERAC** et **Jean-Luc GUERIN** pour leur aide dans la mise en place et la rédaction de cette étude ainsi que dans l'analyse des données ;

- Le Laboratoire de Touraine, et son équipe : Mesdames **Martine GAUDIN**, **Florence GUY** ainsi que Messieurs **Alain FADEAU** et **José DELAVAL** ; le Docteur **Alexandra NICOLIER** du Laboratoire Vet Diagnostics de Lyon ; ainsi que Madame **Cécile CAUBET**, Monsieur **Damien DUBOIS** du CHU de Toulouse - Purpan et le Docteur **Matthias DELPONT** pour leur aide à la mise en place et l'interprétation des résultats de l'étude étiologique.

Sincères remerciements. Sans vous, ce travail n'aurait jamais vu le jour.

SOMMAIRE

Table des photographies.....	12
Table des figures	13
Table des graphiques.....	14
Table des tableaux.....	16
Introduction.....	18
Première partie : étude bibliographique	20
1. Etude bio-écologique de la cistude d'Europe.....	20
1.1. Systématique.....	20
1.2. Description physique	21
1.3. Biologie	24
1.3.1. Cycle de vie.....	24
1.3.2. Milieux de vie.....	26
1.3.3. Alimentation.....	28
1.3.4. Comportement d'insolation.....	29
1.3.5. Reproduction	30
1.3.6. Croissance et longévité.....	32
1.4. Répartition	33
1.5. Statut et mesures de protection.....	37
1.6. Menaces et risques sur l'espèce.....	39
1.6.1. Fragmentation, perte et dégradation de l'habitat.....	39
1.6.2. Prélèvements dans le milieu.....	41
1.6.3. Facteurs de mortalité	41
1.6.4. Impact de l'introduction d'espèces exotiques	43
2. La carapace des tortues dulçaquicoles	46
2.1. La carapace normale des tortues dulçaquicoles.....	46
2.1.1. Histologie	46
2.1.2. Anatomie	48
2.1.3. Physiologie.....	50

2.1.3.1.	Les différentes fonctions du tégument	50
2.1.3.2.	La mue	52
2.1.3.3.	La cicatrisation.....	52
2.1.3.4.	Croissance	54
2.2.	Les pathologies de la carapace	56
2.2.1.	Les affections traumatiques.....	56
2.2.1.1.	Fractures de la carapace	56
2.2.1.2.	Érosion du plastron	58
2.2.2.	Affections nutritionnelles	58
2.2.2.1.	Hypovitaminose A	58
2.2.2.2.	Hypervitaminose A	59
2.2.2.3.	Ostéofibrose nutritionnelle.....	60
2.2.2.4.	Ostéodystrophie hypertrophique	62
2.2.3.	Affections parasitaires.....	62
2.2.3.1.	Les plathelminthes	63
2.2.3.2.	Sangsues.....	63
2.2.3.3.	Mycoses	65
2.2.3.4.	Algues	68
2.2.3.5.	Spirorchides	70
2.2.4.	Affections bactériennes de la carapace	71
2.2.4.1.	Dermatite superficielle.....	72
2.2.4.2.	Abcès et pyogranulomes	73
2.2.4.3.	Dermatophilose	74
2.2.4.4.	La dermatite ulcéreuse	75
2.2.5.	Infections bactériennes générales affectant la carapace.....	77
2.2.5.1.	Aéromonose	78
2.2.5.2.	Pseudomonose.....	80
2.2.5.3.	Salmonellose	80
2.2.5.4.	Septicémie cutanée ulcéreuse	82
2.2.5.5.	Autres septicémies	83
2.2.5.6.	Mycobactériose	84
2.2.6.	Affections virales	86
2.2.6.1.	Fibropapillomatose	86

2.2.6.2.	Maladie des taches grises	88
2.2.6.3.	Poxvirose.....	90
2.2.7.	Tumeurs non viro-induites	90
2.2.8.	Autres affections	91
2.2.8.1.	Dyskératose cutanée.....	91
2.2.8.2.	Dermatite de contact	92
2.2.8.3.	Anomalies de l'écaillage	93
Seconde partie : étude expérimentale		96
3.	Etude épidémiologique.....	98
3.1.	Définitions et objectifs.....	98
3.2.	Matériel et méthodes	99
3.2.1.	En Aquitaine.....	105
3.2.2.	A la Tour du Valat.....	105
3.2.3.	Dans la Réserve Naturelle de Chérine.....	106
3.2.4.	Au centre d'élevage des tortues de A Cupulatta	106
3.2.5.	En région Auvergne	107
3.2.6.	Au Parc Zoologique de Sainte-Croix	107
3.2.7.	France entière	108
3.3.	Résultats.....	109
3.3.1.	Impact du lieu de capture	110
3.3.2.	Evolution temporelle du SUC	115
3.3.3.	Susceptibilité des cistudes	116
3.3.4.	Caractéristiques des lésions.....	120
3.3.5.	Impacts du SUC	125
3.4.	Discussion.....	128
3.4.1.	Matériel et méthodes	128
3.4.2.	Résultats	132
3.4.2.1.	Distribution spatiale du SUC	132
3.4.2.2.	Identification de facteurs favorisants	133
3.4.2.3.	Evolution de la pathologie : forme épidémiologique.....	134
3.4.2.4.	Susceptibilité des tortues.....	134
3.4.2.5.	Caractéristiques des lésions	135
3.4.2.6.	Impacts du SUC	136

3.4.2.7. Bilan.....	137
4. Etude étiologique.....	138
4.1. Matériel et méthodes	139
4.1.1. Individus prélevés	139
4.1.2. Protocole de prélèvement	139
4.1.3. Protocole d'analyse	140
4.1.3.1. Culture et identification primaire.....	140
4.1.3.2. Identification poussée en spectrométrie MALDI-TOF.....	142
4.1.3.3. Analyse des résultats.....	142
4.2. Résultats.....	144
4.3. Discussion.....	150
4.3.1. Matériel et méthode.....	150
4.3.1.1. Protocole	150
4.3.1.2. Biostatistiques	151
4.3.2. Résultats	151
4.3.3. Conclusion.....	153
Conclusion.....	154
Liste des sigles et abréviations utilisés.....	156
Bibliographie.....	157
Annexes.....	175
ANNEXE I : Questionnaire en ligne.....	177
ANNEXE II : Tests biostatistiques utilisés	179
ANNEXE III : Fiche action n°2 du PNA cistude d'Europe.....	186

TABLE DES PHOTOGRAPHIES

Photographie 1 : Lésion type de SUC	19
Photographie 2 : Morphologie normale d'une cistude d'Europe	22
Photographie 3 : Différentes colorations du plastron chez des cistudes d'Europe	22
Photographie 4 : Plastrons d'un juvénile, d'un mâle adulte et d'une femelle adulte	32
Photographie 5 : Panneau signalétique indiquant la présence de la cistude d'Europe sur une route de la Réserve Naturelle de Chérine	42
Photographie 6 : La tortue de Floride (<i>Trachemys scripta</i> var. <i>elegans</i>)	43
Photographie 7 : LAC de la dossière d'une cistude d'Europe.....	55
Photographie 8 : Deux types de fracture de la carapace	57
Photographie 9 : Ostéofibrose nutritionnelle chez une tortue de Floride (<i>Trachemys scripta</i> var. <i>elegans</i>)	61
Photographie 10 : Cistude parasitée par une sangsue du genre <i>Placobdella</i>	64
Photographie 11 : Dermite mycosique chez une tortue dulçaquicole	67
Photographie 12 : Algues vertes sur la dossière d'une cistude d'Europe dans la Réserve Naturelle de Chérine.....	69
Photographie 13 : <i>Dermatophilus cheloniae</i> en microscopie électronique	75
Photographie 14 : Coupe histologique d'un granulome en coloration à l'hémalin-éosine	85
Photographie 15 : Fibropapillome chez une tortue verte (<i>Chelonia mydas</i>)	87
Photographie 16 : Lésions observées par <i>Jacobson et al., 1982</i> sur une tortue de l'espèce <i>Platemys platycephala</i>	87
Photographie 17 : Noyau d'un hépatocyte contenant de nombreuses inclusions virales	89
Photographie 18 : Dyskératose chez une tortue du désert (<i>Gopherus agassizii</i>)	92
Photographie 19 : Ecailles vertébrales surnuméraires chez une cistude d'Europe	94

TABLE DES FIGURES

Figure 1 : Classification de la cistude d'Europe	20
Figure 2 : Ecailles de la carapace des cistudes d'Europe	23
Figure 3 : Cycle de vie annuel de la cistude d'Europe	24
Figure 4 : Patron d'activité estivale des cistudes aux étangs de la Serre (Rhône-Alpes).....	25
Figure 5 : Répartition de la cistude en Europe.....	34
Figure 6 : Carte de répartition de la cistude en Europe par la méthode du maillage	35
Figure 7 : Aire de répartition de la cistude d'Europe en France	36
Figure 8 : Catégories de la Liste Rouge de l'UICN.....	37
Figure 9 : Distribution de la tortue de Floride en France	44
Figure 10 : délimitations des écailles et des ostéodermes sur la dossière et le plastron chez <i>Kinixys erosa</i>	49
Figure 11 : Nomenclature des ostéodermes de la dossière et du plastron des tortues dulçaquicoles	49
Figure 12 : Squelette des chéloniens et détails du membre thoracique.....	50
Figure 13 : Centres d'ossification des ostéodermes chez les tortues juvéniles	54
Figure 14 : Exemples de schémas de marquage sur les écailles marginales des tortues dulçaquicoles	100
Figure 15 : Division de la dossière et du plastron en trois régions	101
Figure 16 : Score de sévérité illustré	102
Figure 17 : Carte chloroplèthe de la prévalence du SUC en France.	111
Figure 18 : Lieux de capture et prévalence en Aquitaine.....	113
Figure 19 : Liste des tests de la galerie API [®] CORYNE V3.0	141
Figure 20 : Liste des tests de la galerie API [®] 20 NE V7.0.....	142

TABLE DES GRAPHIQUES

Graphique 1 : Distribution des TSDS chez les cistudes de France	109
Graphique 2 : Prévalence du SUC en fonction de la provenance des tortues	110
Graphique 3 : Prévalence du SUC en fonction du lieu de prélèvement chez les cistudes capturées en Aquitaine	112
Graphique 4 : Score de gravité moyen en fonction de la provenance des cistudes touchées	114
Graphique 5 : TSDS moyen en fonction du type d'eau de l'étang de capture.....	115
Graphique 6 : Prévalence du SUC en fonction de l'année de capture en France	116
Graphique 7 : Prévalence en fonction de l'âge des cistudes en France	117
Graphique 8 : Prévalence en fonction du stade d'usure de la carapace des cistudes en France	118
Graphique 9 : Score de gravité en fonction du stade d'usure de la carapace des cistudes de France	119
Graphique 10 : Proportion de lésions uniques et multiples chez les cistudes touchées en France	120
Graphique 11 : Répartition des lésions sur le plastron et la dossière des cistudes de France	121
Graphique 12 : Distribution des lésions chez les cistudes de France en fonction des régions de la carapace décrites dans la <i>Figure 15</i>	121
Graphique 13 : Localisation des lésions sur le plastron et la dossière des cistudes du Parc Zoologique de Sainte-Croix	122
Graphique 14 : Gravité des lésions en fonction de leur emplacement sur le plastron ou la dossière des cistudes de France	123
Graphique 15 : Gravité des lésions chez les cistudes de France en fonction de leur localisation sur les régions de la carapace décrites dans la <i>Figure 15</i>	124
Graphique 16 : Gravité des lésions en fonction de leur localisation selon les régions de la carapace décrites dans la <i>Figure 15</i> chez les cistudes du Parc Zoologique de Sainte-Croix .	124
Graphique 17 : Indice biométrique en fonction du statut des cistudes de France	126

Graphique 18 : Indice biométrique en fonction du statut des cistudes adultes de France....	127
Graphique 19 : Relation entre les logarithmes du LOD et du poids	131
Graphique 20 : Pourcentages des différents pathogènes en fonction des années.....	148

TABLE DES TABLEAUX

Tableau 1 : <i>p-values</i> des différences de prévalence entre les étangs de prélèvement selon les lieux étudiés.....	111
Tableau 2 : Résultats de l'analyse au Laboratoire de Touraine.....	144
Tableau 3 : Résultats de l'analyse en spectrométrie MALDI-TOF et identification définitive	146
Tableau 4 : Pathogènes retrouvés sur les lésions prélevées	147
Tableau 5 : <i>p-values</i> des différences d'impact selon le pathogène sur les caractéristiques des lésions.....	149

INTRODUCTION

La cistude d'Europe (*Emys orbicularis*, Linnaeus 1758) est l'une des deux seules espèces de tortues dulçaquicoles indigènes de France métropolitaine, avec l'émyde lépreuse (*Mauremys leprosa*, Schweigger, 1812). Ses populations sont suivies depuis de nombreuses années dans toutes les régions de France où elles se trouvent, par différents organismes régionaux (Direction Régionale de l'Environnement, de l'Aménagement et du Logement (DREAL), Conservatoires d'Espaces Naturels (CEN), associations ...) et nationaux (Société Herpétologique Française (SHF), Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable ...). Au sein de ces organismes, les naturalistes suivent en particulier la dynamique et les caractéristiques de ses populations, ainsi que certaines maladies les affectant.

Depuis 2010, l'espèce fait l'objet de mesures de protection particulières définies par un Plan National d'Actions (PNA), qui prévoit la mise en place de dispositions dans le but de maintenir ses populations en France à court et long terme. Parmi les initiatives proposées, l'action n°2 prévoit la mise en place d'études pour caractériser les lésions de la carapace des cistudes sauvages (action désignée par la dénomination abusive « Étude des mycoses ») (Thienpont, 2011).

En effet, depuis quelques années, les naturalistes français observent de plus en plus de lésions sur les carapaces des cistudes sauvages (Barthes, 2012, *communication personnelle*). Ces lésions se présentent sous plusieurs formes : algues incrustantes (Olivier *et al.*, 2014), « tâches » blanches, décollement et/ou chutes d'écailles ...

L'une de ces lésions semble avoir une prévalence plus importante que les autres. Dans plusieurs régions de France hébergeant la cistude d'Europe, les naturalistes notent des pertes de substance au niveau de la carapace des tortues, de sévérité et d'extension variables (*cf. Photographie 1*). Les herpétologistes du monde entier observent régulièrement ce type de lésion sur la carapace des tortues d'eau captives. Néanmoins, peu de publications existent sur ce phénomène, encore moins lorsqu'il s'agit d'individus sauvages. Les spécialistes regroupent ces observations sous le terme abusif de « maladie ulcérate de la carapace » (Picquet, 2016, *communication personnelle*). Cependant, plus qu'une maladie à proprement parler, cette entité pathologique est connue pour regrouper plusieurs maladies d'étiologies distinctes. Nous préférons donc ici parler de « Syndrome Ulcérate de la Carapace (SUC) » pour désigner l'ensemble pathologique des lésions de perte de substance de la carapace. Ces lésions peuvent aller du simple « trou » à une carapace mitée, entièrement rongée.

Afin de mettre en évidence les facteurs prédisposant, les facteurs déclenchant ainsi que l'impact de cette pathologie sur les populations de cistudes, il était nécessaire de mettre en place une étude épidémiologique ainsi que des analyses bactériologiques et mycologiques sur les lésions de tortues touchées. Nous présenterons ces deux études après avoir détaillé les données bibliographiques actuelles concernant la cistude d'Europe dans un premier temps et les pathologies de la carapace des tortues d'eau dans un second temps.



Photographie 1 : Lésion type de SUC (crédit : Z. Owen-Jones)

PREMIERE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

La mise en place d'une étude expérimentale nécessite en amont une approche bibliographique du sujet. Ainsi, lorsque l'association Nature Midi-Pyrénées (NMP) nous a contacté au sujet du SUC en 2012, notre première démarche fut d'entreprendre une recherche documentaire sur la cistude d'Europe, puis sur les pathologies de la carapace des tortues d'eau.

1. Etude bio-écologique de la cistude d'Europe

(Priol, 2009 ; Véron et Marandon, 2011 ; Thienpont, 2011 ; Owen-Jones, 2011 ; Barthe 2012)

L'essentiel des données bibliographiques sur la cistude d'Europe concerne en général l'écologie et les suivis de populations, mais il en existe peu dans le domaine vétérinaire. Le Plan National d'Action (PNA) (Thienpont, 2011), rédigé en 2010 pour une durée de cinq ans, et revu en 2011, centralise une grande partie des connaissances actuelles sur la cistude, notamment concernant la description de l'espèce et les suivis de populations.

1.1. Systématique

Classification	
Règne	Animal
Embranchement	Vertébrés
Classe	Reptiles
Ordre	Chelonia
Sous-ordre	Cryptodira
Famille	Emydidae
Genre	<i>Emys</i>
Espèce	<i>orbicularis</i>
Nom scientifique	<i>Emys orbicularis</i>
Nom vernaculaire	Cistude d'Europe

La cistude d'Europe (*Emys orbicularis*) est un reptile de l'ordre des chéloniens et du sous-ordre des cryptodires, tortues caractérisées par la faculté de rentrer leur tête dans leur carapace par un mouvement vertical. Le terme « *orbicularis* » désigne les petits cercles jaunes qui ponctuent la peau et la carapace chez cette espèce.

Il existe treize sous-espèces d'*Emys orbicularis* en Europe, regroupées en huit lignées évolutives, une neuvième lignée correspondant à *Emys trinacris*,

Figure 1 : Classification de la cistude d'Europe
(source : Priol, 2009)

une « variante de l'espèce » aussi appelée cistude de Sicile, vivant uniquement dans l'île du sud de l'Italie (Lenk et al., 1999 ; Fritz et al., 2007). En France, trois sous-espèces issues de deux lignées évolutives ont été mises en évidence : la lignée *galloitalica* originaire d'Italie, représentée par les sous-espèces *Emys orbicularis (galloitalica) galloitalica* dans le Var et *Emys orbicularis (galloitalica) lanzai* en Corse ; ainsi que la lignée *orbicularis* (sous-espèce *Emys orbicularis orbicularis*) originaire de la Plaine du Danube dans le reste de la France (Fritz et al., 2005). L'existence de différentes lignées est expliquée par la fragmentation de la population de cistudes d'Europe lors de la dernière grande glaciation du pré-quaternaire (fin du Pliocène, environ 3 millions d'années). Des mélanges génétiques entre sous-espèces sont observés aujourd'hui, suite à de nombreux facteurs anthropologiques comme l'introduction de sous-espèces exogènes ou l'apparition de nouveaux corridors amenant deux sous-espèces autrefois lointaines à se rencontrer (Raemy et al., 2016).

1.2. Description physique

La cistude d'Europe est une petite tortue dulçaquicole d'une vingtaine de centimètres au plus, avec un poids inférieur à un kilogramme (en moyenne entre 400 et 500 grammes), vivant principalement dans certains cours d'eau et étangs de France métropolitaine. La carapace est lisse et légèrement aplatie. Tout son corps est sombre et parsemé de points ou de lignes jaunes (cf. Photographie 2). Seule la coloration du plastron varie d'un individu à l'autre, allant du jaune au noir en passant par la couleur orange (cf. Photographie 3). Ses pattes palmées, lui permettant une nage rapide et efficace, sont pourvues de puissantes griffes.

La carapace (cf. Figure 2) est constituée d'une dossière comptant trente-huit écailles (vingt-quatre marginales, une nucale, huit pleurales et cinq vertébrales) et d'un plastron constitué de douze écailles (deux gulaire, deux humérales, deux pectorales, deux abdominales, deux fémorales et deux anales) (cf. « 2.1 : La carapace normale des tortues dulçaquicoles »).



Photographie 2 : Morphologie normale d'une cistude d'Europe (source : Thienpont, 2011)



Photographie 3 : Différentes colorations du plastron chez des cistudes d'Europe (source : Thienpont, 2011)

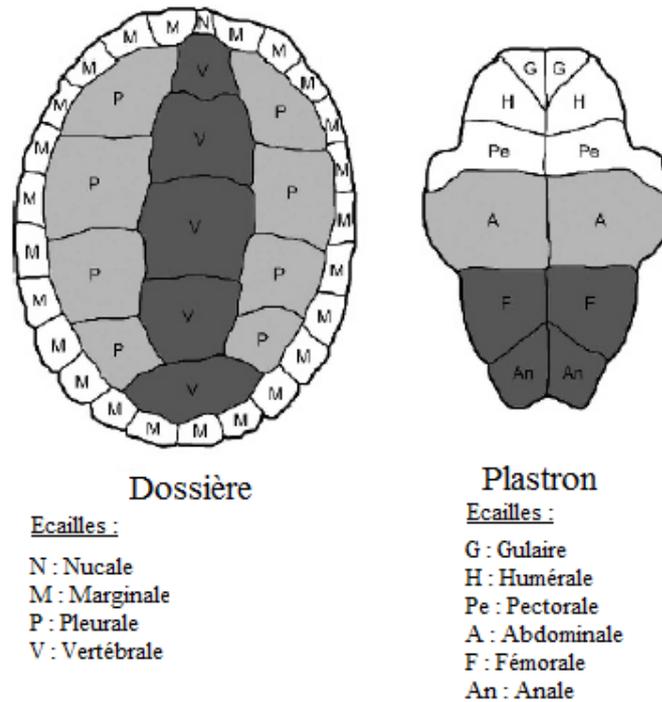


Figure 2 : Ecaïlles de la carapace des cistudes d'Europe (source : Hernandez-Divers et al., 2009)

Le dimorphisme sexuel est assez marqué chez la cistude d'Europe, bien que variable selon les régions. Les femelles à maturité sont en général plus grosses que les mâles et leurs yeux sont en principe plus clairs (jaunes chez les femelles, orangés chez les mâles). Le plastron des femelles est plutôt plat à légèrement convexe, alors qu'il est concave chez les mâles. Ces derniers sont en général dotés d'une queue plus large, avec un cloaque plus éloigné de la carapace.

Il existe des dimorphismes assez discrets selon les régions, divisant la cistude en plusieurs sous-espèces (cf. « 1.1 : Systématique »). Les spécimens de Corse présentent par exemple une coloration noire unie sur le dessus, l'avant et les côtés de la tête, ainsi qu'une seule bande jaune sur les avant-bras. Des différences morphologiques ont même été remarquées entre les populations de régions géographiquement proches. Ainsi, dans le département du Gers en France, des différences significatives de tailles ont été observées entre les femelles de deux populations vivant respectivement dans un réseau de petites mares et dans les milieux annexes au fleuve Adour (Barthe, 2012). De même, des différences significatives de taille des individus et de leurs nichées ont été mises en évidence dans le centre de l'Italie (Zuffi et al., 1999). Enfin, des anomalies de la carapace, notamment la présence d'écaïlles surnuméraires, ont été remarquées en Pologne (Kosik et al., 2013) et en Espagne (Fernández et Rivera, 2004). Trois hypothèses sont avancées pour expliquer cette différence de morphologie : un effet négatif dû à la pollution industrielle de leur milieu de vie, une anomalie génétique à l'origine d'une nouvelle sous-espèce ou encore une anomalie due à une hygrométrie ou une température d'incubation des œufs suboptimale.

1.3. Biologie

(Mignet, 2010)

1.3.1. Cycle de vie

La cistude d'Europe, comme tous les reptiles, est un animal ectotherme qui utilise le soleil comme source de chaleur corporelle et donc régule son métabolisme en fonction de son insolation. Ses activités et son comportement sont ainsi directement conditionnés par son environnement (ensoleillement, température ...). Son cycle de vie est donc constitué d'une alternance de périodes d'activités au printemps / été, et de périodes de ralentissement et d'hivernation durant la saison froide (automne / hiver).

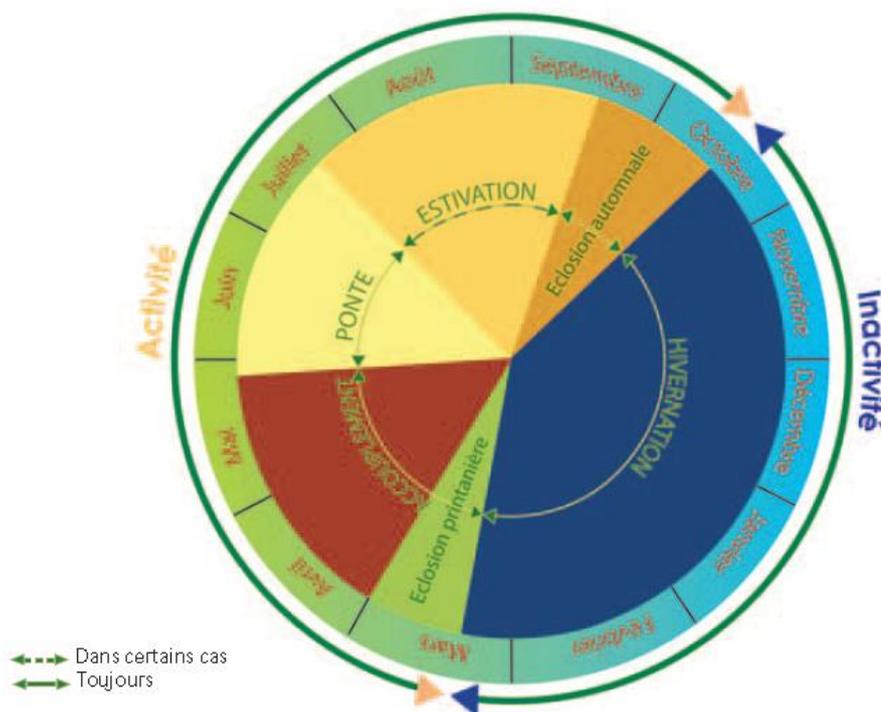


Figure 3 : Cycle de vie annuel de la cistude d'Europe (Source : Priol, 2009)

La reprise d'activité a lieu progressivement dès les premiers jours ensoleillés, vers fin février / début mars selon le climat, par des petits déplacements au sein de l'aire d'hivernation. Puis, on note une dispersion rapide des tortues avec des déplacements plus longs lors de la période d'accouplement (entre début mars et fin mai), en particulier chez les mâles. Cette période

marque ainsi un pic d'activité chez ces derniers. Les femelles, quant à elles, sont plus actives durant la période de ponte (de fin mai à juillet), avec un pic d'activité en juin caractérisé par de nombreux déplacements de faible amplitude (Schneeweiss, Andreas, et Jendretzke, 1998).

Le début de la période estivale est caractérisé par un découplage bimodale de l'activité journalière, avec un pic dans la matinée et un autre en soirée, aux heures les plus fraîches de la journée. Pendant ces deux pics d'activité, les tortues se nourrissent puis cherchent des lieux pour l'insolation. Elles se regroupent alors dans les milieux les plus favorables : pour les tortues vivant en bord de mer par exemple, la salinité serait le critère principal selon Priol, 2009. En cas d'assèchement complet du milieu de vie, les cistudes vont engager des déplacements relativement longs (au maximum un kilomètre) pour rejoindre un milieu aquatique. Cependant, si aucun plan d'eau permanent n'existe dans ce rayon, elles peuvent s'enfouir dans la vase ou se mettre "au frais" dans la végétation environnante ou encore dans un terrier de ragondin (*Myocastor coypus*) et tomber dans un état léthargique. On appelle ce phénomène « estivation ». Ce mécanisme évite à cet animal poïkilotherme de dépasser la température maximale critique, au-delà de laquelle il risque une hyperthermie létale.

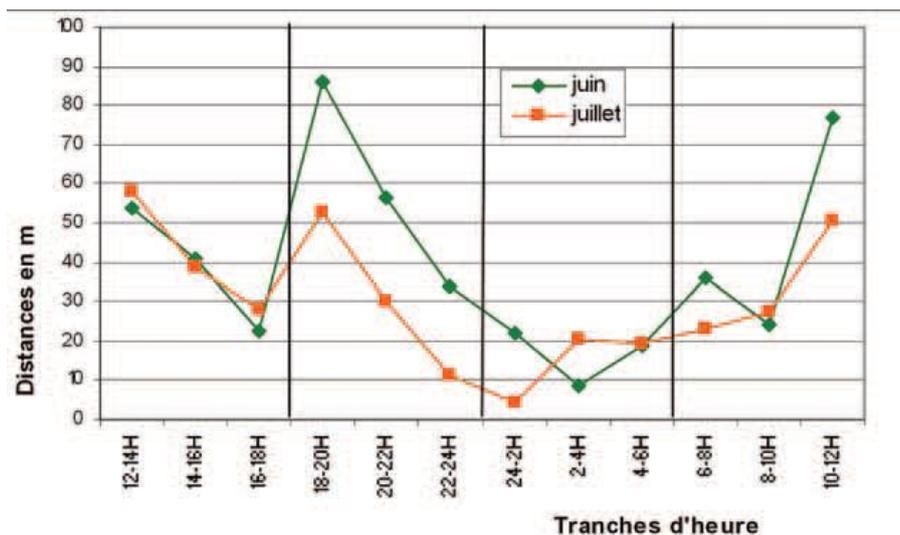


Figure 4 : Patron d'activité estivale des cistudes aux étangs de la Serre (Rhône-Alpes)
(Source : Priol, 2002)

L'activité reprend avec le début de la baisse des températures à l'automne. Les tortues entament alors leurs déplacements vers les sites d'hivernage. Cette période d'activité réduite débute selon les saisons et les lieux entre fin septembre et début décembre.

Chez la cistude d'Europe comme chez tous les reptiles, on parle d'hivernage (et non d'hibernation) car la phase de repos ressemble plutôt à une somnolence entrecoupée de réveils selon la température du milieu, plutôt qu'à une véritable léthargie. Elle est caractérisée par une diminution de la température corporelle, du rythme respiratoire et du rythme cardiaque, un arrêt de l'alimentation et des déplacements minimes : moins de trente mètres durant tout la

durée de l'hivernage en moyenne (*Mignet, 2010*). C'est un phénomène complexe qui, suite aux stimuli extérieurs (baisse de température du milieu, modification du cycle nyctéméral ...), fait intervenir de nombreux paramètres endogènes. On note alors une dépense énergétique minimale, contrairement au phénomène d'hibernation des mammifères qui engage une importante dépense énergétique due au maintien d'une température corporelle relativement élevée. L'hivernage de la cistude a généralement lieu sous quelques dizaines de centimètres d'eau, dans la vase, et sous un couvert végétal ou des débris ligneux, milieu offrant des conditions thermiques stables ainsi qu'une relative protection vis-à-vis des prédateurs.

Durant cette immersion dans l'eau, le besoin des tortues en dioxygène persiste bien que considérablement réduit. La respiration cutanée semble jouer un rôle important pour l'oxygénation lors d'un hivernage immergé. Grâce à des mouvements de bouche, la cistude crée un flux d'eau autour de villosités richement vascularisées situées sur sa muqueuse pharyngienne, créant ainsi un échange de dioxygène suffisant pour lui permettre de survivre (*Grassé et Tétry, 1974*).

1.3.2. Milieux de vie

Le cycle de vie de la cistude nécessite de nombreux déplacements terrestres, parfois longs (*cf. « 1.3.1 : Cycle de vie »*). Toutefois, elle reste très inféodée au milieu aquatique, fréquentant de nombreux types de biotopes humides de plaine : étangs, mares permanentes ou temporaires, marais d'eau douce voire même légèrement saumâtre, rivières à faible débit ou même torrents à eaux vives.

Malgré leur grande diversité, les milieux aquatiques qui accueillent les cistudes présentent une caractéristique constante : des lieux émergés au soleil. En effet, la cistude accorde beaucoup de temps au comportement d'insolation ("basking" en anglais, *cf. « 1.3.4 : Comportement d'insolation »*) qui lui permet de gérer sa thermorégulation. La présence de supports émergés (rochers, souches, arbres morts et autres surfaces) influence la répartition des cistudes au sein d'une zone humide.

Lors de l'hivernage, les individus se regroupent dans les zones leur offrant les meilleures conditions pour se mettre en sommeil. Ces zones sont caractérisées par une profondeur d'eau de quelques dizaines de centimètres, avec une couche vaseuse importante et un couvert végétal plutôt dense (saulaie, cariçaie, roselière ...), définissant ainsi un milieu très fermé. Cet environnement garantit aux tortues une relative stabilité thermique ainsi qu'une protection contre les prédateurs. Ces sites sont généralement localisés en queue d'étangs, dans des mares forestières, ou encore sur les rives dans des formations végétales denses. Notons que chez la cistude d'Europe, il existe une fidélité importante au site d'hivernage : au cours de sa vie, cette tortue rejoindra les mêmes sites tous les ans. Cet attachement est plus marqué dans les

étangs, où l'environnement est stable, que dans les marais et rivières soumis à une plus forte variation du niveau d'eau.

L'estivation, lorsqu'elle a lieu, s'opère dans le même type de milieu fermé (importante épaisseur de vase, couvert végétal très dense, ou terrier de mammifère), mais situé dans une zone à sec.

Lors de la période de ponte, la femelle recherche un milieu ouvert¹ non inondable, dont la nature du sol sera meuble, à faible granulométrie (sable, limon, terre ...) et éloigné en moyenne de moins de 150 mètres d'un milieu aquatique (*Mitrus, 2006*). La plupart du temps, les lieux de ponte sont des pelouses sèches ou des prairies à strate herbacée rase (moins de six centimètres selon *Thienpont, 2005*). Il arrive cependant que les tortues choisissent de pondre sur des digues d'étangs, en bordure de route, sur des terrains urbanisés ou cultivés lorsqu'elles ne trouvent pas un endroit plus approprié. En principe, les femelles optent pour un lieu de ponte ensoleillé, plutôt orienté au sud et à l'ouest (*Thienpont, 2005*). Ce lieu doit se trouver à proximité de milieux aquatiques secondaires permettant aux femelles de prélever l'eau pour attendrir le sol avant de creuser leur nid (*Zuffi, 2000*). Certains auteurs notent une fidélité des femelles au site de ponte ; cependant, cet attachement est moins marqué que pour le site d'hivernage. En effet, la plupart des femelles optent pour le même site de ponte pendant quelques années, puis en changent. Ce changement intervient souvent suite à une modification de ce lieu ne permettant plus une incubation correcte des œufs (*Mitrus, 2006 ; Priol, 2009*).

La distance entre ces différents lieux nécessite des déplacements parfois importants. Les cistudes utilisent alors des corridors aquatiques avec peu de couvert végétal, comme les rivières, fossés en eau, canaux d'irrigation et petits ruisseaux (*Mitrus et Zemanek, 2000*). Elles peuvent aussi effectuer de longs périple en dehors de l'eau, mais utilisent dans ce cas des sites aquatiques « relais ». Ces déplacements en milieux secs sont plus lents et plus risqués pour les cistudes, qui sont alors exposées à différents dangers comme les véhicules, les prédateurs, les engins agricoles ... Généralement, les cistudes effectuent des déplacements relativement brefs, cependant, certaines cessions de Capture – Marquage – Relâcher (CMR) ont permis de mettre en évidence des migrations plus importantes chez certains mâles adultes (*Duguy et Baron, 1998*).

Dans tous les cas, on remarque que la cistude a besoin d'un habitat diversifié. On y retrouve :

- un site aquatique principal avec supports d'insolation ;
- un milieu ouvert non inondable pour la ponte ;
- un lieu aux conditions stables et suffisamment fermé pour permettre l'hivernage et/ou l'estivation ;
- d'autres milieux similaires proches, permettant le déplacement en cas de perturbation du milieu principal.

¹ Milieu ouvert : milieu à dominante herbacée défini par un taux de recouvrement au sol de la végétation ligneuse inférieur à 25% (*Source : www.conservation-nature.fr*).

1.3.3. Alimentation

(*Ottonello, Rosecchi, et Salvidio, 2005*)

Le régime alimentaire de la cistude d'Europe est varié. C'est une espèce opportuniste principalement carnivore se nourrissant notamment d'invertébrés aquatiques : coléoptères aquatiques, décapodes (dont l'écrevisse de Louisiane, espèce invasive récemment introduite en France et proie préférée des cistudes adultes), odonates (libellules et demoiselles), gastéropodes et hétéropodes. Elle consomme entre autres des gammarus (*Lindeman, 1996*), dont *Gammarus pulex*, une crevette considérée comme espèce invasive (*Cezilly, Gregoire, et Bertin, 2000 ; Dunn, 1995 ; Janssen et al., 1979*) et porteuse de germes potentiellement pathogènes pour les tortues aquatiques (cf. « 2.2.4.4 : »). Outre les insectes aquatiques, la cistude se nourrit aussi d'insectes terrestres tombés dans l'eau et de petits poissons généralement morts ou blessés (notamment des brochets immatures selon *Lebboroni et Chelazzi, 1991*). Elle chasse à l'affût, le plus souvent dans l'eau mais parfois aussi sur la terre ferme (*Çiçek et Ayaz, 2011*), au niveau de zones à fort couvert végétal.

Cependant, même si elle a longtemps été considérée comme strictement carnivore (*Bannikov, 1951 ; Ernst et Barbour, 1989*), des études récentes menées sur des fèces de cistudes ont mis en évidence l'importance de l'alimentation végétale chez les adultes (*Ficetola et De Bernardi, 2006*). En effet, en vieillissant, les cistudes ingèrent de plus en plus d'éléments végétaux, en particulier du *Myriophyllum aquaticum* (*Lebboroni et Chelazzi, 1991*). La présence de ces débris végétaux en quantité importante dans les fèces des cistudes adultes écarte l'hypothèse d'une ingestion accidentelle formulée par certains auteurs (*Lindeman, 1996*).

La fin de la saison d'accouplement marque une augmentation de la prédation, qui peut s'expliquer par deux facteurs : une abondance des proies à cette saison (les jeunes poissons fraîchement éclos représentent des proies faciles) ainsi qu'une augmentation des besoins énergétiques qu'une alimentation à base de plantes ne suffirait à couvrir (*Ottonello, Rosecchi, et Salvidio, 2005 ; Çiçek et Ayaz, 2011*).

Les aliments sont ingérés entiers ou découpés à l'aide du bec tranchant. Chez cette espèce, l'estomac ne joue qu'un rôle de stockage (*Arvy et Fertard, 2002*). La digestion est lente, et peut durer de quelques heures à plusieurs semaines en fonction de l'aliment et de la température.

1.3.4. Comportement d'insolation

Animaux poïkilothermes, les tortues passent plusieurs heures par jour exposées au soleil afin de réguler leur température interne. Cette activité est appelée « insolation » ou « basking ».

L'insolation a lieu généralement pendant la période d'activité (en fin de matinée et en début de soirée), quand la température extérieure est optimale. En effet, une exposition aux heures les plus chaudes de la journée engendrerait une montée de la température interne au-dessus de 35°C, température maximale critique selon *Duguy et Baron, 1998*. Les tortues s'exposent jusqu'à obtenir une température optimale en fonction de leurs besoins (en moyenne 26°C). Par exemple, la température optimale pour l'alimentation est moins élevée que celle pour la digestion ou pour la ponte. Cette température optimale est obtenue par sélection des sites d'insolation, par orientation par rapport au soleil et par le temps passé immobile sur le site. *Lebboroni et Chelazzi (1991)* rapportent un comportement alternatif régulièrement observé en été : la tortue flotte dans l'eau, avec seulement une partie de la carapace émergée, la tête ainsi que les pattes étendues. Les auteurs attribuent un rôle de thermorégulation à ce comportement.

Les sites d'insolation préférentiels se trouvent au bord de l'eau, ce qui permet aux tortues de plonger rapidement en cas de danger. Les supports les plus communs sont des débris végétaux (souches et troncs d'arbres) et des touradons¹ de végétation rivulaire, comme *Carex paniculata*. La présence de ces sites d'insolation semble être le facteur majeur affectant la répartition des cistudes dans leur environnement (*Lebboroni et Chelazzi, 1991*). On note ici aussi une très grande fidélité des cistudes à un ou quelques sites d'insolation, où elles reviendront toute leur vie.

En plus de sa fonction de thermorégulation, le comportement d'insolation jouerait aussi un rôle social : on remarque la plupart du temps la présence sur le site d'insolation d'un seul mâle entouré de plusieurs femelles. Il est d'ailleurs fréquent d'observer des bagarres entre mâles pour l'accès à un site d'insolation, et par conséquent aux femelles qui s'y trouvent (*Lebboroni et Chelazzi, 1991*).

¹ Formations végétales composées de plantes annuelles qui repoussent sur leurs anciennes racines et feuilles mortes en décomposition (*source : www.actu-environnement.fr*).

1.3.5. Reproduction

La saison de reproduction commence par des accouplements dès la fin de l'hivernation, généralement début mars, avec un pic en avril-mai (*Duguy et Baron, 1998*). Ces accouplements ont lieu dans l'eau. Le mâle commence par chevaucher la femelle en lui mordant la tête et le cou. Après l'avoir immobilisée, il se redresse en glissant vers l'arrière et étend sa queue pour que la copulation à proprement parler débute. Le mâle, agrippé par les membres postérieurs à la carapace de la femelle, peut rester ainsi jusqu'à plusieurs jours (*Collet, 2003*).

La ponte se déroule à terre, généralement de fin mai à mi-juillet, avec un pic en juin, soit en général trois à quatre semaines après l'accouplement. La femelle va parcourir une grande distance pour trouver le site de ponte idéal (*cf. 1.3.2 : « Milieux de vie »*). Ce déplacement peut durer plusieurs heures et s'effectue généralement en fin de journée. Après avoir prélevé de l'eau d'un étang secondaire qu'elle stocke dans sa vessie accessoire, elle la relâche par son cloaque sur le sol pour l'attendrir et creuse une cavité d'une dizaine de centimètres de profondeur, avec une entrée d'environ cinq centimètres (*Collet, 2003*). Elle y dépose alors ses œufs qu'elle place délicatement avec ses membres postérieurs, les recouvre, nivelle le terrain à l'aide de son plastron et retourne ensuite à son milieu de vie aquatique. La durée de la ponte en elle-même (creusement et dépôt des œufs) est comprise entre une et trois heures, en fonction de la dureté du sol, de sa granulométrie et de l'état de fatigue de la femelle après son voyage.

Les femelles effectuent généralement une ponte par an, bien que des pontes multiples (jusqu'à trois par an) aient été observées. Ces pontes multiples, séparées en moyenne par vingt à trente jours, semblent liées à des conditions climatiques favorables, avec un assèchement tardif des plans d'eau temporaires (*Priol, 2009*). A l'inverse, certaines femelles ne pondent pas une année donnée. Le nombre d'œufs par ponte varie, selon les populations, de trois à vingt-et-un. Ce nombre semble corrélé à la taille de la cavité abdominale et à la morphologie des femelles (*Olivier, 2002 ; Thienpont, 2005*). Les œufs sont ovales, blancs et mats, et mesurent en moyenne entre vingt et trente-cinq millimètres de diamètre pour un poids compris entre six et huit grammes (*Collet, 2003*).

L'incubation des œufs dure en moyenne entre 80 et 90 jours (*Rovero et Chelazzi, 1996*). La température d'incubation va déterminer le sexe du nouveau-né. En effet, la différenciation des gonades en testicules ou en ovaires va dépendre de la température d'incubation des œufs à une période déterminée du développement embryonnaire, appelée « période thermosensible » (entre le trentième et le quarantième jour d'incubation chez les cistudes selon *Cadi et Faverot, 2004*). Cette différence de température va conduire au relargage plus ou moins important d'œstrogènes au sein même des gonades, par production directe ainsi que par activation d'une enzyme appelée aromatasase. Chez la cistude d'Europe, la température critique (aussi appelée « température pivot ») est de 28,5°C : en dessous de cette température d'incubation, les œufs vont donner des mâles ; au-delà, on assiste à la naissance de femelles. Il est intéressant de noter qu'autour de cette température, les œufs peuvent donner soit des mâles, soit des

femelles, soit des individus hermaphrodites : mâles avec des restes de tissus ovariens ou inversement, femelles avec des ébauches de testicules (*Pieau et Dorizzi, 2004*).

Cependant, le déterminisme du sexe uniquement par la température montre des incohérences. Par exemple, *Servan, 1988* a observé que le sex-ratio des cistudes en Brenne (Indre, France) était dévié en faveur des femelles. Or, la Brenne est la région la plus septentrionale de France où la cistude est présente, et donc la plus froide. Il serait donc logique que le sex-ratio soit dévié en faveur des mâles.

Cette « incohérence » est expliquée par le double déterminisme sexuel chez la cistude, qui est aussi guidé par des facteurs génétiques. Comme la plupart des tortues, la cistude possède un système ZZ/ZW de détermination du sexe génotypique : les femelles sont hétérogamétiques¹ (ZW) et les mâles homogamétiques (ZZ). Les embryons possèdent donc un sexe génétique, mais les gènes de leurs gonades sont susceptibles de changer en fonction de la température d'incubation des œufs, donnant des individus de sexe différent de celui déterminé par leur génotype (*Zaborski, Dorizzi, et Pieau, 1982*). On appelle ce phénomène une « inversion ».

La température en Brenne favorisant l'inversion de femelles en mâles, il est assez courant de retrouver des mâles ZW qui donneront statistiquement plus de femelles à la génération suivante.

Le sexe génétique peut ainsi influencer le sex-ratio d'une population, notamment si les températures d'incubation sont proches de la température pivot tout en lui restant inférieures (*Servan et al., 1989*).

L'embryon va se développer dans son œuf et sortir, à terme, en cassant la coquille grâce au diamant, une écaille dure située sur le bec (qu'il va perdre ensuite) ; puis il va quitter nid en dégageant la terre le recouvrant. En France, deux périodes d'émergence sont observées : l'une automnale en septembre – octobre, l'autre printanière en mars – avril de l'année suivante en cas de ponte tardive ou de mauvaises conditions estivales d'ensoleillement. Dans ce dernier cas, les nouveau-nés éclosent en automne, généralement suite à de fortes pluies (*Collet, 2003*), mais passent l'hiver dans le nid ou en s'enfonçant plus profondément dans le sol (*Mitrus et Zemanek, 2003*).

Après leur sortie du nid, les immatures se dirigent vers le milieu aquatique le plus proche. Ils ne mesurent que deux à trois centimètres pour un poids de quelques grammes, et présentent une carapace molle qui ne durcira qu'après un ou deux ans. Cette caractéristique morphologique expose les jeunes cistudes à un risque élevé de prédation, notamment de la part d'oiseaux comme le héron cendré (*Ardea cinerea*) ou le corbeau freux (*Corvus frugilegus*). Si peu d'études existent sur le taux de prédation des juvéniles, en revanche, la prédation des nids est très étudiée et documentée. Elle peut être extrêmement importante : le taux de prédation se situe en moyenne entre 50 et 80 % selon les publications (*Rosslar, 2000* ;

¹ Se dit du sexe qui produit deux types de gamètes, au contraire du sexe homogamétique, ne produisant qu'un seul type de gamète.

Zuffi, Odetti, et Meozzi, 1999 ; Jablonski et Jablonska, 1998). Ce taux de prédation est fortement lié à la conformation du site, et augmente notamment avec la densité des nids sur un site donné. Par exemple, en Camargue, le taux de prédation est significativement plus important dans le marais du Vigueirat qu'à la Tour du Valat (Olivier, 2002) où les sites de pontes sont beaucoup plus étendus, marquant une densité de nids nettement moins importante. Le taux de prédation dépend aussi des prédateurs présents sur le site : renard roux (*Vulpus vulpus*), blaireau d'Europe (*Meles meles*), fouine (*Martes fouina*), putois d'Europe (*Mustella putorius*) ... En Corse par exemple, le taux de prédation a été évalué à moins de 10% (Lombardini et Cheylan, 2003). Cette valeur relativement faible est en partie expliquée par l'absence de blaireau, de fouine et de putois sur l'île.

1.3.6. Croissance et longévité

L'estimation de l'âge chez la cistude d'Europe est assez aisée en début de vie. On distingue les individus juvéniles (ou « immatures »), qui n'ont pas fini leur croissance, des adultes grâce à la ligne médiane du plastron. Cette ligne est claire, épaisse et légèrement renflée chez les juvéniles, alors qu'elle est fine et sombre chez les adultes.



Photographie 4 : Plastrons d'un juvénile, d'un mâle adulte et d'une femelle adulte (de gauche à droite). On remarque la ligne médiane épaissie et claire chez le juvénile. (Source : Priol, 2009)

Au-delà de la distinction juvénile / adulte, il est possible d'estimer l'âge d'un jeune individu grâce aux lignes d'arrêt de croissance (LAC) de ses écailles. En effet, chez la cistude, la

croissance est cyclique, avec un arrêt de croissance hivernal, représenté par un sillon sur les écailles. L'âge peut ainsi être estimé par le nombre de sillons d'arrêt de croissance sur les écailles (Servan, 1988). Par convention, cette lecture de l'âge est effectuée sur l'une des deux écailles abdominales (cf. 1.2 : « Description physique »). Cependant, comme chez de nombreux reptiles, on observe un ralentissement important de la croissance peu avant la maturité sexuelle (Castanet, 1988). Ce ralentissement se traduit par un resserrement des lignes de croissance qui complique fortement la lecture de l'âge d'un individu adulte. La maturité sexuelle est atteinte chez les cistudes entre cinq et treize ans chez le mâle et entre six et quinze ans chez la femelle (Duguay et Baron, 1998 ; Olivier, 2002 ; Priol, 2009). Comme la plupart des tortues, la cistude est une espèce longévive : sa longévité est estimée entre quarante et cinquante ans, certains individus pouvant atteindre l'âge de soixante-dix ans dans la nature et plus d'un siècle en captivité (Servan, 1988).

1.4. Répartition

Les données archéozoologiques témoignent de la présence de la cistude en Europe depuis l'ère préhistorique.

Lors de la dernière glaciation, située à la fin du Pliocène, il y a environ trois millions d'années (époque pré-quadernaire), l'aire de répartition de la cistude s'est largement rétractée et de nombreuses populations se sont retrouvées isolées les unes des autres. Cet isolement des populations est à l'origine des sous-espèces rencontrées aujourd'hui (cf. « 1.1 : Systématique »). La plupart des cistudes, auparavant présentes dans toute l'Europe, se regroupèrent sur la côte nord de la mer Méditerranée. Le réchauffement climatique connu à l'Holocène (depuis 10 000 ans) a permis l'extension de l'aire de répartition de la cistude en Europe. Cette extension s'est effectuée de manière modérée à cause des barrières naturelles présentes (chaînes de montagnes). Cette alternance régression / extension de l'aire de répartition explique le fait que la plupart des cistudes de la sous-espèce *Emys orbicularis orbicularis*, représentant la majeure partie des cistudes de France, descendent d'ancêtres provenant du delta du Danube (Fritz et al., 2005).

En France, de nombreux écrits attestent de la présence de la cistude d'Europe dans une large partie du territoire jusqu'au XIXe siècle. L'espèce fut même abondante au Mésolithique et au Néolithique, mais les prélèvements d'individus pour la consommation humaine semblent avoir été un facteur important de raréfaction, allant même jusqu'à la disparition locale dans certains endroits de France. Bien que plus rares, les cistudes restent néanmoins bien présentes en France à l'Antiquité et au Moyen-Age. Des écrits datant du XIXe siècle attestent de sa consommation courante jusque dans les années 1850. Puis, la fin du XIXe et le début du XXe siècle marquent une nouvelle phase de régression de la cistude en France, notamment à cause

de la fragmentation et de la destruction de son habitat par les activités humaines (*Cheyland, 1998*). Ce déclin est observé partout en Europe, comme pour une grande partie des autres espèces de reptiles (*Gasc et al., 1997*).

Aujourd'hui, la cistude est présente sous forme de petites populations en Europe de l'Ouest, alors qu'elle forme des populations plus étendues à l'Est. On la retrouve de la Pologne au nord de l'Afrique (deux populations en Tunisie et en Algérie), et du Portugal jusqu'à la mer d'Aral en Asie. Elle vit en plaine, uniquement dans les lieux ne dépassant pas 600 mètres d'altitude (*Priol, 2009*).



Figure 5 : Répartition de la cistude en Europe (source : *Thienpont, 2011*)

Cette carte a été actualisée par *Sillero et al., 2014*, qui ont augmenté sa précision grâce à la méthode du maillage : lorsqu'une cistude se trouve dans une maille, celle-ci est colorée. Plus les mailles sont fines, plus la précision est importante (*cf. Figure 6*).

Emys orbicularis

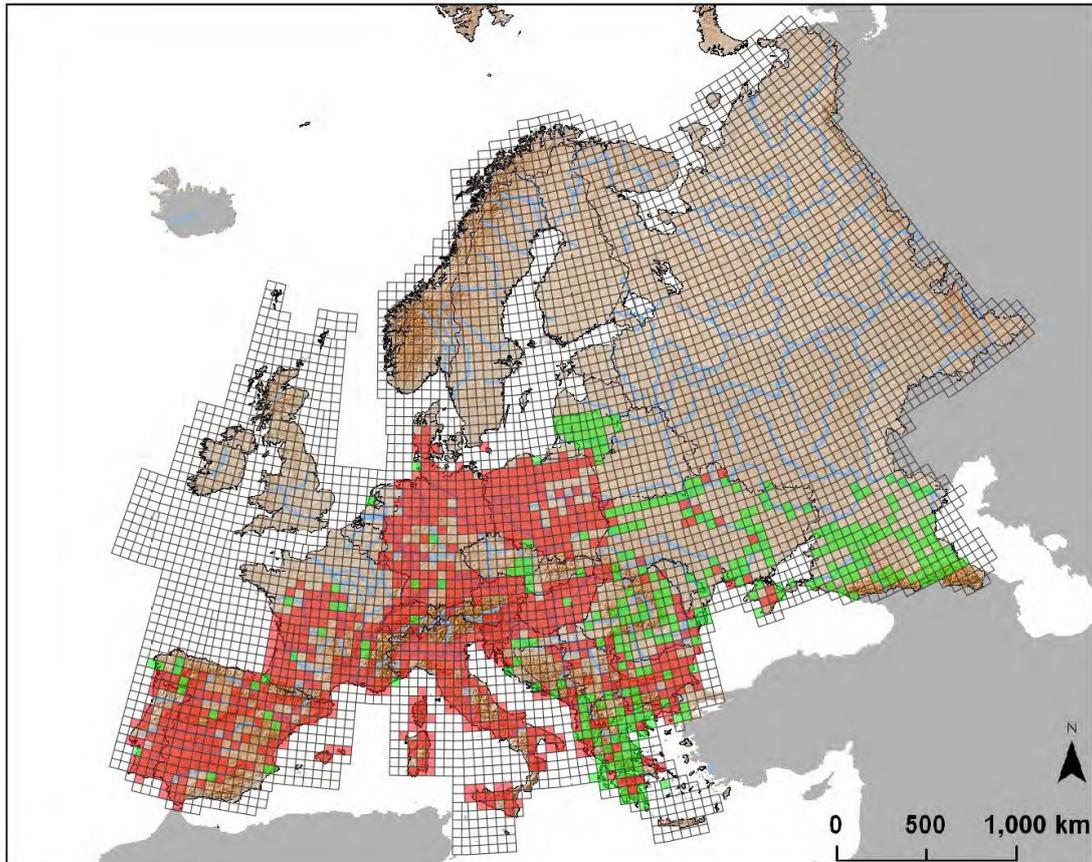


Figure 6 : Carte de répartition de la cistude en Europe par la méthode du maillage.
En rouges : données fournies par des organismes nationaux ; en vert : données fournies par des organismes européens.
Source : Sillero et al., 2014

En France, la cistude est présente dans la quasi-totalité de la région Aquitaine et forme quelques populations dans d'autres régions. La Brenne (région Centre) abrite la population la plus dense de France au sein de la Réserve Naturelle de Chérine. On note plusieurs petites populations au nord de l'Auvergne (Puy-de-Dôme et surtout Allier), autour de la méditerranée (Languedoc-Roussillon, Provence-Alpes-Côte d'Azur) ainsi qu'en Midi-Pyrénées, en Bourgogne, dans le Limousin, en Corse et en région Rhône-Alpes.

Note : Les noms des nouvelles régions instaurées par la réforme territoriale de janvier 2016 n'ayant pas été définis à la date de rédaction des données bibliographiques, cette description de la répartition de la cistude d'Europe en France reprend les anciens noms des régions.

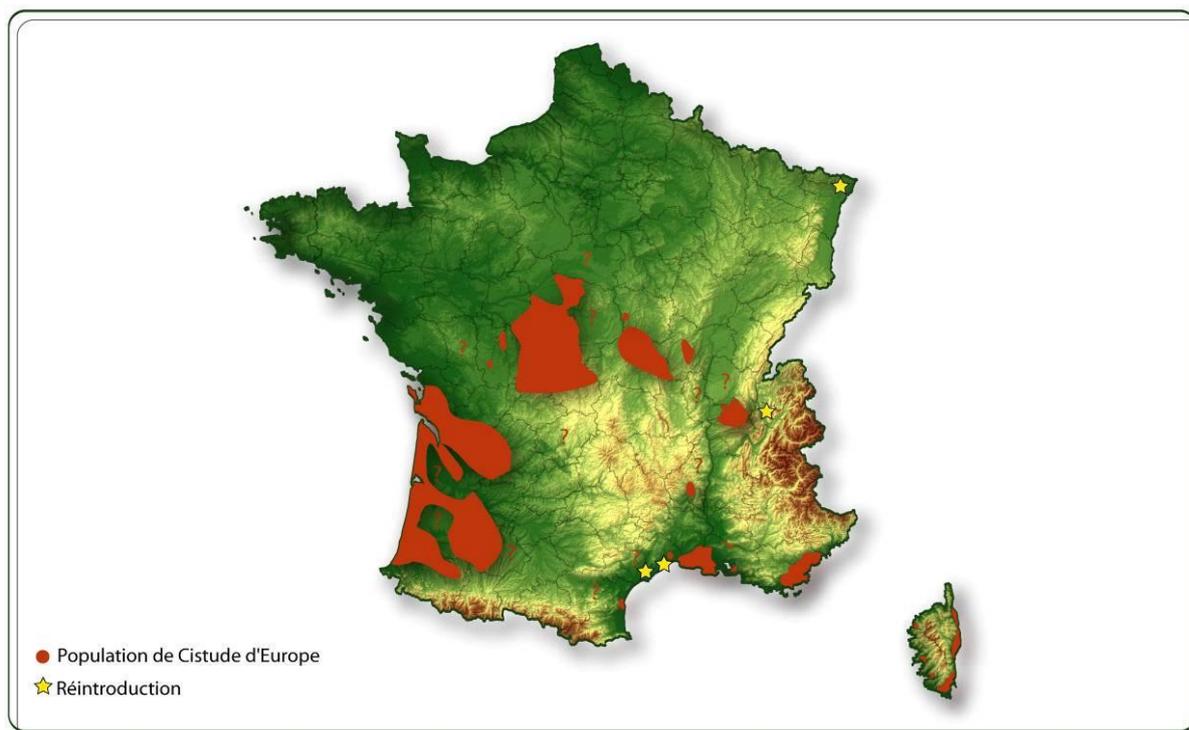


Figure 7 : Aire de répartition de la cistude d'Europe en France (source : Thienpont, 2011)

Des réintroductions de cistudes ont eu lieu en France. Conformément aux recommandations de l'Union Internationale pour la Conservation de la Nature (UICN) pour la réintroduction d'espèces, les différents sites ont fait l'objet d'études préalables attestant la présence passée de la cistude ; ces sites sont protégés à long terme et les facteurs ayant mené à la disparition des tortues sont identifiés et gérés (IUCN/SCC, 2013). La rédaction d'une « Charte de Réintroduction de la Cistude d'Europe en 2002 » (Cadi, Miquet, et Coïc, 2002) a permis la réintroduction d'une trentaine d'individus dans l'Hérault, au niveau des Réserves Naturelles du Bagnas et de l'Estagnol (Mignet, 2010 ; Mignet et al., 2014 ; Bertolero, 2007 ; Bugot, 2009), ainsi qu'en Savoie, entre 2000 et 2002, au niveau du Lac du Bourget (Cadi et Miquet, 2004). De même, en 2013, de nombreuses études préliminaires (Georges, Grac, et Quintard, 2015 ; Georges et al., 2015 ; Grac et al., 2015 ; Meyer et al., 2015) ont permis la réintroduction de quinze individus issus d'un programme d'élevage sur le site du Woerr (Lauterbourg) en Alsace (CEPEC, 2014 ; Georges, 2015). Le suivi à court terme de ces différentes réintroductions montre une bonne adaptation des cistudes à leur nouvel environnement. Des suivis à long terme sont prévus pour vérifier cette tendance.

Malgré ces campagnes de réintroduction, on note une diminution des effectifs des cistudes d'Europe dans toutes les régions de France où l'espèce est présente, excepté en Aquitaine (Priol, Coïc, et Servan, 2008). Cette régression à l'échelle nationale mais également européenne a motivé la mise en place de mesures de protection particulières.

1.5. Statut et mesures de protection

La cistude d'Europe est inscrite sur la liste rouge mondiale des espèces menacées de l'UICN, dans la catégorie « Quasi-menacée » (NT), c'est-à-dire « menacée si des mesures de conservation spécifiques ne sont pas prises ».

Elle est également inscrite sur la liste rouge des espèces menacées en France, mais est passée en 2015 du statut de « quasi-menacée » au statut de « préoccupation mineure » (LC), c'est-à-dire « espèce pour laquelle le risque de disparition de France métropolitaine est faible » grâce à la mise en place d'actions de conservation spécifiques (UICN France, MNHN, et SHF, 2015).

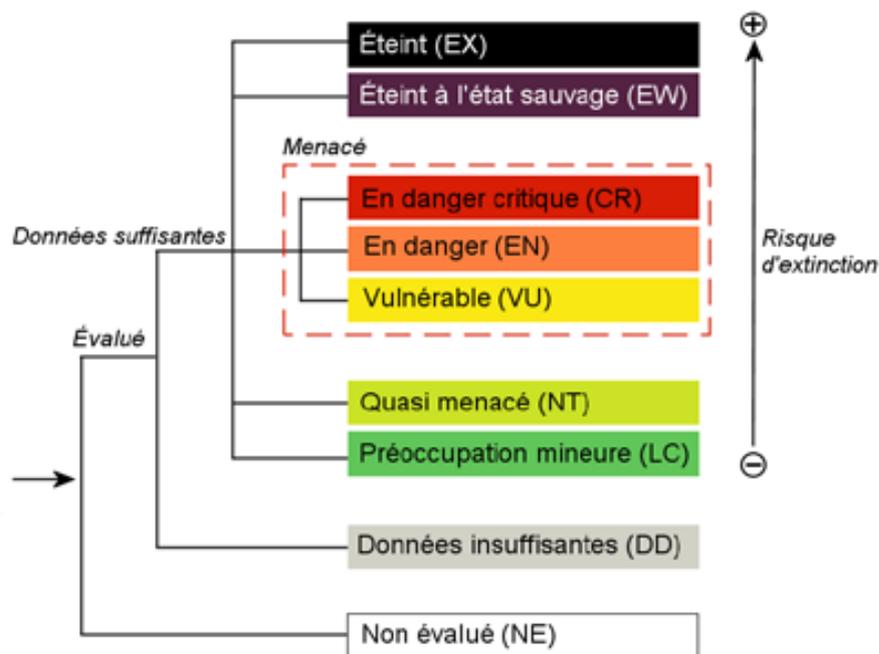


Figure 8 : Catégories de la Liste Rouge de l'UICN (Source : UICN, 2012)

Cette évolution du statut de la cistude est consécutive à la mise en place de mesures de protection au niveau national et international.

Depuis 1979, la cistude d'Europe est protégée au niveau européen par la convention de Berne sur la « vie sauvage et le milieu naturel », comme « espèce de faune strictement protégée » inscrite à l'annexe II. Cette convention oblige notamment tous les signataires (France y compris) à mettre en place toute mesure utile pour la conservation de l'espèce et à encourager l'éducation ainsi que la diffusion d'informations générales sur la nécessité de conserver la cistude d'Europe.

Au niveau réglementaire, elle est inscrite aux annexes II (« espèce d'intérêt communautaire dont la conservation nécessite la désignation de zones spéciales de conservation ») et IV (« espèce d'intérêt communautaire qui nécessite une protection stricte ») de la directive européenne 92/43/CEE, aussi appelée « Directive habitat, faune et flore » (*Directive 92/43/CEE du Conseil du 21 mai 1992 concernant la conservation des habitats naturels ainsi que de la faune et de la flore sauvages, 1992*). Cette directive impose la mise en place de « sites d'intérêt communautaires » regroupés au sein du « Réseau Natura 2000 », dans les lieux abritant la cistude d'Europe. Ces sites bénéficient alors d'une protection contre leur destruction ou leur détérioration.¹

En France, la cistude d'Europe est protégée par l'arrêté du 24 avril 1979, depuis abrogé et remplacé par l'arrêté du 19 novembre 2007, qui interdit « la destruction ou l'enlèvement des œufs et des nids, la destruction, la mutilation, la capture ou l'enlèvement, la perturbation intentionnelle des animaux dans le milieu naturel ». Sont également interdites « la destruction, l'altération ou la dégradation des sites de reproduction et des aires de repos des animaux » (*Arrêté du 19 novembre 2007 fixant les listes des amphibiens et des reptiles protégés sur l'ensemble du territoire et les modalités de leur protection, 2007*). Cette législation garantit ainsi une protection totale des éléments nécessaires au bon déroulement du cycle biologique de la cistude.

De plus, deux arrêtés du 10 août 2004 fixent les règles de détention de la cistude d'Europe par des centres d'élevage, de transit (comme les centres de soin à la faune sauvage) ou de présentation au public. L'obtention par un responsable du centre d'un Certificat de Capacité constitue la principale règle définie par ces deux articles (*Arrêté du 10 août 2004 fixant les règles générales de fonctionnement des installations d'élevage d'agrément d'animaux d'espèces non domestiques, 2004 ; Arrêté du 10 août 2004 fixant les conditions d'autorisation de détention d'animaux de certaines espèces non domestiques dans les établissements d'élevage, de vente, de location, de transit ou de présentation au public d'animaux d'espèces non domestiques, 2004*).

Ces textes de loi ont pour but d'enrayer les menaces et de minimiser les risques qui pèsent sur l'espèce.

¹ Réglementation en vigueur à la date de rédaction de cette thèse.

1.6. Menaces et risques sur l'espèce

De nombreuses menaces pèsent sur la cistude d'Europe et ont entraîné un déclin important de ses populations depuis plus de deux cents ans.

1.6.1. Fragmentation, perte et dégradation de l'habitat

Le cycle de vie de la cistude nécessite différents types d'habitats (cf. 1.3.2 : « *Milieux de vie* »). La dégradation ou la perte de l'un de ces habitats peut compromettre la survie d'une population résidente.

La perte des habitats aquatiques en France est constatée depuis une centaine d'année. Ainsi, Jean-Marc Michel, Directeur Général de l'Aménagement, du Logement et de la Nature, déclare, dans un bilan des politiques publiques de 2009, que « près de 67 % des zones humides métropolitaines ont disparu depuis le début du XX^{ème} siècle » (*Ministère de l'Ecologie, de l'Energie, du Développement durable et de la Mer, 2009*). Ce constat a poussé la France à signer la « Convention relative aux zones humides d'importance internationale », aussi appelée « Convention sur les zones humides » ou « Convention de Ramsar ». Ce traité mondial, adopté en 1971, incite les pays signataires à répertorier leurs zones humides et à les protéger, par le biais d'une coopération internationale (*Ramsar Convention Secretariat, 2013*). C'est dans ce contexte qu'a été publiée, en 1992, une loi officialisant le concept de « zone humide » et prescrivant la protection de ces espaces (*Loi n° 92-3 du 3 janvier 1992 sur l'eau, 1992*). Une évaluation des politiques publiques, menée entre 1992 et 1994, a permis de mettre en évidence que presque 85 % des zones humides étudiées avaient été nettement dégradées au cours des trente années précédentes, tant en surface qu'en qualité (*Bernard, 1994*). Fort de cette constatation, un plan d'action a été engagé, permettant la création d'un observatoire national chargé du suivi scientifique de 152 zones humides remarquables de France métropolitaine. Toujours en 1992, les instances européennes mettent en place une politique de protection des zones humides via la « Directive habitat, faune et flore » et son réseau « Natura 2000 » (*Directive 92/43/CEE du Conseil, du 21 mai 1992, concernant la conservation des habitats naturels ainsi que de la faune et de la flore sauvages, 1992*). Cependant, un rapport d'évaluation des politiques publiques, publié en 2009, souligne les lacunes et les contradictions de la gestion de ces zones humides. En effet, cette gestion est effectuée par différents organismes bien distincts, sans harmonisation, et avec des moyens insuffisants pour mettre en place cette protection (*Bourdin, 2009*). Au final, malgré toutes ces mesures de protection, les zones humides de France métropolitaine restent fortement menacées.

Outre la diminution des zones humides, la cistude d'Europe doit faire face à la disparition rapide des milieux herbacés ouverts qui lui servent de sites de ponte. L'apparition d'une agriculture intensive à partir des années 1960 ainsi que l'abandon de l'élevage traditionnel a entraîné une diminution d'environ 30% des surfaces en herbes en France et en Europe, au profit notamment de la céréaliculture. Cependant, la superficie de ces surfaces semble se stabiliser depuis 2003, grâce notamment l'action progressive mise en place par les politiques publiques (Peyraud, Peeters, et De Vliegheer, 2012).

La dégradation de leurs milieux de vie est également un facteur de déclin important des populations de cistudes en France et en Europe.

La destruction des herbiers aquatiques pour des activités nautiques ou pour la pisciculture a un impact majeur sur l'écologie des zones humides (Auby et al., 2011). Cet impact est particulièrement néfaste pour la cistude dont les herbiers constituent un biotope riche en proies ainsi qu'un refuge contre les prédateurs.

A cette destruction volontaire s'ajoute la disparition d'herbiers aquatiques suite à l'introduction de poissons herbivores comme les carpes asiatiques *Ctenopharyngodon idella* (Quesada, 2004).

Parfois, on note au contraire la prolifération de certaines plantes aquatiques, au détriment de la diversité végétale des zones humides favorable à la cistude d'Europe (Richer-Bond et al., 2015). Cette prolifération peut provenir de l'introduction d'espèces invasives ou de l'eutrophisation¹ du milieu aquatique suite à une pollution de l'eau.

La pollution a également un impact direct chez la cistude, dont les adultes sont au sommet de la chaîne alimentaire. Cette position dans la chaîne trophique entraîne un phénomène de bioaccumulation de certaines substances comme les polluants industriels (Olivier et al., 2008). Il a ainsi été démontré un lien fort entre les campagnes de démoustication, menées notamment au DDT² dans les années 1970, et la régression des populations de cistudes (Cheylan, 1998). Une étude, actuellement en cours, semble démontrer l'existence d'une bioaccumulation d'éléments lourds (mercure, zinc) chez la cistude. Leur impact reste à déterminer (Brischoux et al., en attente de publication).

La dégradation des sites de ponte joue aussi un rôle important dans le déclin des populations de cistudes d'Europe. Suite à l'abandon progressif de l'élevage, de nombreux sites se retrouvent aujourd'hui enfrichés et n'offrent plus les conditions optimales d'ensoleillement pour le développement des embryons. Cette situation est problématique chez la cistude, car de nombreuses femelles restent fidèles à ces milieux devenus sub-optimaux (Thienpont, 2011).

¹ Enrichissement excessif d'un milieu entraînant la production d'une biomasse algale trop importante ou déséquilibrée, causant l'hypoxie plus ou moins sévère par dégradation de cet excès de matière organique (source : Menesguen et al., 2001).

² DDT : Dichlorodiphényltrichloroéthane, organochloré aux propriétés insecticides et acaricides.

La perte de surface de ces milieux de ponte entraîne également une augmentation de la concentration des nids et donc un risque accru de prédation (*Olivier, 2002*).

Outre la dégradation ou la destruction de ces habitats, leur fragmentation joue aussi un rôle non négligeable dans le déclin des populations de cistudes. L'endiguement des fleuves et l'aménagement du territoire (notamment la construction d'infrastructures linéaires comme les routes ou les chemins de fer) ont considérablement amoindri les corridors de déplacement entre les différentes populations de cistude d'Europe. Cet isolement augmente le risque de disparition locale du fait d'accidents divers : perturbation ou destruction locale du milieu, surprédation, pollution ponctuelle ou encore perte de diversité génétique (*Thienpont, 2011*). De plus, ces aménagements du territoire peuvent isoler différents sites utilisés par une seule et même population de cistudes (isolement entre le site de vie et le site de ponte par exemple). La grande fidélité de cette espèce pour ses milieux de vie l'incite à rester, augmentant ainsi le risque d'accident mortel sur les routes (*Barthe, 2012*).

1.6.2. Prélèvements dans le milieu

A l'époque préhistorique, la cistude d'Europe fut largement prélevée pour la consommation humaine, à tel point que ces prélèvements pourraient avoir causé la disparition locale de l'espèce au Mésolithique et au Néolithique. Ces prélèvements pour la consommation humaine, associés plus tardivement à des prélèvements pour des préparations médicinales, ont perduré jusque dans les années 1850 en France (*Cheyland, 1998*).

Malgré toutes les mesures de protection dont la cistude d'Europe bénéficie, des individus continuent, encore aujourd'hui, à être prélevés dans la nature par des collectionneurs ou des particuliers ignorant les statuts de protection de cette espèce. Outre la fragilisation des populations, ce prélèvement peut aussi causer une pollution génétique ou l'introduction de pathogènes dans un environnement sain, lorsque des individus prélevés sont relâchés au mauvais endroit (*Colin, 1992 ; Haffner, 1997*). Cependant, ces prélèvements sont relativement rares grâce à la difficulté que représente la capture de tortues sans piège (*Olivier et al., 2008*).

1.6.3. Facteurs de mortalité

Outre tous les facteurs de régression de l'espèce dits « indirects », car ils n'entraînent pas directement la mort d'individus, la régression de l'espèce est aussi accentuée par la perte directe de ses individus.

Comme évoqué précédemment (cf « 1.3.3 : Alimentation »), la cistude d'Europe se situe au sommet de sa chaîne trophique lorsqu'elle est adulte. Cependant, les jeunes cistudes, du fait de leur carapace molle pendant les premières années de leur vie, constituent des proies de choix pour des prédateurs comme les corvidés (*Corvus corone*, *Pica pica* ...), les hérons (*Ardea cinerea*, *Bubulcus ibis* ...), la fouine (*Martes foina*), le hérisson d'Europe (*Erinaceus europaeus*), le grand brochet (*Esox lucius*) ... La prédation s'effectue aussi au niveau des œufs, comme expliqué précédemment (cf. « 1.3.5 : Reproduction »). Néanmoins, la prédation en elle-même ne constitue pas à proprement parler un facteur de régression de l'espèce. Pourtant, son association avec des facteurs anthropiques (modification du milieu ne permettant plus à la cistude de se cacher des prédateurs, diminution de l'aire de vie concentrant les individus et les nids ...) est problématique (Thienpont, 2011).

La construction de routes, qui fragmente l'habitat des cistudes, engendre en plus un risque majeur de pertes d'individus par écrasement, notamment lors de déplacements comme à la période de reproduction ou, en été, lors de l'assèchement du milieu de vie. Les accidents sur la route constituent la première cause d'admission des cistudes d'Europe dans les Centres de Soins à la Faune Sauvage (C.S.F.S.), avec 50 % des entrées (Ballouard, 2013). Des campagnes de sensibilisation sont mises en place tous les ans pendant les périodes critiques, notamment via la mise en place de panneaux signalétiques sur les bords des routes à haut risque. Cela semble susciter l'intérêt du grand public (Van Ingen, 2014).



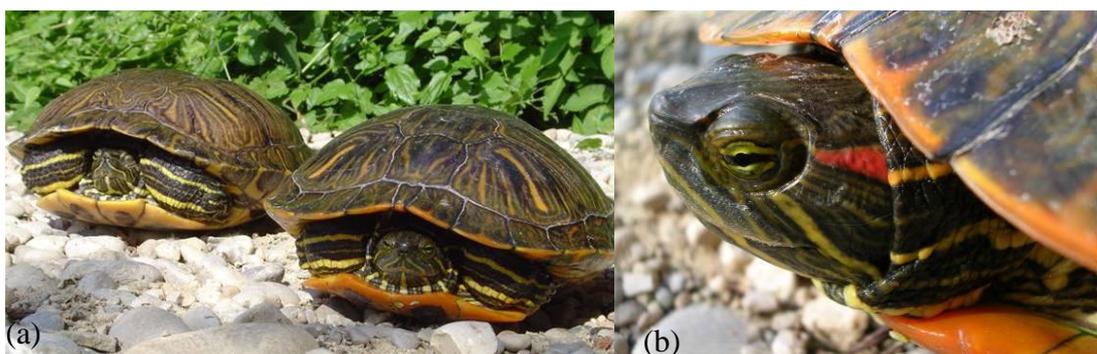
Photographie 5 : Panneau signalétique indiquant la présence de la cistude d'Europe sur une route de la Réserve Naturelle de Chérine (source : Van Ingen, 2014)

Enfin, les incendies représentent aussi une cause de déclin des populations de cistudes, particulièrement sur le pourtour méditerranéen. Leur impact peut être très important en plein été lorsque les tortues sont en estivation : le taux de mortalité peut alors monter jusqu'à plus de 60 %, spécifiquement chez les jeunes individus. Cependant, les populations de cistudes ont une forte capacité de résilience pour des feux espacés de plus de vingt ans (Cheylan et Poitevin, 1998).

1.6.4. Impact de l'introduction d'espèces exotiques

L'introduction de nouvelles espèces dans les écosystèmes français, véritable catastrophe écologique, s'est intensifiée depuis une cinquantaine d'années, avec la mondialisation et l'émergence du commerce international.

Durant de nombreuses années, des fermes d'élevage aux Etats-Unis ont produit des milliers de tortues dites « de Floride » (*Trachemys scripta*), qui ont été exportées partout dans le monde. Ainsi, sur plus de 50 millions de tortues exportées entre 1989 et 1997, près d'un million par an étaient importées en France, le plus gros client au monde (Thienpont, 2011). Vendues comme nouveau-nés pour une taille de quelques centimètres à un prix dérisoire, ces tortues ont fait et font toujours l'objet de relâchés importants dans la nature par des particuliers ne pouvant pas leur fournir des conditions optimales une fois la taille adulte atteinte.



Photographie 6 : La tortue de Floride (*Trachemys scripta* var. *elegans*) (source : Thienpont, 2011).
(a) La couleur sombre de la dossière peut être à l'origine d'une confusion entre cette espèce et la cistude d'Europe
(b) La marque rouge sur la tempe, caractéristique de cette sous-espèce dite « tortue à tempes rouges »

Aujourd'hui, la tortue de Floride est présente dans la quasi-totalité des départements de France métropolitaine, avec des concentrations d'individus parfois très élevées sur certains domaines (Arvy et Servan, 1996). De plus, il a été constaté sur plusieurs sites une reproduction effective de cette espèce.

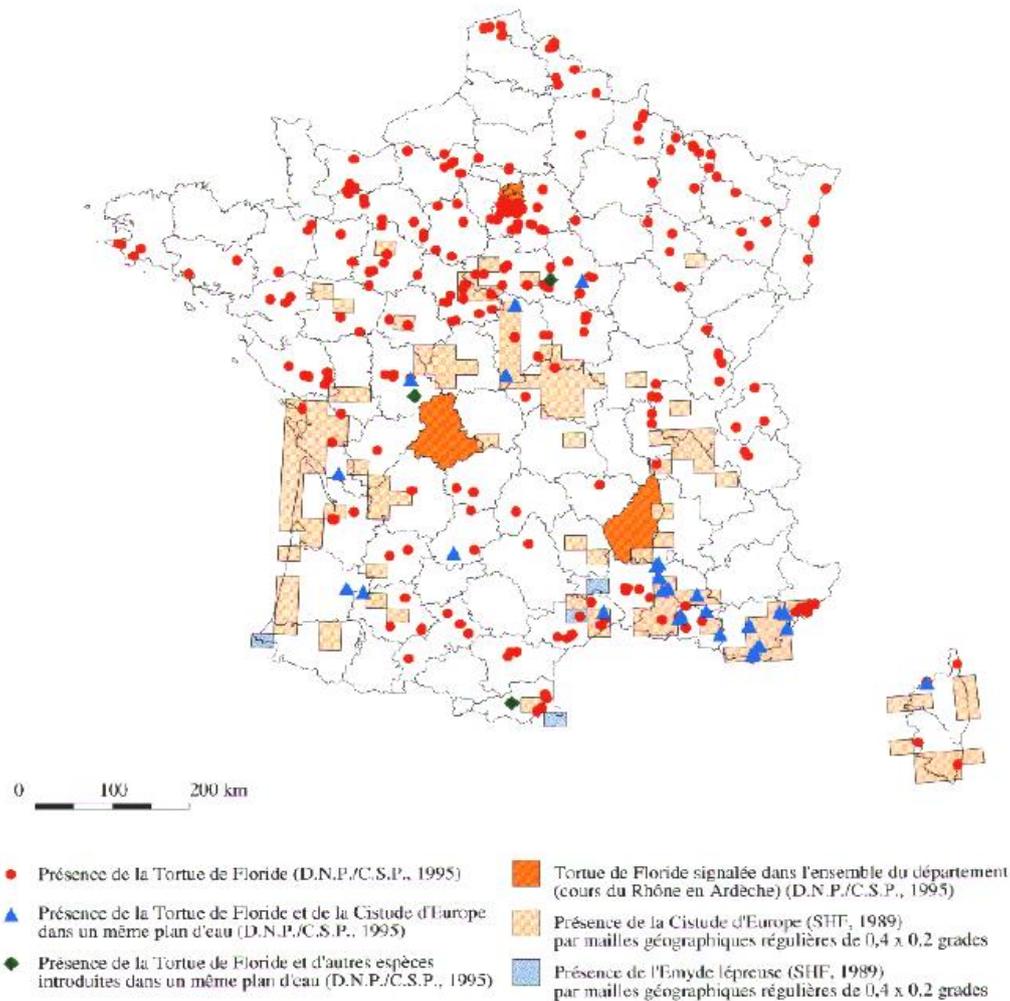


Figure 9 : Distribution de la tortue de Floride en France (source :Thienpont, 2011)

La présence de cette tortue en dehors de son aire d'origine pose de nombreux problèmes écologiques.

Les apports de pathogènes, qu'il s'agisse de bactéries, virus, ou encore de parasites, représentent l'un des risques les plus sérieux pour la faune indigène. Il a en effet été démontré la possibilité de transmission de parasites entre la tortue de Floride et la cistude d'Europe. Verneau, Palacios, et Héritier, 2008 et Meyer et al., 2015 ont notamment observé la transmission de polystomes (*Monogenea* et *Polystomatidae*), des plathelminthes retrouvés chez la plupart des tortues dulçaquicoles mais dont les espèces possèdent en général une grande spécificité d'hôte.

De plus, l'introduction d'une espèce étrangère dans un nouvel environnement entraîne un risque de compétition avec les espèces autochtones. En effet, l'ensemble des paramètres biologiques de la tortue de Floride lui donne un avantage considérable sur la cistude : une taille adulte plus importante, une maturité sexuelle plus précoce, un poids des nouveau-nés plus élevé ... Tous ces atouts, alliés à leur grande agressivité, poussent les tortues de Floride à

s'approprier les meilleurs sites d'ensoleillement, obligeant les cistudes à utiliser des sites moins favorables ou à partir coloniser des nouveaux milieux, avec tous les risques inhérents à cet exode (écrasement sur les routes, isolement, regroupement dans un milieu défavorable ...) (Cadi et Joly, 2003).

La tortue de Floride n'est pas la seule espèce exotique à menacer la cistude d'Europe. Le black-bass (*Micropterus salmoides*), poisson carnivore introduit en France pour des activités de pêche, est un prédateur très vorace, particulièrement pour les jeunes cistudes (Barthe, 2012). Certaines espèces de plantes envahissantes, comme les jussies (*Ludwigia* sp.) ou le buddléia de David (*Buddleja davidii*), colonisent les milieux aquatiques de France au détriment de la diversité écologique. Elles captent ainsi toute la lumière et empêchent le déplacement des petits animaux par leur densité subaquatique très élevée. Enfin, les carpes asiatiques *Ctenopharyngodon idella* (cf. « 1.6.1 : Fragmentation, perte et dégradation de l'habitat ») et l'écrevisse de Louisiane (*Procambarus clarkii*) sont, elles aussi, susceptibles de modifier l'environnement, au détriment des cistudes. L'écrevisse provoque par exemple de nombreux problèmes écologiques, comme une fragilisation des berges en creusant son terrier, un appauvrissement biologique du milieu (surconsommation de proies et disparition des herbiers aquatiques) et même une prédation des juvéniles (Rodríguez et al., 2005).

Le suivi à long terme des populations de cistudes d'Europe en France ainsi que dans tous les pays de son aire de répartition a permis la publication de nombreuses données naturalistes concernant la description de l'espèce, sa biologie, sa répartition et son statut de protection. Ainsi, on peut dire qu'aujourd'hui, la cistude est une tortue bien connue et rigoureusement suivie par les naturalistes européens.

2. La carapace des tortues dulçaquicoles

S'il existe de nombreuses données naturalistes concernant la cistude d'Europe dans la littérature, l'espèce a cependant été peu étudiée du point de vue vétérinaire. Néanmoins, mis à part quelques particularités spécifiques que nous ne manquerons pas de désigner, les caractéristiques histologiques, anatomiques et physiologiques ainsi que les pathologies de la carapace des cistudes diffèrent peu de celles des autres espèces de tortues dulçaquicoles. Certaines de ces autres espèces ont été particulièrement étudiées par des vétérinaires du fait de leur appartenance à un groupe d'animaux de compagnie désigné comme « nouveaux animaux de compagnie » (NAC).

Les premières études « vétérinaires » concernant les chéloniens remontent aux années 1960, mais il faudra attendre les années 1980 pour voir le nombre de publications augmenter de manière significative. Cependant, bien que convenablement cerné, ce sujet possède encore de nombreuses parties lacunaires, peu voire pas du tout étudiées à l'heure actuelle. Le but de cette partie est d'exposer une synthèse non exhaustive des connaissances vétérinaires actuelles sur les chéloniens.

2.1. La carapace normale des tortues dulçaquicoles

(Harvey-Clark, 1995 ; Divers et Mader, 2005 ; Saint-Raymond Moynat, 2009 ; Mabillet-Bentot, 2011)

La connaissance de l'histologie, de l'anatomie et de la physiologie de la carapace est indispensable pour la compréhension du mécanisme physio-pathologique du SUC ainsi que pour appréhender les conséquences sur l'organisme d'une telle entité pathologique.

2.1.1. Histologie

(Bereiter-Hahn, Matoltsy, et Richards, 2013)

Comme pour tous les animaux, à l'échelle microscopique, le tégument est constitué en superficie de l'épiderme et en profondeur du derme.

Chez tous les reptiles, l'épiderme est présent sous forme d'écailles ou de plaques cornées, reliées entre elles par de la peau. Ces formations sont kératinisées et ne contiennent pas de glandes sébacées, à l'exception des glandes mentonnières chez les tortues (*Harvey-Clark, 1995*). Les cellules du tégument sont formées en profondeur dans le *stratum germinativum*, couche constituée de cellules souches vivantes et se renouvelant périodiquement. Ces cellules, au cours de leur processus de kératinisation, vont migrer de manière centrifuge dans le *stratum intermedium* et mourir, formant ainsi une couche plus dure nommée *stratum corneum*. Toutes les structures du *stratum corneum* sont formées de trois couches :

- Une couche d' α -kératine, identique à celle entrant dans la composition des poils des mammifères, caractérisée par une grande flexibilité et une grande élasticité ;
- Une couche de β -kératine, dont sont composées les plumes des oiseaux, caractérisée par sa grande rigidité ;
- La couche dite « d'Oberhautchen », composée de lipides jouant un rôle dans la perméabilité du tégument à l'eau, aux gaz et à d'autres substances (*Warwick, Frye, et Murphy, 2001*), ainsi que dans le processus de mue (*Alibardi, 2005 ; Alibardi, 2014*).

Chez les chéloniens, le *stratum corneum* forme de petites écailles reliées entre elles par de la peau sur les membres, la tête et la queue, et des plaques cornées plus importantes au niveau de la carapace. Les différences notées entre ces structures (taille, rigidité ...) résident dans leurs proportions différentielles en kératine. En effet, la peau reliant les écailles est constituée presque exclusivement d' α -kératine, lui conférant son élasticité, alors que les écailles sont formées d'une proportion plus importante de β -kératine, d'où leur résistance (proportion encore plus importante au niveau des écailles de la carapace, autrement appelées « plaques cornées »). Seules exceptions à cette règle, les tortues des familles *Trionychidae* et *Dermochelyidae* (dont la tortue Luth), dites « tortues à carapace molle », ne possèdent pas de plaques cornées au niveau de leur carapace. Chez elles, le *stratum corneum* au niveau de la carapace ne contient pas de β -kératine, formant ainsi non pas des écailles mais une peau épaisse relativement semblable à du cuir (*Scheyer et al., 2007*).

Le derme est constitué de tissu conjonctif richement vascularisé et innervé, ayant une fonction nourricière pour l'épiderme. Il contient de nombreuses cellules pigmentées, les chromatophores, donnant sa couleur à la peau. Au niveau de la carapace, le derme est représenté sous forme de plaques osseuses métaboliquement très actives, nommées « os dermiques » ou « ostéodermes ». Les chromatophores y sont alors présents sous forme ossifiés.

2.1.2. Anatomie

(Gaudron, 2001)

La superposition « écailles + ostéoderme » confère aux tortues un organe protecteur particulièrement résistant contre les agressions et les chocs : la carapace. Les écailles de la carapace sont répertoriées selon une nomenclature commune à toutes les tortues (sauf quelques particularités spécifiques) (cf. *Figure 2*). Notons que les limites des ostéodermes ne se superposent pas avec celles des écailles, ce qui renforce la solidité de la carapace (cf. *Figure 10*). Cette carapace, représentant à elle seule environ 30% du poids du corps, se présente en trois parties : la dossière en partie dorsale et le plastron en partie ventrale, tous deux reliés par des ponts osseux sur les côtés. Il est intéressant de noter que certaines tortues sont dotées de charnières permettant l'articulation du plastron (« tortues boîtes » et *Kinosternon* sp.) ou de la dossière (*Kinixys bellania*, la tortue à dos articulé des savanes), de manière à protéger totalement leur tête et / ou certains de leurs membres en cas de danger (Bour, 2012).

Les ostéodermes de la carapace sont fusionnés avec de nombreux os du corps des chéloniens :

- Au niveau du tronc, les côtes et la colonne vertébrale sont reliés respectivement aux ostéodermes du plastron et de la dossière ;
- Au niveau du membre thoracique, la scapula est reliée aux ostéodermes de la dossière, alors que l'os coracoïde est fusionné avec ceux du plastron. La clavicule est quant à elle reliée à l'épiplastron (cf. *Figure 11*) ;
- Au niveau du membre pelvien, l'ilium est relié à la dossière, alors que l'ischium et le pubis sont fusionnés avec le plastron.

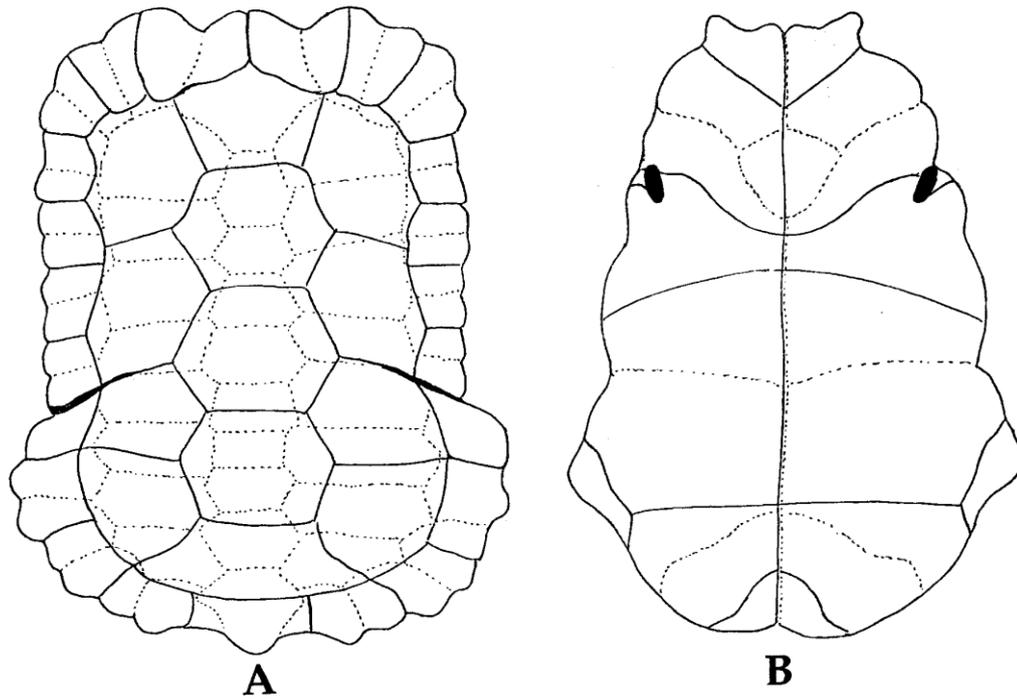


Figure 10 : délimitations des écailles (traits pleins) et des ostéodermes (pointillés) sur la dossière (A) et le plastron (B) chez *Kinixys erosa* (source : Arvy et Fertard, 2002)

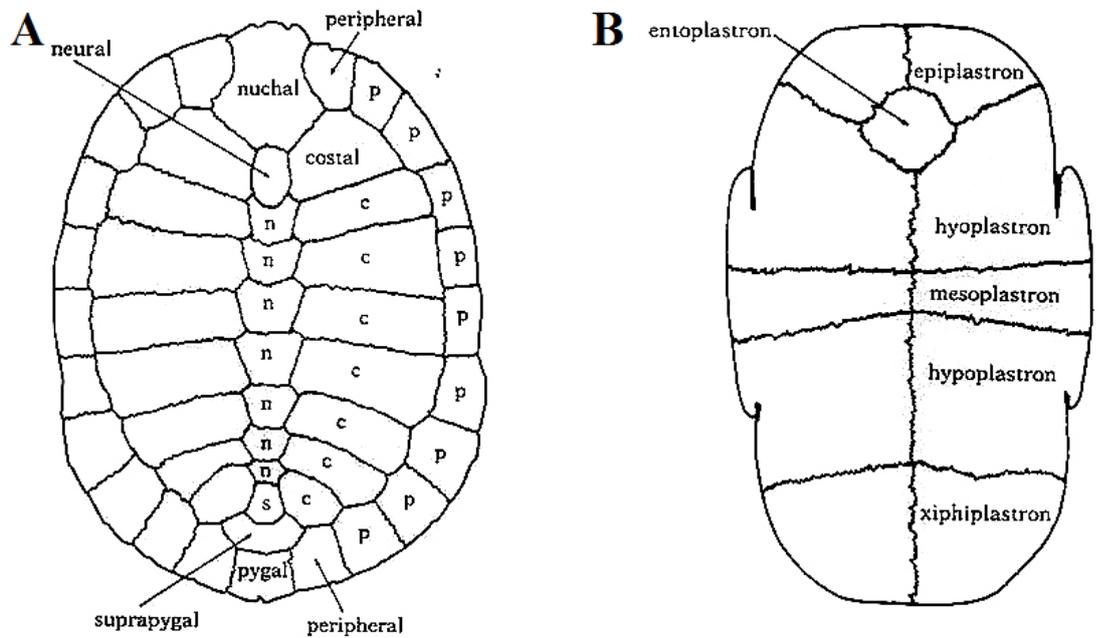


Figure 11 : Nomenclature des ostéodermes de la dossière (A) et du plastron (B) des tortues dulçaquicoles (source : Ernst et Barbour, 1989)

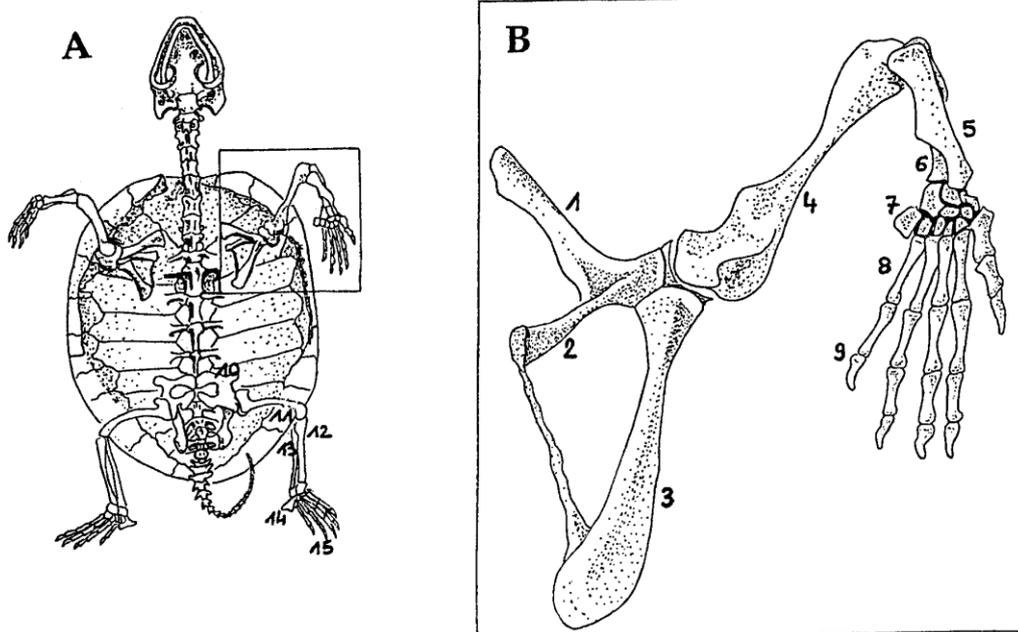


Figure 12 : Squelette des chéloniens (A) et détails du membre thoracique (B). 1 = scapula ; 2 = précoracoïde ; 3 = coracoïde ; 4 = humérus ; 5 = radius ; 6 = ulna ; 7 = os du carpe ; 8 = os métacarpiens ; 9 = phalanges ; 10 = bassin ; 11 = fémur ; 12 = tibia ; 13 = fibula ; 14 = os du tarse ; 15 = os du pied. (Source : Arvy et Fertard, 2002)

2.1.3. Physiologie

L'histologie et l'anatomie particulières du tégument des tortues dulçaquicole lui confèrent des propriétés remarquables permettant d'assurer différentes fonctions au sein de l'organisme. Il s'agit d'un tissu vivant et se renouvelant régulièrement au cours du processus de mue, permettant une croissance quasiment continue des tortues.

2.1.3.1. *Les différentes fonctions du tégument*

Le tégument des tortues s'est adapté pour leur offrir une protection particulièrement efficace contre les agressions extérieures. L'existence d'une carapace dure joue un rôle de protection mécanique évident contre les prédateurs. La présence d'une couche cornée relativement épaisse sur l'ensemble du tégument constitue une barrière protectrice contre la déshydratation, l'abrasion et les rayonnements ultra-violets (Harvey-Clark, 1995). Au sein même du derme, certaines cellules spécialisées vont jouer un rôle important dans les défenses de l'organisme contre les agents pathogènes. On y trouve en particulier des histiocytes, possédant une activité

lytique et d'endocytose, et des plasmocytes sécrétant des immunoglobulines. De plus, certains lipides joueraient un rôle antibactérien chez les reptiles (*Saint-Raymond Moynat, 2009*).

Au-delà de son rôle de protection, le tégument constitue une surface d'échange particulièrement importante chez les reptiles.

Il a par exemple été démontré que les échanges de dioxyde de carbone via le tégument peuvent représenter jusqu'à 75% des flux totaux chez certaines espèces de serpent de mer comme *Pelamis platurus* (*Ackerman, 1997*). Chez les tortues aquatiques, la peau joue un rôle très important dans les échanges de dioxygène : ainsi, *Harvey-Clark* a démontré en 1997 que ces échanges transcutanés de dioxygène représentent une part plus importante que les échanges pulmonaires dans la respiration des tortues du genre *Trionyx*. Cette respiration cutanée permet notamment aux tortues d'hiverner sous l'eau en assurant une oxygénation minimale nécessaire à la survie de l'individu. Chez la cistude d'Europe, le terme de « respiration cutanée » est abusif : il regroupe les échanges gazeux transcutanés (la « vraie » respiration cutanée) ainsi que les échanges gazeux au niveau des muqueuses pharyngienne et des sacs annaux. Ces derniers sont permis par une circulation d'eau autour des villosités richement vascularisées de ces deux muqueuses, représentant la plus importante part de respiration lors de l'hivernage (*Grassé et Tétry, 1974*).

D'importants échanges d'eau sont effectués par voie transcutanée chez les reptiles. Ces échanges sont maximisés lorsque la peau est hydratée et juste après la mue (*Harvey-Clark, 1997*). Ainsi, chez les reptiles hivernant au sec, l'état d'hydratation de la peau est un facteur déterminant pour la survie (*Costanzo, 1989*).

La peau joue aussi un rôle dans la thermorégulation des reptiles. Cependant, ce rôle est secondaire par rapport à l'hyperventilation et au comportement de recherche d'un environnement frais. Il existe une légère couche d'eau à la surface de la peau qui permet de refroidir l'organisme en s'évaporant. La coloration de la peau influence également la thermorégulation : une peau plus claire renverra plus facilement les rayons du soleil, contrairement à une peau sombre qui les convertira en chaleur. Enfin, certains reptiles possèdent des cristaux pigmentaires qui rendent leur peau brillante : ce phénomène est appelé « couleur structurelle ». Il a été démontré que la présence de ces cristaux pigmentaires permet de renvoyer les rayons lumineux et ainsi de fournir une protection face à l'hyperthermie chez certains lézards (*Costanzo, 1989 ; Grenot, 1968*).

Chez les reptiles, la peau joue également un rôle important dans le métabolisme du calcium. Ainsi, sous l'influence des rayons UV qui jouent le rôle de catalyseurs, la pro-vitamine D3 (7-déhydrocholestérol) est convertie en pré-vitamine D3. Puis, toujours au sein de la peau, cette dernière est transformée en vitamine D3 (cholécalférol) par une isomérisation thermique dépendante : une augmentation de la température entraîne une augmentation du nombre d'isomérisations. Ce processus est réversible : en cas de concentration trop importante en

cholécalférol, l'isomérisation peut s'inverser et reformer de la pré-vitamine D3. Ce mécanisme de contrôle n'est cependant effectif que si l'augmentation du taux de cholécalférol est progressive. Dans le cas contraire (comme une ingestion d'aliments trop riches en cholécalférol), ce mécanisme est inefficace pour ne pas dépasser le seuil toxique (*Klaphake, 2010*). La vitamine D3 formée va être activée dans les reins et le foie, et va ainsi réguler le métabolisme du calcium en favorisant son absorption intestinale et en activant l'ostéolyse.

La peau, comme chez tous les animaux, joue aussi un rôle sensoriel prépondérant chez les reptiles. Le toucher est assuré par des mécanorécepteurs situés dans le derme et l'épiderme sur l'ensemble du tégument des tortues. Les terminaisons nerveuses situées sous les écailles du plastron sont particulièrement sensibles aux frottements et aux vibrations dans un environnement aquatique (*Bouvard, 1992*). Les tortues sont capables de percevoir des stimuli thermiques, bien qu'aucun thermorécepteur au sens propre n'ait été observé : il s'agirait plutôt de mécanorécepteurs modifiés percevant la chaleur, mais plus encore la sensation de fraîcheur. La densité de ces « mécanorécepteurs thermiques » serait plus importante au niveau du plastron et des extrémités de la tête et des membres (*Kenton, Kruger, et Woo, 1971*).

2.1.3.2. *La mue*

La mue est un phénomène périodique sous influence thyroïdienne commun à tous les reptiles, caractérisé par un renouvellement d'une partie ou de l'intégralité de l'épiderme.

Chez les chéloniens, la mue est continue mais plus discrète que chez les ophidiens et les squamates : elle s'effectue par lambeaux. On peut ainsi régulièrement observer de légères desquamations à la base des membres ou du cou. On observe parfois de discrètes chutes d'écailles au niveau de la dossière, mais ce phénomène serait plutôt dû à une usure qu'à une mue au sens strict du terme (*Grassé, 1970*).

2.1.3.3. *La cicatrisation*

Le processus de cicatrisation des reptiles est relativement proche de celui des mammifères (*Harvey-Clark, 1997*), mais quelques différences peuvent néanmoins être soulignées.

Comme chez les mammifères, le processus de cicatrisation chez les reptiles est divisé en plusieurs phases :

- Une phase exsudative, durant laquelle la nécrose des tissus morts se met en place, conduisant à une séparation du derme et des muscles sous-jacents. Une réaction vasculaire (vasodilatation et augmentation de la perméabilité vasculaire) permet alors l'arrivée de cellules inflammatoires à l'origine d'adhérences. Chez les mammifères, on observe des granulocytes neutrophiles dans un premier temps puis des macrophages dans un second temps. A l'inverse, chez les reptiles, on trouve premièrement des macrophages, disparaissant dès la mise en place de la fibroplasie, puis des hétérophiles, persistants parfois jusqu'à la phase de maturation du nouvel épithélium. Cette réponse inflammatoire est très importante chez le serpent jarretière *Thamnophis sirtalis* (Smith et Barker, 1988), chez l'alligator du Mississippi *Alligator mississippiensis* (Mateo, Roberts, et Enright, 1984) et chez les tortues (Ryerson, 1943), alors qu'elle semble peu développée chez les lézards (Maderson et Roth, 1972).
- Une phase proliférative durant laquelle les fibroblastes migrent sur la plaie et produisent du collagène à l'origine d'une fine croûte dermique. Cette croûte est très peu développée chez les lézards (Maderson et Roth, 1972). Alors que chez les mammifères, les fibroblastes migrent en provenance du tissu sous-cutané, la formation de la croûte chez les reptiles s'effectue de manière latérale depuis le derme adjacent (Smith et Barker, 1988).
- Une phase finale de maturation de ce nouvel épithélium, avec la formation d'une couche basale, un arrondissement des cellules superficielle et une reprise de la production de kératine.

Si, dans les grandes lignes, le processus de cicatrisation des reptiles est proche de celui des mammifères, il est par contre beaucoup plus long. Il prend encore plus de temps lorsqu'il s'agit d'une plaie sur la carapace : la cicatrisation complète peut atteindre deux ans en fonction de la gravité de la plaie (Holt, 1981). Plusieurs facteurs sont susceptibles d'influencer cette durée de cicatrisation ; ainsi, une température trop basse, un état pathologique, une alimentation non adaptée ou une mauvaise hygiène du milieu de vie sont les principales causes de retard de cicatrisation chez les tortues sauvages.

2.1.3.4. Croissance

(Bouvard, 1992)

L'ossification de la carapace des tortues s'opère de manière post-natale pendant plusieurs années. On parle alors des juvéniles comme individus « à carapace molle ».

Jusqu'à l'âge d'environ deux ans, la carapace n'est que très peu ossifiée. Elle possède un centre d'ossification continu au niveau des futurs ostéodermes vertébraux, s'étalant d'avant en arrière de la première plaque neurale à la suprapycale (cf. Figure 11 : Nomenclature des ostéodermes de la dossière (A) et du plastron (B) des tortues dulçaquicoles (source : Ernst et Barbour, 1989). De plus, il existe des centres d'ossification au niveau des plaques périphériques et costales, ainsi que deux centres d'ossification au niveau de la plaque pygale permettant une ossification latérale. Sur le plastron, on distingue deux centres d'ossification séparés par la suture médiane : le premier se trouve au niveau des épi- et des hyoplastrons, le second s'étale sous les hypo- et xiphiplastrons. Les emplacements de ces différents centres d'ossification sont précisés dans la Figure 13.

La croissance longitudinale de la carapace s'effectue par allongement de la plaque neurale et par les centres situés entre les hyo- et les hypoplastrons, alors que la croissance en largeur et en hauteur se fait par les centres latéraux et par la suture médiane du plastron.



Figure 13 : Centres d'ossification des ostéodermes chez les tortues juvéniles. Les centres d'ossification sont représentés en gris clair. (Source : Cheylan, 1981 in Bouvard, 1992).

Parallèlement à la croissance des ostéodermes, il existe chez les tortues une croissance des écailles du plastron et de la dossière. La croissance maximale s'effectue durant les périodes d'activité, c'est-à-dire durant la saison chaude chez les tortues sauvages. Inversement, les périodes de ralentissement de l'activité marquent aussi un ralentissement important de la croissance des écailles. Cette différence de vitesse de croissance se retrouve sur les écailles sous formes de cernes autour des centres de croissance, appelées lignes d'arrêt de croissance (LAC). Ces LAC sont utilisées pour évaluer l'âge des tortues (Servan, 1988), cependant, leur lecture devient imprécise au-delà de la maturité sexuelle car la carapace s'use et finit par

devenir entièrement lisse (*Castanet, 1988*). Ainsi, la croissance de chaque écaille se fait de manière concentrique, mais dans une orientation préférentielle selon la localisation de son centre de croissance aussi appelé « écaille foetale » (*Cheyland, 1981 in Bouvard, 1992*) (cf. *Photographie 7* : LAC de la dossière d'une cistude d'Europe. On remarque la présence des écailles foetales au centre des cernes (crédit : Z. Owen-Jones).



Photographie 7 : LAC de la dossière d'une cistude d'Europe. On remarque la présence des écailles foetales au centre des cernes (crédit : Z. Owen-Jones)

La carapace des tortues dulçaquicoles est une structure complexe, vivante et possédant un fonctionnement continu. Tout dysfonctionnement de son activité peut avoir des conséquences graves sur l'individu.

2.2. Les pathologies de la carapace

(Harkewicz, 2002 ; De Matteis, 2004 ; Saint-Raymond Moynat, 2009 ; Chitty et Raftery 2013)

De nombreuses pathologies de la carapace ont été décrites chez les tortues dulçaquicoles domestiques dans le monde, cependant, ces maladies ont peu été étudiées chez les populations sauvages. Nous listerons dans cette partie les principales affections de la carapace des tortues dulçaquicoles d'élevage afin de trouver des points de comparaison avec le SUC.

2.2.1. Les affections traumatiques

2.2.1.1. *Fractures de la carapace*

Les fractures de la carapace représentent la majeure partie des motifs de consultation concernant une affection de la carapace. L'étiologie peut être diverse : collision avec un véhicule, morsure de chien, tondeuse à gazon, chute ...

Il existe deux types de fractures de la carapace : les fractures sans perte de substance, la carapace étant alors juste fendue (comme dans le cas d'une morsure de chien), et les fractures avec perte de substance, lorsqu'une partie de la carapace n'est plus récupérable (cas de la tortue passée sous la tondeuse à gazon).

Le pronostic est fonction du type de fracture, de la gravité des lésions et des organes internes atteints. Il est donc fortement conseillé de réaliser des clichés radiographiques de face et de profil. Un examen neurologique est recommandé, cependant, il n'existe à l'heure actuelle aucune méthode réellement efficace pour mener cet examen. En effet, l'hypo-réactivité des tortues constitue un frein important à la réalisation d'un examen neurologique. De plus, une atteinte médullaire peut se traduire de différentes manières et n'entraîne pas forcément de paralysie ; dans certains cas, elle peut engendrer uniquement une atonie vésicale (*Heard, 1999*). Mais, dans la plupart des cas, le pronostic d'une fracture de la carapace avec atteinte neurologique s'avère sombre (*Mautino et Douglas Page, 1993*).

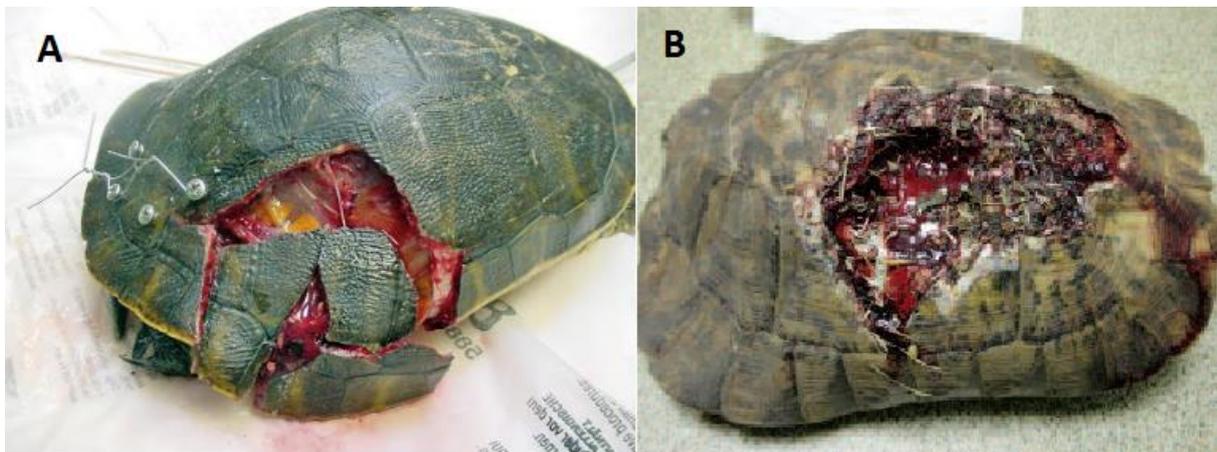
Le traitement d'une fracture de la carapace passe dans un premier temps par la stabilisation de l'état de santé de la tortue : arrêt des saignements, traitement du choc par réhydratation et injection de corticoïdes par voie veineuse. Des antibiotiques sont administrés par voie générale dans un second temps, de préférence après culture bactériologique et antibiogramme.

Après la stabilisation du patient, la prise en charge thérapeutique d'une fracture de la carapace passe obligatoirement par une chirurgie.

Dans le cas d'une « plaie propre » (plaie de moins de 6 heures et non contaminée), la chirurgie commence par un nettoyage de la plaie avec une solution antiseptique type VétédineND et un retrait des petits fragments de carapace dévitalisés et d'éventuels corps étrangers. Les différents morceaux de carapaces sont alors suturés par un cerclage métallique à l'aide de fil d'acier ou par l'apposition d'une plaque et/ou de vis osseuses. Le matériel d'ostéosynthèse ainsi utilisé devra être laissé en place au moins deux ans pour assurer une cicatrisation complète (Smith et Barker, 1988).

Lors de fracture avec perte de substance, il est souvent nécessaire de réaliser une prothèse de carapace. Cette prothèse est effectuée grâce à un grillage de fer sur lequel est collée une feuille de fibre de verre. On applique ensuite sur cette feuille de verre une résine à polymérisation de type époxy ou SyntoferND (Firmin, 1997). Dans le cas des tortues aquatiques, il est obligatoire de garder la tortue au sec durant toute la durée de la polymérisation de la résine (Harvey-Clark, 1997).

Dans le cas d'une plaie contaminée (plaie de plus de 6 heures, par morsure de chien ou par un autre moyen contaminé), il est recommandé de ne pas « enfermer » les bactéries en réalisant une résine. Dans ce cas, des pansements quotidiens à l'aide de compresses stériles imbibées de pommade antibiotique sont appliqués durant plusieurs jours avant de reconstruire la carapace. Les tortues aquatiques sont alors gardées au sec, et sont baignées une seule fois par jour dans un aquarium propre pour se nourrir jusqu'à la reconstruction de la carapace (Harvey-Clark, 1997).



Photographie 8 : Deux types de fracture de la carapace :

- A : fracture sans perte de substance chez une tortue de Floride (*Pseudemys floridana*) (Source : Mader et Divers, 2013)
- B : fracture avec perte de substance chez une tortue grecque (*Testudo graeca*) (Source : Bulliot, 2006)

2.2.1.2. *Érosion du plastron*

Cette affection, décrite majoritairement chez les tortues terrestres, est néanmoins présente chez les tortues d'eau. Elle survient surtout chez des tortues affaiblies ou dont l'environnement présente un sol particulièrement abrasif. Cette affection est aussi rencontrée dans le cas de tortues en hivernage dont le plastron a été creusé par des invertébrés du sol (*Frye, 1991*).

Le traitement est alors dans un premier temps environnemental avec un changement de sol. Le plastron doit être désinfecté deux fois par jour avec une solution antiseptique type VétédineND et avec des antibiotiques par voie topique, de préférence après une mise en culture bactérienne couplée à un antibiogramme. Pour les lésions très profondes (touchant l'ostéoderme sous-jacent), il est recommandé de mettre en place une résine protectrice (*Firmin, 1997*).

2.2.2. Affections nutritionnelles

(*Schilliger, 2000 ; Firmin, 2004*)

Les affections nutritionnelles sont fréquentes en captivité. Les besoins nutritionnels particuliers des reptiles, couplés bien souvent à l'ignorance des propriétaires, sont des facteurs expliquant la fréquence régulière de ces affections. Notons que ces pathologies n'ont pour le moment jamais été observées dans la nature (*Schilliger, 2000*).

2.2.2.1. *Hypovitaminose A*

Cette affection est due à une carence alimentaire en vitamine A (aussi appelée rétinol). Elle est fréquente notamment chez la jeune tortue avec un régime alimentaire hyperprotéique, qui entraîne un appauvrissement rapide du stock néonatal de rétinol. Cette pathologie s'observe le plus souvent chez les tortues aquatiques, bien que certains cas aient été décrits chez des lézards (*Stahl, 1998*).

L'œdème bilatéral des paupières constitue le principal signe clinique de l'hypovitaminose A, pouvant entraîner une blépharite et/ou une conjonctivite à l'origine d'une cécité partielle ou

totale. D'autres signes cliniques apparaissent plus tardivement : anorexie, léthargie, abcès auriculaire, sifflement et jetage. Des signes cutanés peuvent être associés, à savoir des ulcères cutanés au niveau des membres et de la tête ainsi qu'une dyskératose avec décoloration et chutes d'écaillures sur la carapace (*Elkan et Zwart, 1967*). Des infections secondaires au niveau des yeux et du tractus respiratoire sont fréquentes.

La pathogénie de cette affection tient dans le fait que la vitamine A joue un rôle important dans l'intégrité des tissus épithéliaux, particulièrement au niveau des muqueuses oculaire et respiratoire. Sa carence entraîne une métaplasie squameuse des épithéliums affectant leur fonctionnement (notamment par diminution des sécrétions glandulaires) et leurs mécanismes de défense contre les infections.

Le diagnostic est clinique et repose sur l'anamnèse et l'observation des lésions types. L'examen histologique des lésions montre une métaplasie et une hyperkératose des cellules squameuses (*Hoppmann et Barron, 2007*).

Le traitement repose sur l'administration de rétinol *per os* à une posologie de 2000 UI/kg une fois par semaine pendant un mois et correction du régime alimentaire. En cas de stade avancé et/ou d'anorexie, l'administration peut se faire par voie sous-cutané ou intra-musculaire, à la dose de 300 UI/kg par injection unique (*Carpenter, 2012*). Une antibiothérapie adaptée aux résultats de l'antibiogramme doit être mise en place en cas de complication bactérienne, d'otite (après curetage chirurgicale de l'abcès) ou de signes respiratoires.

La prévention de cette maladie s'appuie sur un régime alimentaire équilibré. Chez les tortues aquatiques, l'utilisation de proies entières, ou à défaut d'huile de foie de morue est recommandée pour fournir une quantité suffisante de vitamine A (*Schilliger, 2000*).

2.2.2.2. Hypervitaminose A

A l'inverse de l'hypovitaminose A, l'hypervitaminose A est due à un excès de rétinol. Le plus souvent iatrogène, cette affection n'est jamais due à un excès alimentaire, mais plutôt à de trop fortes quantités de vitamine A injectable (dose toxique au-delà de 10 000 UI/kg selon *Harkewicz, 2002*).

Lors d'hypervitaminose A, on observe une xérodémie¹ avec décollement de la peau en lambeaux, une hyperkératose ainsi qu'une possible pyodermite bactérienne lors de surinfection (*Hoppmann et Barron, 2007*).

Le traitement repose sur l'arrêt des injections de rétinol et sur une désinfection locale des lambeaux de peau avec une solution antiseptique. Lors de surinfection, un traitement

¹ Xérodémie : assèchement anormal de la peau (*Harkewicz, 2002*).

antibiotique local ou par voie général doit être instauré après culture bactérienne et réalisation d'un antibiogramme.

La prévention de cette affection repose sur une bonne prise en charge de l'hypovitaminose A : l'injection de rétinol ne doit être effectuée qu'en cas d'échec thérapeutique lors de son utilisation *per os* ou lors de cas sévère. Notons qu'il n'est pas nécessaire de traiter une tortue terrestre avec de la vitamine A injectable : les caroténoïdes contenus dans la plupart des légumes de son régime alimentaire suffisent généralement à lui fournir un apport régulier en rétinol (*Mautino et Douglas Page, 1993*).

2.2.2.3. Ostéofibrose nutritionnelle

(*Klaphake, 2010*)

L'ostéofibrose nutritionnelle, aussi appelée maladie osseuse métabolique (« metabolic bone disease »), est due à un déséquilibre phosphocalcique de la ration alimentaire. La plupart des fruits et légumes (salade, tomate, banane ...) sont riches en phosphore et pauvres en calcium. Les poissons, quant à eux, sont très riches en phosphore et les insectes, même lorsqu'ils possèdent un exosquelette chitineux, sont très pauvres en calcium (*Wallach, 1971*). L'utilisation exclusive de ces aliments comme nourriture pour reptiles entraîne une diminution du rapport phosphocalcique, qui doit normalement être compris entre 1 et 2.

Cette affection peut aussi être causée par un carence en vitamine D₃ lorsque l'exposition de l'animal aux rayons UV est insuffisante. Elle est alors appelée « rachitisme » (*De Matteis, 2004*).

Ce trouble est présent chez la plupart des reptiles : les herbivores recevant une alimentation trop riche en phosphore, les carnivores ayant un régime exclusivement carné, ou encore les animaux maintenus en captivité sans lampe UV.

Le mécanisme physio-pathogénique de l'ostéofibrose nutritionnelle passe par une hyperparathyroïdie secondaire. En effet, le manque de calcium entraîne forcément une hypocalcémie ; de même, une augmentation de la quantité de phosphore dans l'organisme entraîne une augmentation de l'excrétion urinaire de phosphore sous forme de phosphate de calcium, et donc une hypocalcémie secondaire. Enfin, l'absence d'exposition aux rayons UV ne permet pas une synthèse suffisante en vitamine D₃, entraînant une diminution de l'absorption intestinale de calcium et donc une hypocalcémie. Cette hypocalcémie provoque

une sécrétion anormalement élevée de parathormone, entraînant entre autres une déminéralisation des os de la carapace.

On observe alors des déficits moteurs directs par manque de calcium, parfois accompagnés de trémulations musculaires. Puis, chez les chéloniens, la carapace perd sa rigidité et se déforme : elle prend alors une forme aplatie en « toit de maison chinoise » (cf. Photographie 9).



Photographie 9 : Ostéofibrose nutritionnelle chez une tortue de Floride (*Trachemys scripta*, var. *elegans*) (source : Saint-Raymond Moynat, 2009)

Enfin, après épuisement des réserves calciques de l'organisme, la tortue devient anorexique, léthargique. On note alors une faiblesse généralisée pouvant aller jusqu'à la paralysie totale des quatre membres et la mort de l'animal.

Le diagnostic est dans un premier temps clinique : une ration alimentaire déséquilibrée et une carapace molle doivent orienter le clinicien vers cette pathologie. Une radiographie montre une diminution généralisée de la densité osseuse du squelette et de la carapace, ainsi qu'un amincissement de la corticale des os. L'analyse biochimique révèle une calcémie normale à diminuée et une phosphatémie normale à augmentée. Enfin, un examen histologique des tissus osseux montre un amincissement des corticales ainsi qu'une infiltration par des fibroblastes.

Le traitement repose sur une complémentation en carbonate de calcium et en vitamine D₃ par voie orale (Mehler et Bennett, 2003). Dans les cas plus graves, il est possible d'injecter par voie sous-cutanée ou intramusculaire une dose de gluconate de calcium 10% à la dose de 1 mL/kg deux à trois fois par semaine (Saint-Raymond Moynat, 2009). De la calcitonine peut également être administrée à la dose de 50 UI/kg par deux injections intramusculaires

espacées de 14 jours, mais uniquement en association avec une supplémentation en calcium et si la calcémie est normale (*Carpenter, 2012*). En plus de ce traitement, une alimentation équilibrée doit être donnée, avec si besoin une complémentation pour l'alimentation des proies. Enfin, le milieu de vie doit comporter une lampe UV.

Le pronostic est bon si le traitement est effectué tôt. Cependant, si l'ostéofibrose nutritionnelle est installée depuis longtemps, l'hyperparathyroïdie et ses conséquences sur la carapace sont irréversibles.

2.2.2.4. *Ostéodystrophie hypertrophique*

L'ostéodystrophie hypertrophique (ou « hypertrophique ») est une affection courante chez les tortues terrestres de grande taille qui se rencontre aussi chez les tortues d'eau. Elle est caractérisée par une croissance verticale de la dossière, donnant à la carapace une forme caractéristique en pyramide (d'où le nom de « pyramiding » en anglais).

La cause exacte n'a jamais été mise en évidence, cependant, de nombreux auteurs rapportent une origine alimentaire : alimentation trop riche en protéines durant la croissance (*Jacobson, 1994*), une croissance trop rapide ou encore un déséquilibre de l'alimentation en vitamines et oligo-éléments (*Stancel, Dierenfeld, et Schoknecht, 1998 ; Roskopf et Shindo, 2003 ; Mc Williams, 2005*).

La correction du régime alimentaire est souvent recommandée en cas d'ostéodystrophie hypertrophique, mais les déformations de la carapace sont définitives.

2.2.3. Affections parasitaires

De très nombreux parasites existent chez les reptiles.

Chez les populations sauvages, ces parasitoses, bien que fréquentes, sont généralement peu ou non pathogènes. En revanche, chez les reptiles en captivité, la parasitose devient souvent pathogène en raison du stress dû à plusieurs facteurs comme la surpopulation, les mauvaises conditions environnementales, le transport ...

La plupart des parasites des tortues d'eau sont des endoparasites, sans action pathogène sur la carapace. Au final, il existe relativement peu de parasitoses cutanées chez les tortues dulçaquicoles.

2.2.3.1. Les plathelminthes

Certaines espèces de l'embranchement des Plathelminthes (ou Platyhelminthes), plus particulièrement du sous-ordre des Temnocephalida (classe des Turbellariés, ordre des Neorhabdoceola) peuvent parasiter des organismes aquatiques comme les tortues, des mollusques et des crustacés. L'espèce *Temnocephala brevicornis* est la plus fréquemment rencontrée chez les tortues d'eau (Bourdeau, 1988), bien que cette espèce soit souvent confondue avec d'autres espèces proches parasitant aussi les tortues (Volonterio, 2010).

Le corps de ce ver est non segmenté et mesure de 0,1 à 0,2 mm de long. Il ne possède pas de tube digestif. *Temnocephala brevicornis* effectue l'intégralité de son cycle fixé sur la peau de son hôte, le plus souvent sur la queue ou le plastron, grâce à sa ventouse discoïdale (Volonterio, 2010). C'est un parasite commensal des tortues, il n'a pas de rôle pathogène.

Bien que fréquemment présents dans la vessie, les sacs conjonctivaux ou le pharynx des tortues (Héritier et al., 2015), certains polystomes du genre *Polystomoidella* se fixent parfois sur la carapace des tortues dulçaquicoles, sans entraîner de pathologie. Ce parasitisme a notamment été décrit chez des tortues nord-américaines (Bourdeau, 1988).

2.2.3.2. Sangsues

Les sangsues sont des parasites appartenant à l'embranchement des Annélides, classe des Hirrudinés. Leur corps est aplati dorso-ventralement, annelé, et ne possède pas de soie mais deux ventouses à chaque extrémité s'ouvrant sur une cavité générale. Deux genres sont retrouvés chez les tortues d'eau douce et de mer : les genres *Ozobranchus* et *Placobdella* (Jacobson, 2007).

Les sangsues du genre *Ozobranchus* sont des parasites de la famille des Ichthyobdellidés, caractérisée par un somite¹ moyen composé d'un nombre variable d'anneaux, par la présence d'un isthme dans la partie antérieure du corps formant une sorte de « cou » et par le dépôt des cocons sur des corps étrangers (Davies, 1978). Il existe trois espèces importantes : *Ozobranchus margo* et *Ozobranchus branchiatus* chez les tortues de mer, et *Ozobranchus shiplei* chez les tortues d'eau douce.

Les sangsues du genre *Ozobranchus* ne sont pas commensales et possèdent un réel rôle pathogène. Certains auteurs notent une infestation massive de tortues marines (transportant parfois plus de 1 000 sangsues), causant une spoliation sanguine menant à la mort de l'individu (Bunkley-Williams et al., 2008). De plus, la fixation de ces parasites engendre sur

¹ Somite : ensemble des anneaux compris entre deux anneaux papillifères (Saint-Raymond Moynat, 2009).

la carapace des lésions pouvant se surinfecter, causant une pathologie nommée « sea turtles leech erosion disease » (SLED) par *Bunkley-Williams et al., 2008*. Enfin, *O. branchiatus* et *O. margoi* constituent les principaux vecteurs du virus responsable du fibropapillome, ou FPTHV pour fibropapilloma-associated turtle herpesvirus, (cf. « 2.2.6.1 : Fibropapillomatose ») (*McGowin et al., 2011 ; Rodenbusch et al., 2012*). L'action spoliatrice d'*Ozobranchus shipleyi* est aussi décrite chez les tortues dulçaquicoles. De plus, cette sangsue constitue un vecteur d'hémogrégarines (notamment *Haemogregarina nicoriae*) (*Paterson et Dessler, 1976 ; Greenblatt et al., 2004*). Les hémogrégarines sont des parasites intra-érythrocytaires de l'embranchement des *Apicomplexa*, généralement non pathogènes chez les tortues mais pouvant entraîner une anémie et des granulomes dans le foie, les poumons et la rate lors d'infestation massive (*Telfort, 1984*).

Les sangsues du genre *Placobdella* appartiennent à la famille des Glossosiphonidés, caractérisée par un somite moyen constitué de 3 anneaux, une bouche située sur la lèvre antérieure de la ventouse, une couvaïson des œufs et le port des petits sur la face ventrale de la mère (cf. Photographie 10 : Cistude parasitée par une sangsue du genre *Placobdella* (crédit : Z. Owen-Jones) (*Siddall, Budinoff, et Borda, 2005*). Ces sangsues se retrouvent surtout sur les parties molles des tortues, mais leur présence sur la carapace n'est pas rare selon *Siddall et Gaffney, 2004*. Chez la cistude d'Europe, on retrouve surtout l'espèce *Placobdella costata*. La présence de cette sangsue est positivement corrélée à la taille et au poids de la tortue hôte (*Brooks, Galbraith, et Layfield, 1990*). Cette observation explique la fixation préférentielle des sangsues sur les femelles, dont la carapace est plus grande que celle des mâles et des juvéniles (*Bielecki et al., 2012*).



Photographie 10 : Cistude parasitée par une sangsue du genre *Placobdella* (crédit : Z. Owen-Jones)

Le rôle spoliatif de ces sangsues est minime car peu de « super-infestations » sont décrites dans la nature. Cependant, comme leurs cousines du genre *Ozobranchus*, les sangsues du genre *Placobdella* créent des lésions sur la carapace lors de leur fixation, souvent sous formes de petites pertes de substances multiples (« pitting lesions »). Bien qu'aucune étude sur l'activité enzymatique de leur salive n'ait jamais validé cette hypothèse, il est possible que ces sangsues soient capables de digérer la kératine et de décalcifier les ostéodermes des tortues afin de récupérer leur sang grâce à leurs enzymes salivaires (*Siddall et Gaffney, 2004*). De plus, ces sangsues sont aussi des vecteurs d'hémogrégarines, causant les mêmes lésions que chez les tortues parasitées par les sangsues du genre *Ozobranchus* (*Paterson et Dessler, 1976 ; Siddall et Dessler, 1991*).

Un traitement est possible en cas d'infestation par des sangsues. Après les avoir tué avec de l'alcool à 90° ou du vinaigre, les sangsues peuvent être décrochées de la carapace. S'il s'agit de tortues de mer, plusieurs séjours de 24h dans de l'eau douce suffisent à tuer les sangsues.

Les lésions créées doivent ensuite être nettoyées avec une solution antiseptique afin d'éviter les surinfections.

Enfin, une désinfection du bassin avec une solution de sulfate de cuivre à 10 mg/mL d'eau doit être effectuée durant deux jours afin de tuer les œufs, les cocons et les adultes (*Bourdeau, 1988*).

2.2.3.3. Mycoses

(*Jacobson, Cheatwood, et Maxwell, 2000*)

Les mycoses sont des pathologies fréquentes chez les reptiles, notamment chez les tortues d'eau douce.

Les champignons les plus souvent incriminés regroupent les espèces des genres *Aspergillus*, *Fusarium*, *Geotrichium*, *Microsporum*, *Mucor*, *Penicillium*, *Trichophyton*, *Trichosporon*, et *Candida* (*Harkewicz, 2002*). La plupart de ces espèces sont connues pour être des champignons saprobes¹ du sol. On les retrouve le plus souvent comme organismes commensaux des tortues. Ceci s'explique par le mode de vie des tortues : leur proximité avec le sol permet aux champignons saprobes de s'installer sur leur carapace (*Saint-Raymond Moynat, 2009*).

¹ Saprobe : se dit d'un organisme vivant en se nourrissant des éléments organiques en décomposition du sol.

Dans des conditions environnementales optimales, les écailles, grâce à leur structure fortement kératinisée, ne constituent pas un milieu propice à la prolifération de champignons. Cependant, dans des conditions de détention défavorables, les mycoses peuvent apparaître, notamment en cas d'épiderme trop sec chez les tortues aquatiques. Une mauvaise température du milieu de vie, une surpopulation, l'introduction de nouveaux individus sans quarantaine et tout facteur de stress favorisent l'apparition d'une mycose (*Hoppmann et Barron, 2007*). Chez les tortues d'eau, une filtration insuffisante de l'eau augmente le risque d'apparition d'une mycose cutanée (*Jacobson et al., 1980*).

En plus de ces facteurs favorisant, les mycoses se développent le plus souvent après une lésion primaire de la carapace. Cette lésion peut être d'origine bactérienne ou traumatique. Notons que les tortues à carapace molle sont particulièrement prédisposées aux mycoses, leur carapace étant facilement abrasée ou éraflée (*Harkewicz, 2002*).

Les mycoses cutanées forment deux types de lésions (*Saint-Raymond Moynat, 2009*) :

- La mycose cutanée nodulaire : elle se traduit par l'apparition de nodules cutanés dont l'examen histologique révèle la présence de collagène, de macrophages, de granulocytes éosinophiliques, de cellules géantes et d'éléments fongiques comme des filaments mycéliens et des hyphes.
- La dermite mycosique : elle est caractérisée par l'apparition de pertes de substances, d'œdèmes sous-cutanés ou de vésicules évoluant en lésions croûteuses de couleur marron (*Par et al., 1997*). Cette pathologie, lorsqu'elle entraîne des lésions de perte de substance, entre dans le SUC (*cf. Photographie 11*).

Ces deux pathologies différentes ont été observées sur des carapaces de tortues dulçaquicoles.

La mycose cutanée nodulaire entraîne l'apparition de nodules plus ou moins étendus sous les écailles de la carapace, caractérisés par leur couleur blanche (*Duguy, Moriniere, et Le Milinaire, 1998 ; Lafortune et al., 2005*). Notons que *Saint-Raymond Moynat, 2009* (citant *Schilliger, 1990*), caractérise les espèces du genre *Saprolegnia* comme étant souvent responsables de plaques blanchâtres sous les écailles de la carapace des tortues dulçaquicoles. Des agents du genre *Fusarium* ont aussi été incriminés (*Rose et al., 2001*).

Cependant, la plupart des cas traitant de mycose de la carapace des tortues d'eau rapportent des lésions de perte de substance évoquant plutôt une dermite mycosique (*Jacobson et al., 1980 ; Cabañes et al., 1997 ; Par et al., 1997 ; Jacobson, Cheatwood, et Maxwell, 2000*).



*Photographie 11 : Dermite mycosique chez une tortue dulçaquicole
(source : Saint-Raymond Moynat, 2009)*

Le diagnostic est orienté dans un premier temps par la présentation clinique ; cependant, il est impossible d'identifier à première vue la cause d'une lésion appartenant au SUC (champignon, bactérie, affection traumatique ...). De plus, une simple observation ne permet pas de différencier une mycose cutanée nodulaire d'un abcès ou d'un granulome mycobactérien.

Le diagnostic passe donc par une mise en culture sur un milieu spécifique (gélose de Sabouraud), à une température comprise entre 28 et 37°C, pendant au moins huit jours, la croissance des colonies étant lente (*Divers et Mader, 2005*).

Cependant, la mise en évidence de la présence d'un champignon sur un prélèvement cutané est difficile à interpréter du fait du caractère commensal de la plupart des espèces. Le diagnostic de certitude passe alors par son association avec un examen histologique mettant en évidence des éléments fongiques (*Lafortune et al., 2005*). Enfin, il est conseillé d'effectuer aussi une mise en culture bactérienne, les problèmes fongiques étant le plus souvent associés à des infections bactériennes (*Chitty et Raftery, 2013*). En revanche, il est impossible de savoir quelle est la pathologie primaire lors de co-infestation.

Le traitement passe dans un premier temps par la correction des facteurs environnementaux prédisposant aux mycoses. Ainsi, en corrigeant uniquement les conditions environnementales, *Jacobson, 1980* a mis en évidence une disparition totale des signes cliniques en deux mois chez un serpent des blés (*Pantherophis guttatus*) présentant une mycose à *Geotrichum* sp.

Pour une guérison plus rapide, il est recommandé de mettre en place un traitement médicamenteux. Ce traitement se fera en deux étapes :

- Traitement topique : il est particulièrement recommandé lors de dermatite mycosique. Une désinfection locale doit être effectuée deux à trois fois par jour. La polyvidone iodée est en générale suffisante, bien que certains auteurs recommandent l'utilisation de vert de malachite ou de permanganate de potassium dilué (*Jacobson et al., 1980*). L'utilisation d'agents anti-fongiques comme la nystatine ou les dérivés de l'imidazole (kétoconazole, énilconazole ou clotrimazole) en application locale est également préconisée. Les tortues devront être gardées au sec au moins une demi-heure après l'application du traitement local (*Saint-Raymond Moynat, 2009*).
- Traitement systémique : il doit être mis en place en association avec le traitement topique pour observer une disparition totale des signes cliniques. On peut utiliser le kétoconazole à 25 mg/kg *per os* une fois par jour pendant trois semaines. De la nystatine à 100 000 UI/kg *per os* une fois par jour pendant 10 jours peut aussi être administrée, cependant, le résultat est parfois décevant (*Carpenter, 2012*). L'utilisation de la griséofulvine n'est pas recommandée car elle n'est active que sur les dermatophytes. De plus, des réactions paradoxales allant jusqu'à la mort des animaux ont été observés par certains auteurs (*Jacobson, 1980*).

Enfin, en plus du traitement médicamenteux, *Lafortune et al., 2005* recommandent de faire prendre des bains de 15 minutes une fois par jour avec de l'eau salée aux tortues présentant des lésions fongiques.

2.2.3.4. Algues

De nombreuses algues ont été décrites sur les carapaces des tortues aquatiques, notamment sur la cistude d'Europe. Des espèces d'algues appartenant à de nombreux phylums ont été mises en évidence : les tortues colonisées par des algues hébergeraient environ une cinquantaine d'espèces différentes (*Soylu et al., 2006 ; Olivier et al., 2014 ; Ersanli et Gonulol, 2015*), mais on retrouve plus communément des algues des genres *Dermatophyton* et *Basicladia* (*Ersanli et Gonulol, 2015*). Les algues fixées sur la dossière sont plutôt des chlorophytes, utilisant l'énergie des rayons lumineux, alors que l'on retrouve plus de xanthophytes sur le plastron (*Fayolle et al., 2016*).

Toutes les études s'accordent sur le fait que le développement algal serait corrélé à une eutrophisation du milieu de vie. Aucun rôle pathogène n'a pour le moment été mis en évidence dans la nature, même si l'impact de ces algues sur la respiration cutanée lors de l'hivernage n'a pas encore été évalué. Au contraire, il existerait une potentielle symbiose entre

la tortue et « ses » algues, ces dernières profitant de la capacité de leur hôte à se déplacer, et les tortues utilisant les algues comme moyen de camouflage (*Ersanli et Gonulol, 2015*).

Le caractère pathogène des algues a cependant été étudié chez les tortues dulçaquicoles domestiques. La bibliographie mentionne surtout des algues de la famille des Cladophorales comme *Dermatophyton* sp. se développant sur la carapace, lui donnant un aspect verdâtre et luisant. Ces algues peuvent provoquer un décollement des écailles, une nécrose cutanée, et, en cas de super-infestation, entraîner la mort de l'individu. De plus, les lésions causées à la carapace peuvent constituer une porte d'entrée pour différents pathogènes (bactéries, champignons) (*Divers et Mader, 2005*).

Le traitement repose sur le retrait des algues à l'aide d'une brosse souple comme une brosse à dents, avant l'application d'une solution antiseptique comme de la polyvidone iodée. Pour prévenir cette affection, il est utile de retirer les algues fixées sur la carapace au fur et à mesure de leur apparition. Des mesures préventives, comme la filtration de l'eau et le bon entretien de l'aqua-terrarium, peuvent éviter le développement d'algues sur la carapace des tortues dulçaquicoles (*Divers et Mader, 2005*).



Photographie 12 : Algues vertes sur la dossière d'une cistude d'Europe dans la Réserve Naturelle de Chérine
(Crédit : Z. Owen-Jones)

2.2.3.5. *Spirorchides*

(*Wolke, Brooks, et George, 1982 ; Johnson et al., 1998 ; Divers et Mader, 2005*)

Les trématodes de la famille des spirorchides sont des vers digènes retrouvés notamment dans le système vasculaire des reptiles, et plus particulièrement chez les chéloniens. *Spirorchis scriptae* fut la première espèce décrite chez les tortues en 1923 (*Stunkard, 1923*). Au total, il existe 16 genres différents de spirorchides affectant les tortues.

L'infestation est effectuée par la pénétration de cercaires par voie transcutanée, créant parfois une légère irritation de la zone d'entrée. Les cercaires vont alors se développer dans le cœur de la tortue (ou dans les vaisseaux mésentériques pour *Spirorchis parvus* selon *Johnson et al., 1998*) et donner des adultes producteurs d'œufs. Les œufs sont relargués dans le système vasculaire de la tortue, et vont migrer au fil du courant sanguin. Certains œufs vont se retrouver coincés dans les artérioles terminales, certains vont pouvoir passer la paroi vasculaire et se retrouver dans le parenchyme de différents organes ; d'autres vont passer la barrière intestinale et être éliminés dans les fèces. Le reste du cycle diffère selon les espèces, mais toutes utilisent un mollusque aquatique comme premier hôte intermédiaire, puis un second hôte intermédiaire (*Pieper, 1953 ; Goodchild et Kirk, 1960 ; Holliman et Fisher, 1968 ; Gagno, Petter, et Bouamer, 2006*). La période prépatente de ces parasites varie de six semaines à quatre mois en fonction de l'espèce.

Le mécanisme pathogénique de ce parasite est causé à la fois par les adultes et les œufs.

La présence d'adultes dans les vaisseaux sanguins entraîne une vascularite ainsi que la formation de thrombi.

Certains adultes et certains œufs sont capables de traverser la paroi vasculaire, et vont alors causer une inflammation, une hémorragie locale ainsi que la formation d'un granulome au niveau de l'organe touché. Ces lésions sont à l'origine de symptômes généraux comme une anorexie et une léthargie conduisant à terme à la mort de la tortue. Des symptômes plus particuliers peuvent survenir en fonction de l'organe atteint : on observe par exemple de nombreux cas de pneumonie bactérienne secondaire en cas de granulomes dans les poumons (*Divers et Mader, 2005*). *Johnson et al., 1998* ont observé des troubles du déplacement associés à une hémiplégie chez des tortues dulçaquicoles dont le cerveau était infesté d'œufs de spirorchides.

Une action débilitante a aussi été mise en évidence lors du passage des œufs ou des adultes à travers les vaisseaux ou le parenchyme des organes atteints. Les lésions ainsi créées offrent

une porte d'entrée pour les bactéries (*Holliman, Fisher, et Parker, 1971*). Les surinfections constituent généralement la cause finale du décès des tortues.

Lorsque les œufs se retrouvent coincés dans les vaisseaux sanguins sous-cutanés, on observe une nécrose ischémique de l'épiderme par obstruction vasculaire. La peau et la carapace peuvent alors se nécroser et s'ulcérer, créant ainsi des lésions entrant dans le diagnostic différentiel du SUC (*Lovich et al., 1996 ; Garner et al., 1997*). Par ailleurs, la présence de spirorchides serait positivement corrélée à l'apparition de fibropapillomes chez les tortues de mer (*Dailey et Morris, 1995*).

Le diagnostic repose sur l'observation d'œufs dans les fèces ou au sein des organes lors de l'autopsie, les adultes étant difficile à voir lors de l'autopsie (*Conboy et al., 1997*).

L'administration de praziquantel est recommandée pour sa sûreté chez les reptiles, ainsi que pour sa capacité à passer la barrière vasculaire (*Johnson et al., 1998*). La dose de 8 mg/kg PO, SC ou IM deux fois à deux semaines d'intervalle, recommandée par certains auteurs, semble donner des résultats parfois décevants (*Carpenter, 2012*). Une dose de 25 à 50 mg/kg PO trois fois à trois heures d'intervalle semble donner de très bons résultats chez les tortues de mer (*Jacobson et al., 2003 ; Carpenter, 2012*). L'administration de cet antiparasitaire doit être suivi d'un examen coprologique afin de juger de l'efficacité du traitement.

2.2.4. Affections bactériennes de la carapace

Les affections bactériennes de la carapace des tortues d'eau sont relativement fréquentes (*Orós et al., 2005*). Parmi celles-ci, on peut distinguer les affections de la carapace à proprement parler des affections générales à l'origine de lésions sur la carapace. Dans cette partie, nous développerons la première catégorie.

Les affections bactériennes de l'épiderme des reptiles sont souvent secondaires à une lésion primaire du tégument, formant une « porte d'entrée » pour les pathogènes (*Ladyman et al., 1998*). Par exemple, certains auteurs rapportent que les brûlures, si elles ne sont pas rapidement prises en charge, aboutissent dans tous les cas à une surinfection bactérienne (*Hoppmann et Barron 2007*). De plus, ces affections sont dans la plupart des cas favorisées par de mauvaises conditions environnementales, comme une température ou une hygrométrie inadaptée, ou encore un nettoyage irrégulier de l'aquarium dans le cas des tortues dulçaquicoles (*Harkewicz, 2002*). Ces affections peuvent engendrer de nombreux types de

lésions, comme des ulcérations, des abcès et pyogranulomes, un érythème, une nécrose ...
(Bour, 2012)

Dans la plupart des cas, les agents mis en cause sont des bactéries commensales du tube digestif et des cavités buccales et nasales des tortues, qui deviennent pathogènes lorsqu'elles colonisent un tégument lésé et/ou dans des conditions affectant les défenses immunitaires de l'hôte (Dickinson et al., 2001 ; Santoro et al., 2006 ; Ferronato et al. 2009).

2.2.4.1. Dermatite superficielle

(Harvey-Clark, 1997)

La dermatite superficielle est due à la colonisation d'une lésion de l'épiderme par des bactéries, le plus souvent à gram négatif, telles que les espèces des genres *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Citrobacter*, *Morganella*, *Proteus*, *Serratia*, *Klebsiella*. De manière plus sporadique, des bactéries du genre *Streptococcus* sont parfois isolées (Jacobson, 1994). Cette pathologie est fréquente, notamment chez les tortues dulçaquicoles lors de contamination fécale du milieu de vie, entraînant une augmentation de la charge environnementale en bactéries.

Cette colonisation de l'épiderme va entraîner l'apparition de lésions ulcératives sur la carapace et/ou les membres, avec un aspect feuilleté des écailles touchées. On note alors une coloration blanchâtre des lésions, notamment au niveau de la jonction entre les écailles. Les bactéries peuvent aussi coloniser la matrice des griffes, entraînant une augmentation de leur fragilité et à terme leur chute, ou encore les conjonctives des yeux, provoquant ainsi une conjonctivite. Enfin, Ladyman et al., 1998 a observé une dermatite superficielle à *Pseudomonas* dans une colonie de tortues *Pseudemys umbrina*. Les individus immatures ont alors développé une septicémie à l'origine de symptômes généraux, comme une anorexie et une léthargie ayant entraîné à terme leur décès.

Le traitement consiste dans un premier temps à corriger les conditions environnementales défavorables, en améliorant notamment la qualité de l'eau et en retirant les éléments abrasifs du décor à l'origine des plaies primaires. La correction des facteurs environnementaux suffit parfois à observer la guérison complète de la dermatite (Ladyman et al., 1998). Cependant, la guérison est souvent plus rapide lorsque cette correction est associée à une désinfection biquotidienne des lésions avec une solution antiseptique.

2.2.4.2. *Abcès et pyogranulomes*

Les abcès sous-cutanés et cutanés ainsi que les pyogranulomes sont eux aussi relativement fréquents chez les reptiles. Ils sont la plupart du temps consécutifs à une plaie primaire, ou encore à une hypovitaminose A pour les abcès auriculaires chez les chéloniens. Une mauvaise qualité de l'eau est ici aussi un facteur prédisposant (*Jacobson, 2007*). De très nombreux germes peuvent être impliqués, seuls ou en association.

Les abcès et pyogranulomes se présentent sous forme de masses sphériques, non douloureuses, bien délimitées et rarement adhérentes aux plans sous-jacents. Le pus, encapsulé dans une coque fibreuse, est jaune blanchâtre, parfois hémorragique, et de consistance très épaisse voire dure, bien que des abcès fluctuants soient parfois observés (*Rival, 2001*). Chez les chéloniens, on les retrouve le plus souvent au niveau des membres, de la jonction peau-carapace, de l'oreille moyenne et sous le plastron. Notons que les abcès et pyogranulomes profonds peuvent entraîner une ostéomyélite (*Divers et Mader, 2005*). De même, il arrive que les abcès dégénèrent en septicémie, cependant, cette complication est rare chez les reptiles car leur processus d'inflammation entraîne une immobilisation du pathogène au site d'infection (*Huchzermeyer et Cooper, 2000*).

Les abcès sont formés lors de l'afflux de leucocytes au cours de la pénétration d'un pathogène sous la peau. L'exsudation de fibrine emprisonne alors les bactéries et les leucocytes au point d'inoculation, et une légère réaction granulomateuse se forme autour de cet abcès.

Si les pathogènes sont éliminés de manière incomplète, on observe une réaction inflammatoire chronique avec exsudation continue de fibrine et exacerbation de la réaction granulomateuse. L'abcès se transforme alors en pyogranulome (ou « fibrinose » en anglais), masse à croissance continue qui peut alors facilement être confondue avec une tumeur (d'où son autre nom de « pseudo-tumeur ») (*Huchzermeyer et Cooper, 2000*).

Le diagnostic est orienté par l'observation clinique d'une masse suite à une plaie, mais le diagnostic de certitude repose sur l'analyse histologique couplé à une mise en culture bactériologique. Notons qu'il est inutile de réaliser une ponction vu le caractère très épais du pus. Par ailleurs, un examen radiologique est conseillé pour mettre en évidence une éventuelle ostéomyélite.

Lorsque l'abcès ou le pyogranulome se développe sur la carapace, le diagnostic différentiel regroupe la mycobactériose (cf. « 2.2.5.6 : *Mycobactériose* »), la dermatophylose (cf. « 2.2.4.3 : *Dermatophylose* »), la mycose cutanée nodulaire (cf. « 2.2.3.3 : *Mycoses* ») et une affection tumorale (cf. « 2.2.6.1 : *Fibropapillomatose* » et « 2.2.7 : *Tumeurs non viro-induites* »).

Le traitement est à la fois médical et chirurgical.

Il est nécessaire de débrider l'abcès sous anesthésie locale ou générale. Dans le cas d'un abcès fluctuant, un curetage et une désinfection à l'aide d'une solution antiseptique est suffisant. Pour un abcès solide, une ablation de la coque fibreuse est nécessaire. Lorsque l'abcès est localisé sur un membre, la plaie doit être suturée, mais pas sur toute sa longueur, de manière à permettre un drainage continu. Sur la carapace, on laissera la plaie cicatriser par seconde intention.

En plus de ce traitement chirurgical, il est important de mettre en place un traitement antibiotique par voie locale et / ou générale, de préférence après culture bactériologique et antibiogramme. Le traitement doit durer au moins trois semaines en cas d'ostéomyélite, avec un contrôle au bout de quinze jours. Une supplémentation en vitamines (A, C, D et E) est conseillée pour stimuler les défenses immunitaires et accélérer la cicatrisation (*Firmin, 1997*).

2.2.4.3. *Dermatophilose*

La dermatophilose est une maladie caractérisée par l'apparition d'abcès caséux granulomateux sous-cutanés, au niveau de la face ventrale et des membres des reptiles, associée à une atteinte de l'état général comme une léthargie et une anorexie.

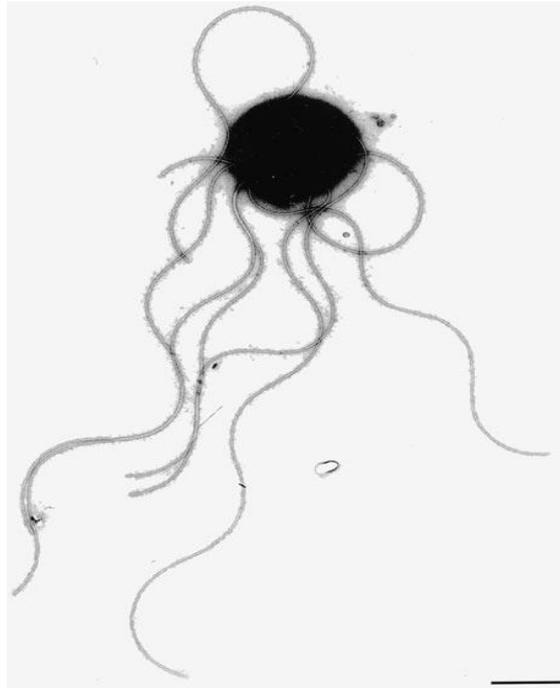
Elle est causée par un membre du genre *Dermatophilus*, bactéries gram positif filamenteuse de l'ordre des Actinomycétales (*cf. Photographie 13*). Chez la plupart des reptiles, on retrouve *Dermatophilus congolensis*, notamment chez les crocodiliens. La dermatophilose est alors appelée « maladie des taches brunes » et cause des pertes financières importante par diminution de la qualité des cuirs (*Buenviaje et al., 1997*). *Dermatophilus chelonae* a été isolée chez des tortues présentant des abcès au niveau des membres, de la tête et du plastron (*Masters et al., 1995 ; Bemis, Patton, et Ramsay, 1999*), ainsi qu'une arthrite septique dans de rares cas (*Jacobson, 2007*).

La pénétration de l'agent pathogène dans l'organisme est, ici aussi, secondaire à l'existence d'une plaie cutanée. Elle serait favorisée par un excès d'humidité dans l'environnement. Les reptiles constitueraient un réservoir pour cette bactérie au fort pouvoir pathogène pour les ruminants et les équidés.

Le diagnostic repose sur l'analyse histologique des abcès après coloration à l'Hématéine – Eosine – Safran (HES) ou à l'acide périodique de Schiff, révélant la présence de nombreux filaments bactériens caractéristiques (*Masters et al., 1995*).

Le traitement de la dermatophilose est identique à celui de tous les abcès. *Brogard, 1992* recommande l'utilisation de chloramphénicol ou de tétracyclines, antibiotiques actifs contre

les bactéries du genre *Dermatophilus*, mais nous rappelons que ce choix doit être motivé par les résultats d'un antibiogramme.



Photographie 13 : *Dermatophilus cheloniae* en microscopie électronique.
On remarque la présence de filaments bactériens.
Barre d'échelle : 1µm. Source : Bemis, Patton, et Ramsay, 1999.

2.2.4.4. La dermatite ulcéreuse

La dermatite ulcéreuse, autrement appelée « ulcerative shell disease » (USD), « pourriture de la carapace » (shell rot) ou encore « maladie des taches » (spot disease), est une maladie provoquant des ulcères de la carapace, qui entre donc dans le syndrome du SUC.

Cette pathologie est causée par *Beneckea chitinivora*, une bactérie appartenant à la famille des Vibrionacées, capable de digérer la kératine.

Elle touche essentiellement les tortues aquatiques, notamment les genres *Trionyx*, *Chrysemys* et *Pseudemys*, mais se retrouve parfois chez des tortues terrestres comme les Testudinidés

(*Thoen, Richards, et Jarnagin, 1977*). Elle a été décrite chez les tortues captives mais aussi chez les populations sauvages (*Wallach, 1977*).

Beneckea chitinivora est retrouvée dans l'exosquelette chitineux de certains crustacés du genre *Gammarus* (aussi appelés gammares). Lorsque ces crevettes sont utilisées comme nourriture pour les tortues aquatiques, la bactérie se retrouve dans l'eau de l'aquarium, à une concentration parfois importante lors d'un défaut de filtration. Elle peut également se retrouver dans l'eau lorsqu'un individu contaminé est introduit dans un aquarium hébergeant des individus sains. Normalement non pathogène, *Beneckea chitinivora* peut pénétrer dans l'organisme des tortues à la faveur d'une lésion sur la carapace et entraîner une USD (*Wallach, 1975*).

La dermatite ulcéreuse est caractérisée par des lésions exfoliatives des écailles au niveau de la dossière mais aussi du plastron. Au départ, on remarque des taches sombres ou blanchâtres sous les écailles. Puis ces taches s'ulcèrent, entraînant alors la chute des écailles. Les ulcères mesurent en général quelques millimètres de diamètre et peuvent atteindre le derme. Lorsqu'ils sont profonds, ils finissent petit à petit par se combler de pseudomembranes¹ jaunâtres. Ces lésions peuvent être soit focales, soit multiples, et peuvent devenir coalescentes.

La plupart du temps, cette maladie est auto-résolutive ; cependant, la déformation de la carapace est irréversible. Le risque de surinfection est néanmoins élevé et peut conduire à la mort de l'individu si aucune prise en charge thérapeutique n'est effectuée (*Wallach 1975*).

Le diagnostic est orienté par l'anamnèse et la clinique. Le diagnostic de certitude repose sur une analyse bactériologique des lésions, mais cet examen complémentaire est compliqué à interpréter à cause du risque élevé de surinfection.

Le diagnostic différentiel est le même que pour toutes les pathologies du SUC (*cf. «Erreur ! Source du renvoi introuvable. : Erreur ! Source du renvoi introuvable.»*).

Le traitement est à la fois hygiénique, local et général.

Dans un premier temps, il convient de revoir les conditions d'entretien de l'aquarium, en augmentant la filtration de l'eau. L'alimentation à base de gammares séchées est à proscrire, et les individus contaminés doivent être placés en quarantaine.

Lorsque la maladie est en début d'évolution, en phase d'excoriation superficielle, une désinfection des plaies à l'aide d'une solution antiseptique est suffisante. En revanche, lorsque

¹ Pseudomembrane : Exsudat pathologique, souvent fibrineux, qui se produit à la surface des muqueuses, plus rarement des séreuses et de l'épiderme, et qui finit par se détacher par lambeaux (définition Larousse 2016).

les lésions sont plus sévères, l'application d'une pommade antibiotique est nécessaire en plus de la désinfection. Ce traitement local biquotidien est effectué sur des animaux secs gardés hors de l'eau pendant au moins une demi-heure après l'application du traitement. Enfin, lorsque les lésions sont très profondes, il peut être nécessaire d'appliquer une prothèse de carapace à l'aide d'une résine époxy, mais uniquement après deux semaines de traitement, quand les lésions sont aseptiques.

Un traitement antibiotique doit aussi être administré par voie générale. *Beneckeia chitinivora* est généralement sensible aux fluoroquinolones comme l'enrofloxacin (5 à 10 mg/kg SID IM pendant 6 à 12 jours (*Carpenter, 2012*)) ou la marbofloxacin (2 mg/kg/48h, IM, 5 à 10 injections). Le chloramphénicol à la dose de 40 mg/kg/j IM SID pendant une semaine donnerait aussi de bon résultats (*Wallach, 1977 ; Brogard, 1992*). Nous rappelons cependant que la mise en place d'une antibiothérapie ciblée est recommandée et nécessite la réalisation préalable d'un antibiogramme.

Enfin, une supplémentation en vitamines (A, C, D et E) est conseillée pour stimuler les défenses immunitaires et accélérer la cicatrisation (*Firmin, 1997*).

La prophylaxie de l'USD repose sur plusieurs facteurs :

- Le respect d'une quarantaine de deux semaines pour tout nouvel individu avant l'introduction dans l'aquarium (*Wallach, 1975*) ;
- Une hygiène rigoureuse du bac avec notamment un système de filtration de l'eau performant ;
- L'absence de crustacés dans l'alimentation ;
- Et le contrôle des facteurs entraînant des lésions cutanées dans l'aquarium, comme des éléments du décors abrasifs, ou une surpopulation favorisant les bagarres entre individus.

2.2.5. Infections bactériennes générales affectant la carapace

Il existe deux types d'infections bactériennes systémiques ayant des répercussions sur la peau : les septicémies et les mycobactérioses.

Les septicémies ont diverses origines, avec des symptômes et une prise en charge thérapeutique différents selon l'agent causal. Cependant, leur tableau clinique se caractérise en général par l'apparition de suffusions hémorragiques sous les écailles du plastron chez les tortues (et plus largement de la face ventrale chez tous les reptiles), symptôme absent lors de mycobactériose (*Chitty et Raftery, 2013*).

2.2.5.1. Aéromonose

L'aéromonose, aussi appelée « septicémie hémorragique », est la septicémie la plus fréquente chez les reptiles (Firmin, 1997). Elle est retrouvée chez tous les reptiles, mais plus particulièrement chez les chéloniens et les crocodiliens, captifs ou sauvages (Jacobson, 2007). Elle est causée par des bactéries du genre *Aeromonas*, notamment *Aeromonas hydrophila*, mais aussi parfois *Aeromonas shigelloides* ou *Aeromonas formicans*. Ces bactéries appartiennent à la flore digestive normale des reptiles.

Lors d'un défaut d'hygiène, ces germes se retrouvent dans l'eau ou sur le sol de l'aquarium ou du terrarium, et pénètrent dans l'organisme des reptiles à la faveur d'une plaie cutanée. Il existe des facteurs favorisant entraînant l'apparition de la pathologie, comme le stress, de mauvaises conditions de maintenance (température, hygrométrie ...) ou une maladie intercurrente. L'acarien *Ophionyssus natricis*, un parasite des serpents, constitue un vecteur de l'aéromonose (Jacobson, 2007).

L'aéromonose peut engendrer différentes manifestations cliniques, mais il existe trois formes classiques de la maladie :

- La forme aigüe, caractérisée par une apparition brutale, sans prodrome. Il s'agit de la manifestation classique mais brutale de la septicémie : on note une violente dégradation de l'état général de l'animal, avec une anorexie, une apathie et une dyspnée, accompagnée de l'apparition de suffusions hémorragiques sous les écailles de la face ventrale du reptile. L'évolution tend vers des convulsions, le coma et la mort des animaux en moins de 24 heures ;
- La forme pulmonaire, moins violente, qui varie selon les espèces. Chez les tortues, on observe un jetage séreux, une anorexie et une cyanose. La pathologie évolue alors soit vers la forme digestive, soit vers une forme chronique caractérisée par une déshydratation et une cachexie, soit vers la mort en une semaine environ. L'autopsie révèle une inflammation sévère des poumons envahis de nodules purulents. Du pus caséeux est également présent dans les bronches et la trachée ;
- La forme digestive, qui fait souvent suite à la forme pulmonaire. Après une semaine de jetage, on observe l'apparition d'une entérite avec une diarrhée et des régurgitations. On note aussi une stomatite purulente, qui aggrave l'anorexie des animaux. Si aucun traitement n'est entrepris, la mort des animaux survient en 5 à 6 semaines. A l'autopsie, on observe une entérite catarrhale avec un œdème marqué de la paroi intestinale, ainsi qu'une stomatite ulcéreuse qui se retrouve aussi dans la trachée. Si la pathologie fait suite à une forme pulmonaire, on observe une inflammation sévère des poumons, avec une nécrose avancée.

Ces deux dernières formes d'aéromonose proviennent d'infections locales mais peuvent donner lieu à une septicémie, caractérisée par l'apparition de suffusions hémorragiques sous les écailles du plastron et au niveau des articulations. On note alors la chute d'écailles qui peuvent intéresser des surfaces très étendues, surtout en cas de point de départ digestif (*Brogard, 1992*). Ces chutes d'écailles font suite à une nécrose et à des hémorragies au niveau du derme, causées par la libération de toxines bactériennes dans le compartiment vasculaire et à la thrombose des vaisseaux du derme qu'elle engendre. Ces symptômes ont surtout été remarqués chez les crocodiliens et chez les tortues des genres *Pseudemys*, *Chrysemys* et *Sternothorus* (*Jacobson, 1992*).

Lorsque la septicémie est déclarée (forme aigüe ou complication de la forme pulmonaire ou digestive), l'autopsie révèle la présence d'une congestion généralisée, avec de nombreuses pétéchies sur de multiples organes comme les reins, le foie, les séreuses, les muqueuses, le cœur, les muscles ... Le foie est hypertrophié et comporte de nombreux foyers de nécrose.

Le diagnostic repose sur la clinique, avec l'observation de l'une des formes de la maladie accompagnée le plus souvent par des suffusions hémorragiques sous les écailles ventrales. Cependant, le diagnostic de certitude est rarement posé, car les bactéries du genre *Aeromonas* sont difficiles à isoler. De plus, elles appartiennent à la flore commensale des reptiles, ce qui complique l'interprétation de la culture bactérienne lorsqu'elles apparaissent.

Le pronostic de l'affection est très sombre, la mortalité liée à l'aéromonose étant très élevée.

Le traitement repose sur la mise en place d'une antibiothérapie ciblée après culture bactérienne et antibiogramme car les bactéries du genre *Aeromonas* sont multi-résistantes. Il est cependant nécessaire de commencer l'antibiothérapie en attendant les résultats de l'antibiogramme, en utilisant des antibiotiques à large spectre comme les fluoroquinolones (enrofloxacin 5 à 10 mg/kg SID IM), les tétracyclines (l'oxytétracycline à une dose de 5 à 10 mg/kg IM SID est efficace contre les infections respiratoires) ou le chloramphénicol (40 mg/kg IM SID) (*Carpenter, 2012 ; Mader et Divers, 2013*). L'environnement des animaux touchés doit être désinfectés avec une solution antiseptique, et un vide sanitaire d'au moins deux semaines est indispensable.

La prévention de la maladie repose sur une hygiène stricte des lieux de vie et sur la désinfection biquotidienne des plaies dès leur apparition. La lutte contre les acariens entre aussi dans la prophylaxie de l'aéromonose chez les reptiles vivant en dehors de l'eau. L'utilisation de vitamines (A, C, D et E) est conseillée pour stimuler les défenses immunitaires (*Firmin, 1997*).

2.2.5.2. *Pseudomonose*

La pseudomonose est une maladie plus rare que l'aéromonose, mais bien plus grave. Elle semble toucher préférentiellement les ophidiens et les squamates, mais quelques cas ont été décrits chez les tortues (Jacobson, 2007). Elle est causée par les bactéries du genre *Pseudomonas*, qui sont normalement des bactéries commensales du tube digestif et de la bouche des reptiles. Cependant, elles deviennent pathogènes à la faveur d'un changement du milieu de vie (comme un changement de température affaiblissant les autres espèces bactériennes commensales selon Divers et Mader, 2005) ou lors d'une lésion sur la peau, notamment en cas de brûlure (Jacobson, 2007).

La pseudomonose est une septicémie à l'origine de lésions cutanées nécrotiques, d'une diarrhée hémorragique, d'une pneumonie et d'une stomatite congestive. Comme pour toutes les septicémies, on observe l'apparition de suffusions hémorragiques sous les écailles ventrales des animaux. Chez les serpents, on observe de plus une légère exfoliation de certaines écailles dorsales et des symptômes utérins. Ces symptômes mènent à la mort de l'individu en moins d'une semaine. L'autopsie révèle alors une inflammation généralisée, avec des pétéchies sur de nombreux organes, notamment les reins et les séreuses. On note une hépatomégalie et une néphrite glomérulo-épithéliale (Brogard, 1992).

Le diagnostic repose sur l'observation clinique et la mise en évidence d'une leucocytose marquée à l'examen hématologique. Cependant, comme pour l'aéromonose, le diagnostic de certitude reste difficile, et se base sur une mise en culture bactériologique.

Le traitement est identique à celui de l'aéromonose. Les bactéries du genre *Pseudomonas* étant multi-résistantes, il est nécessaire de réaliser un antibiogramme (Mader et Divers, 2013).

2.2.5.3. *Salmonellose*

La salmonellose est due aux bactéries du genre *Salmonella*. Ce sont des entérobactéries à gram négatif, facultativement anaérobies, non sporulées et mobiles. De très nombreuses espèces et sérotypes ont été isolés, cependant la plupart des écrits désignent en particulier *Salmonella typhimurium* et *Salmonella arizonae* comme source de septicémie chez les reptiles (Huchzermeyer, 1991 ; Jacobson, 2007).

Les salmonelles sont des bactéries commensales du tube digestif des reptiles. Ils constituent ainsi un réservoir et seraient la principale source de contamination de salmonellose chez l'Homme. En effet, certains auteurs considèrent que les sérotypes hébergés par les reptiles, notamment les tortues aquatiques, seraient les plus pathogènes pour les humains (*Jacobson 2007*).

La pathologie se déclare chez les tortues à la faveur de conditions prédisposantes, comme un stress, une alimentation contaminée ou une mauvaise hygiène du milieu de vie, entraînant une charge bactérienne de l'eau trop importante (*DuPont, Nakamura, et Chang, 1978*). Une transmission trans-ovarienne a aussi été décrite chez les tortues et les serpents (*Jacobson, 2007*).

Les symptômes ne sont pas caractéristiques mais évoquent une septicémie : anorexie, cachexie, faiblesse, apparitions de suffusions hémorragiques sous les écailles du plastron, diarrhée et mort au bout de quelques jours. Certains auteurs décrivent une polyarthrite marquée chez les lézards (*Kalvig et al., 1991*) et une ostéomyélite sévère chez certains serpents (*Jacobson, 2007*). La salmonellose entraîne aussi des signes cutanés, comme une dermatite vésiculaire et croûteuse chez les lézard et les serpents, des abcès sous-cutanés chez les iguanes (*Divers et Mader, 2005*) ou encore une chute des écailles du plastron chez certaines tortues (*Jacobson, 2007*). L'autopsie révèle une inflammation généralisée, avec de nombreux abcès sur de multiples organes, mais surtout au niveau de la paroi intestinale (*Jacobson, 2007*).

Comme pour toutes les septicémies, le diagnostic est basé notamment sur la clinique, mais le diagnostic de certitude est difficile car les salmonelles font partie de la flore commensale des reptiles.

Le traitement est lui aussi identique à celui utilisé pour les autres septicémies. Les salmonelles étant multi-résistantes, il est nécessaire de réaliser un antibiogramme (*Mader et Divers, 2013*).

Une hygiène stricte du milieu de vie ainsi que des conditions environnementales favorables à l'espèce sont deux critères à respecter pour éviter l'apparition d'une salmonellose. Enfin, la nourriture distribuée ne doit pas être contaminée.

2.2.5.4. *Septicémie cutanée ulcéreuse*

La septicémie cutanée ulcéreuse, aussi appelée SCUD (septicemic cutaneous ulcerative disease), est une maladie causée par le développement au niveau de l'épiderme de *Citrobacter freundii*, *Aeromonas hydrophila* ou d'une bactérie du genre *Serratia*.

Cette maladie, décrite pour la première fois par *Kaplan, 1957*, touche les tortues aquatiques, plus particulièrement les tortues à carapace molle comme les espèces du genre *Trionyx* (*Mautino et Douglas Page, 1993*). La bactérie, présente de manière naturelle dans le milieu extérieur, profite d'une lésion primaire sur la carapace de la tortue (morsure, traumatisme ...) et entraîne alors la pathologie. La SCUD a surtout été décrite chez des tortues captives, mais (*Garner et al., 1997*) ont décrit une pathologie similaire sur les tortues d'un lac de Géorgie qui pourrait correspondre à une septicémie cutanée ulcéreuse, sans pour autant poser de diagnostic de certitude.

La maladie débute par l'apparition de petites suffusions hémorragiques sous les écailles de la carapace, de la queue et des membres qui finissent par s'ulcérer. *Köbölkuti et al., 2008* décrivent une ulcération plus marquée sur les écailles marginales. Ensuite apparaissent des symptômes généraux, comme une anorexie, une léthargie et une cachexie. Les muscles se paralysent, surtout au niveau du cou, et peuvent même se nécroser. Une chute des griffes a aussi été décrite (*De Matteis, 2004*). Des troubles hépatiques apparaissent ensuite, entraînant la mort de l'animal si aucune prise en charge thérapeutique n'est effectuée. L'autopsie révèle de multiples points de nécrose sur la peau, le cœur, le foie, les reins et la rate. Une amyotrophie parfois sévère est objectivée.

Le diagnostic repose sur le tableau clinique particulier de cette pathologie, avec dans un premier temps l'observation d'ulcères cutanés suivie de symptômes généraux. Des calques au niveau des ulcérations montrent la présence de bactéries, qui sont aussi retrouvées sur des frottis sanguins. Par ailleurs, *Firmin, 1997* a décrit l'existence de vacuoles intracytoplasmiques dans les érythrocytes de tortues touchées. Un examen hématologique met en évidence une forte leucocytose.

Le traitement est à la fois local et général.

Une désinfection biquotidienne avec une solution antiseptique est nécessaire, en prenant soin de retirer tout le matériel nécrotique.

La mise en place d'une antibiothérapie ciblée est nécessaire. En attendant les résultats de l'antibiogramme, des antibiotiques actifs contre les bactéries à gram négatif doivent être administrés, comme la gentamycine (3 mg/kg IM tous les 3 jours) ou l'association

triméthoprim – sulfadiazine (20 à 30 mg/kg IM SID) (Carpenter, 2012). L'utilisation de vitamines par voie orale est conseillée pour stimuler les défenses immunitaires (Firmin, 1997).

2.2.5.5. *Autres septicémies*

Chez les tortues, peu d'autres agents infectieux que ceux précédemment cités peuvent être à l'origine de septicémies.

Brogard, 1992 décrit une septicémie à *Clostridium oedematiens* chez des tortues rayonnées (*Astrochelys radiata*). Les tortues ont présenté une anorexie et des difficultés de déplacements à l'origine de lésions d'excoriation sur le plastron, puis une mort en quelques jours. Cette affection a également été rapportée chez des tortues d'Hermann (*Testudo hermanni*) du Village des Tortues de Gonfarons (Saint-Raymond Moynat, 2009).

Des cas de septicémies avec des répercussion sur l'épiderme ont été rapportés chez d'autres reptiles : des septicémies à *Serratia* chez des iguanes entraînant l'apparition d'abcès sous-cutanés ; des septicémies dues au bacille du Rouget (*Erysipelothrix rhusiopathiae*) chez des crocodiliens à l'origine de lésions cutanées nécrotico-hémorragiques ; ainsi que de nombreuses autres septicémies entraînant des suffusions hémorragiques sous les écailles ventrales des reptiles (Saint-Raymond Moynat, 2009).

Enfin, un cas de septicémie à *Chromobacterium violaceum* a été rapporté sur une tortue du Murray (*Emydura macquarii*). La tortue présentait de sévères ulcères sur la carapace, une atteinte de l'état général (léthargie et anorexie marquées) et une suffusion hémorragique étendue sous les écailles du plastron. Du matériel caséux était présent dans la bouche et au niveau de l'arbre respiratoire supérieur de la tortue. L'analyse bactériologique de ce matériel caséux a permis de mettre en évidence la présence de *Chromobacterium violaceum*, et la tortue a été euthanasiée du fait du haut pouvoir zoonotique de cette bactérie (Scheelings et al., 2012).

2.2.5.6. *Mycobactériose*

La mycobactériose est fréquemment observée chez les reptiles, mais toujours de manière sporadique. Elle touche toutes les espèces, mais plus particulièrement les reptiles vivant dans l'eau.

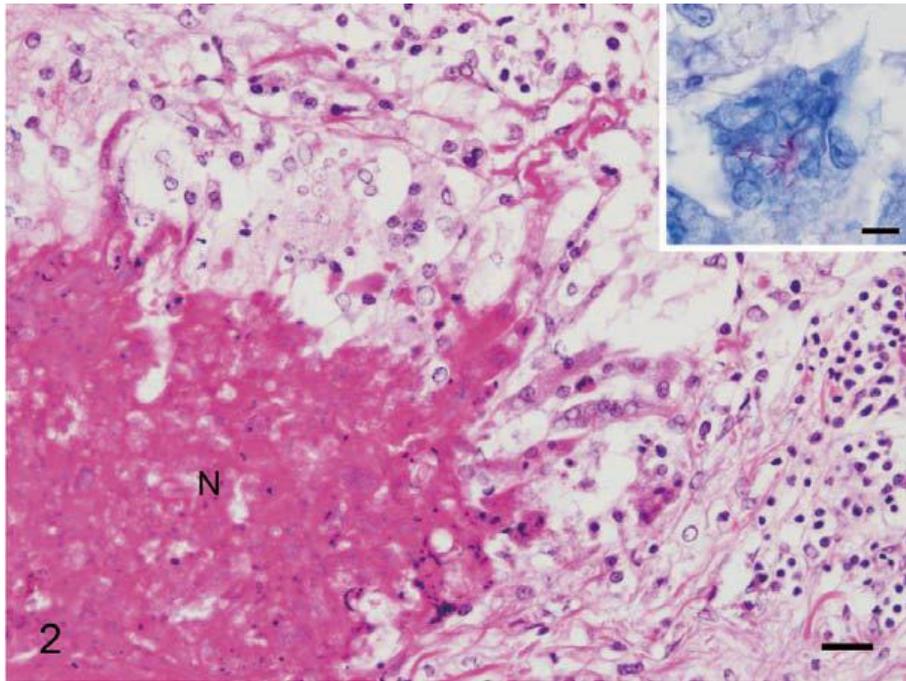
De nombreuses mycobactéries peuvent infecter les reptiles, mais on retrouve surtout *Mycobacterium thamnopheos*, *M. chelonei*, *M. marinum* et *M. intracellulare* (Friend et Russell, 1979 ; Saint-Raymond Moynat, 2009). Les mycobactéries sont des bactéries acido-alcool-résistantes qui peuvent provoquer une zoonose chez l'Homme. A l'inverse, les espèces retrouvées chez les mammifères ne sont pas pathogènes pour les reptiles dans les conditions naturelles, mais engendrent quand même des lésions après injection expérimentale (Marcus, Stottmeier, et Morrow, 1975).

Les mycobactéries sont retrouvées dans l'eau stagnante. La présence d'une plaie cutanée est indispensable pour la colonisation. Une immunodépression, causée notamment par un stress, serait un facteur prédisposant de la maladie (Ariel, Ladds, et Roberts, 1997).

On retrouve deux formes de la maladie :

- La forme systémique, caractérisée par des symptômes généraux frustrés comme une léthargie, un amaigrissement, une anorexie et une dégradation progressive de l'état général de l'animal conduisant à la mort en quelques jours (Ariel, Ladds, et Roberts, 1997) ;
- Une forme cutanée, caractérisée par l'apparition de nodules sous-cutanés, notamment au niveau du plastron (Rhodin et Anver, 1977). Ces nodules peuvent être des granulomes caséux blanchâtres ou des tubercules miliaires. Une dissémination des bactéries par voie sanguine peut être à l'origine de granulomes retrouvés sur la plupart des organes internes (notamment sur le foie, la rate et les poumons selon Rhodin et Anver, 1977) et des articulations (Greer, Strandberg, et Whitaker, 2003). L'examen microscopique de ces nodules révèle une nécrose caséuse centrale, entourée de leucocytes comme des éosinophiles et des macrophages mêlés aux bactéries, le tout emprisonné dans une coque fibreuse (Rhodin et Anver, 1977 ; Friend et Russell, 1979 ; Sakaguchi et al., 2011).

Le diagnostic est rarement effectué du vivant de l'animal, et repose essentiellement sur l'observation des nodules disséminés dans tout l'organisme lors de l'autopsie. Le diagnostic de certitude se fait par observation des bactéries dans les nodules, ou par leur mise en culture. La mise en évidence de mycobactéries par PCR serait une méthode diagnostic de choix (Ariel, Ladds, et Roberts, 1997 ; Sakaguchi et al., 2011).



Photographie 14 : Coupe histologique d'un granulome en coloration à l'hémalin-éosine.
On remarque une nécrose caséuse centrale (N) entourée de leucocytes.
Barre = 20µm. Source : Sakaguchi et al., 2011

Le traitement est extrêmement difficile car les mycobactéries sont multirésistantes, et aucun traitement antibiotique n'a été efficace sur des reptiles à ce jour. De plus, les mycobactéries étant un agent majeur de zoonose, l'euthanasie est le plus souvent conseillée.

La prophylaxie repose sur une bonne hygiène du milieu de vie, avec une filtration et un changement régulier de l'eau de l'aquarium. Une antibiothérapie préventive à base de streptomycine chez les animaux d'un élevage touché est recommandée par certains auteurs (*Saint-Raymond Moynat, 2009*), cependant, cette antibiothérapie préventive est contraire aux règles de bonnes pratiques de l'utilisation des antibiotiques.

2.2.6. Affections virales

2.2.6.1. *Fibropapillomatose*

La fibropapillomatose est une maladie des tortues de mer touchant particulièrement les tortues vertes (*Chelonia mydas*), mais qui se retrouve parfois chez la tortue caouanne (*Caretta caretta*) et la tortue de Kemp (*Lepidochelys kempii*).

On a longtemps pensé que la fibropapillomatose était due à un papillomavirus ; cependant, il a été démontré que ces virus n'apparaissent pas dans tous les cas de fibropapillomatose (Brown, Lackovich, et Klein, 1999). En réalité, cette maladie est due à alpha herpès virus (Lackovich et al., 1999 ; Ene et al., 2005), un virus à ADN, enveloppé, d'un diamètre en général compris entre 150 et 200 nm (Jacobson, 2007). Ce virus est le virus le plus fréquemment rencontré chez les reptiles (Norton, 2005).

La présence du virus dans l'organisme des tortues entraîne l'apparition de fibropapillomes cutanés sur la peau, la carapace, les muqueuses et parfois même les viscères des animaux. Ces tumeurs, bien que bénignes, peuvent gêner les tortues dans leurs comportements habituels (baisse de vision, gêne de la prise alimentaire ...) et devenir handicapants. De plus, leur présence sur les organes internes peut gravement altérer l'état de santé des tortues, en fonction de leur localisation.

Les tumeurs sont formées par une hyperplasie et une hyperkératose de l'épiderme, soutenues par des cellules stromales fibroblastiques. Elles sont pédiculées et le plus souvent multicentriques (Garner, Hernandez-Divers, et Raymond, 2004). En plus des fibropapillomes, Norton, Jacobson, et Sundberg, 1990 ont observé la présence d'un myxofibrome rénal chez une tortue verte. Enfin, des métastases pulmonaires peuvent se développer sous la forme de fibrosarcomes (Work et al., 2004).

Le diagnostic repose sur l'observation des fibropapillomes (lésions pédiculées typiques) ainsi que sur une coupe histologique révélant des inclusions virales. Ces inclusions virales sont visibles pendant le cycle de réplication du virus ; en revanche, aucune inclusion n'est visible lorsque le virus est latent (Jacobson, 2007). Swimmer, 2000 a réalisé une prise de sang chez des tortues infectées en captivité. Le profil biochimique des tortues touchées s'est alors montré différent de celui des individus sains ; cependant, cette différence n'a jamais été observée chez les populations sauvages.

Lorsque l'infection est bénigne, on remarque une guérison spontanée chez certaines tortues (*Saint-Raymond Moynat, 2009*). Néanmoins, l'exérèse des papillomes de plus grande taille est conseillée, surtout s'ils perturbent les fonctions vitales de la tortue. Le risque de récurrence est minime lorsque cette exérèse est effectuée assez tôt. Cependant, s'il existe des fibropapillomes internes, le pronostic est plus sombre (*Ene et al., 2005*). L'injection intratumorale d'agents anti-cancéreux, comme la bléomycine, s'est révélée décevante (*Christman et al., 2016*).



Photographie 15 : Fibropapillome chez une tortue verte (*Chelonia mydas*).
Source : *Work et al., 2004*

Remarque : *Jacobson et al., 1982* ont observé de petites lésions blanches, rondes, multifocales isolées ou coalescentes sur la tête de plusieurs tortues dulçaquicoles *Platemys platycephala*. L'examen histologique de ces lésions a révélé une hyperplasie et une hyperkératose de l'épiderme, avec la présence de particules virales évoquant un papillomavirus. Les lésions ont régressé spontanément en quelques mois. Cette pathologie, désignée comme fibropapillomatose par les auteurs, ne doit pas être confondue avec la fibropapillomatose des tortues marines.



Photographie 16 : Lésions observées par *Jacobson et al., 1982* sur une tortue de l'espèce *Platemys platycephala*.

2.2.6.2. *Maladie des taches grises*

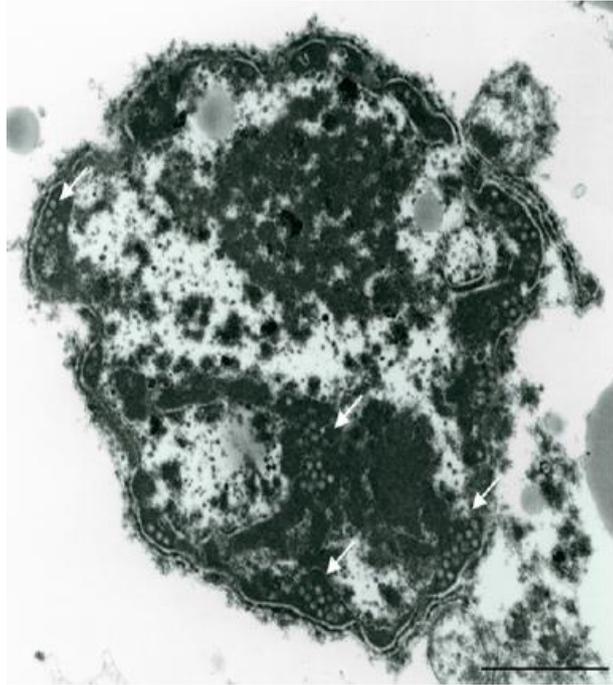
Cette pathologie, appelée « gray-patch disease » en anglais, est elle aussi due à un herpes virus. Elle touche les tortues vertes (*Chelonia mydas*), surtout les jeunes de moins de trois mois (*Harkewicz, 2002*). Toutes les tortues vertes seraient porteuses latentes de ce virus, dont la transmission se ferait par voie orale (*Rebell, Rywlin, et Haines, 1975*). L'apparition de la maladie est ici encore secondaire à un stress : surpopulation, pollution organique ... (*Harkewicz, 2002*). La température de l'eau est notamment un facteur prépondérant : *Haines et Kleese, 1977* ont en effet remarqué qu'une augmentation brutale de la température de l'eau de 25 à 30°C entraîne une apparition plus précoce et une sévérité plus marquée des lésions.

L'herpesvirose entraîne des symptômes différents en fonction de l'âge de la tortue atteinte (*Rebell, Rywlin, et Haines, 1975 ; Saint-Raymond Moynat, 2009*) :

- Chez les tortues de moins de 6 semaines, on note des symptômes généraux frustrés, comme une léthargie et une anorexie entraînant la mort de l'animal dans environ 20% des cas ;
- Entre 7 et 15 semaines, les juvéniles ayant survécu développent des lésions cutanées : on note l'apparition de papules grisâtres, au départ multifocales, qui deviennent coalescentes, formant alors des tâches plus étalées sur l'ensemble du corps. Ces plaques finissent par s'ulcérer superficiellement, et continuent de s'agrandir. On note alors une baisse de la mortalité due à cette maladie ; cependant, la morbidité augmente, jusqu'à toucher près de 90% des individus ;
- Au-delà de 15 semaines, on observe une nette diminution de la morbidité. Les jeunes ayant survécu finissent par guérir spontanément en quelques mois.

Histologiquement, les papules et les taches sont formées d'une acanthose et d'une hyperkératose locale de l'épiderme, avec une infiltration du derme par des granulocytes. La présence de corps d'inclusion nucléaires dans les cellules kératinisées avec un cœur électro-dense entouré d'une capsule icosaédrique est caractéristique d'une infection par un herpes virus (*Ahne, 1993*).

Le diagnostic repose sur la clinique assez caractéristique de la maladie et sur une analyse histologique des lésions.



Photographie 17 : Noyau d'un hépatocyte contenant de nombreuses inclusions virales (flèches). Barre = 60 nm.
Source : Jungwirth et al., 2014

S'il n'existe aucun traitement spécifique de la maladie des taches grises, un traitement de soutien est néanmoins indispensable chez les jeunes de moins de 15 semaines en captivité. Au-delà de 15 semaines d'âge, la guérison est spontanée.

Les herpès virus touchent aussi les tortues dulçaquicoles. De nombreuses études soulignent le fait qu'un grand nombre de ces tortues sont porteuses latente d'herpès virus (*Jacobson, 2007 ; Jungwirth et al., 2014 ; Ossiboff et al., 2015*). La pathologie se déclenche à la faveur d'un stress, et la tortue présente alors une violente dégradation de l'état général suivi d'une mort en quelques jours. Dans la plupart des cas, l'autopsie révèle la présence de lésions hépatiques hébergeant des corps d'inclusion virale ; cependant, aucune lésion de la carapace n'est rapportée (*Jacobson, 2007 ; Jungwirth et al., 2014*).

2.2.6.3. Poxvirose

La poxvirose est une maladie très documentée chez les crocodiliens, chez qui elle entraîne l'apparition de taches (marron chez les crocodiles et blanchâtres chez les caïmans) dépréciant fortement la qualité et la valeur du cuir.

Une seule publication rapporte l'apparition d'une poxvirose chez les chéloniens, plus particulièrement sur une tortue d'Hermann (*Orós et al., 1998*). Ce virus à ADN, caractérisé par une capsule ronde à ovale contenant un nucléoïde en forme d'haltère, a entraîné l'apparition de lésions papulaires blanc-jaune sur les paupières et le rostre, ainsi qu'une atteinte sévère de l'état général ayant entraîné sa mort en deux semaines. L'autopsie a révélé des signes évocateurs d'une bronchopneumonie ainsi qu'une hépatomégalie marquée. L'examen histologique a mis en évidence une acanthose et une hyperkératose au niveau des lésions, avec la présence d'un grand nombre de particules virales.

2.2.7. Tumeurs non viro-induites

La plus grande partie des données bibliographiques concernant les tumeurs non viro-induites de la peau chez les reptiles sont des publications sous forme de cas cliniques. Ces affections sont très rares chez les chéloniens, comparativement aux autres ordres de reptiles (squamates, sphénodons, ophidiens et crocodiliens).

Le carcinome épidermoïde, ou épithélioma spinocellulaire, est une tumeur maligne de l'épithélium malpighien. Chez les chéloniens, il a été décrit sur des tortues d'eau douce (*Melanochelys trijuga*, *Apalone spinifer spinifer* et *Chelodina longicolis*) avec un pouvoir métastatique faible (*Sykes et Trupkiewicz, 2006*). En revanche, *Oros et al., 2004* décrivent un carcinome épidermoïde chez des tortues caouane (*Caretta caretta*) ayant donné des métastases au niveau des poumons, des reins et du myocarde.

Garner, Hernandez-Divers, et Raymond, 2004 rapportent le cas d'un fibrosarcome cutané non viro-induit chez une tortue boîte du genre *Terrapene*. Cette tumeur a montré des signes d'agressivité locale importante et a métastasé dans les poumons. L'analyse histologique de la lésion a montré des faisceaux et des lignes de cellules invasives à haut pouvoir de réplication noyées dans un stroma de collagène.

Des mélanomes, des histiocytomes, des mélanomes et des lipomes ont été décrits chez d'autres ordres de reptiles mais jamais chez les chéloniens (*Garner, Hernandez-Divers, et Raymond, 2004 ; Saint-Raymond Moynat, 2009*).

Finalement, peu de tumeurs épidermiques sont décrites chez les reptiles, en particulier chez les tortues. Ces tumeurs seraient sous-diagnostiquées selon *Oros et al., 2004*. En effet, le recours à l'immunohistochimie utilisant des anticorps ciblés contre les cytokératines des mammifères donne rarement des résultats chez les reptiles. Les auteurs attribuent ces échecs à la différence entre la kératine des mammifères (en majorité des α -kératines) et celle des reptiles (constituée en grande partie de β -kératine). Ainsi, les tumeurs cutanées des reptiles seraient rarement identifiées avec certitude, ce qui explique le faible nombre de publications sur le sujet.

2.2.8. Autres affections

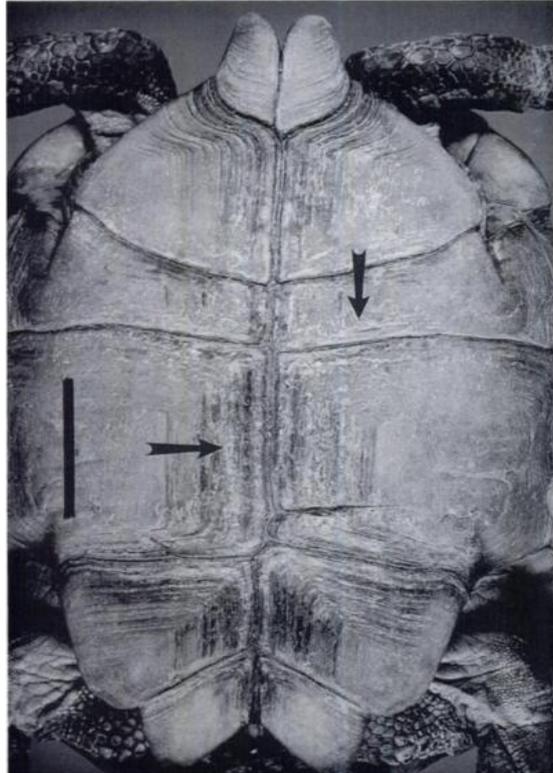
2.2.8.1. *Dyskératose cutanée*

(*Jacobson et al., 1994 ; Homer et al., 1998*)

La dyskératose cutanée a été décrite uniquement chez les tortues du désert (*Gopherus agassizii*) en Californie, suite à l'observation d'un taux de mortalité particulièrement élevé.

Son étiologie demeure inconnue à l'heure actuelle. Selon *Jacobson et al., 1994*, il s'agirait d'une carence nutritionnelle en zinc, mais *Homer et al., 1998* avancent l'hypothèse d'une maladie toxique du foie (plusieurs tortues présentaient une hépatomégalie marquée avec des hépatocytes vacuolisés) à l'origine d'un défaut de kératinisation.

La dyskératose cutanée entraîne des lésions d'assèchement et d'épaississement des écailles de la carapace et de la base des membres thoraciques. On note alors des écailles feuilletées, blanchâtres à orangées et sèches. Les lésions débutent à la jonction entre écailles, puis se propagent vers le centre. Les plus profondes peuvent toucher les ostéodermes.



Photographie 18 : *Dyskératose chez une tortue du désert (Gopherus agassizii).*
On remarque les lésions pointées par des flèches.
Source : Homer et al., 1998

Leur examen histologique révèle de nombreuses fissures et crevasses dans la couche cornée de l'épiderme qui perd alors son intégrité. Le reste de l'épiderme peut être soit hypertrophié, soit atrophié. Lorsqu'elles atteignent l'os dermique, les lésions sont caractérisées par une résorption ostéoclasique et une ostéopénie.

Le pronostic de cette pathologie s'est révélé sombre, les lésions étant le plus souvent contaminées par des germes opportunistes comme des bactéries ou des agents fongiques.

2.2.8.2. *Dermatite de contact*

La dermatite de contact est une pathologie décrite uniquement chez les animaux en captivité mais jamais chez les populations sauvages. Elle est le plus souvent due à un défaut de nettoyage du milieu de vie, entraînant une accumulation de déchets azotés irritants.

L'utilisation de certains types de substrats, comme les écorces de résineux (notamment le cèdre), ou de produits de nettoyage à base de phénol ou d'eau oxygénée peuvent aussi entraîner une dermatite de contact (*Harkewicz, 2002*).

Chez *Malaclemys terrapin*, une tortue vivant dans les eaux saumâtres de la côte est des Etats-Unis, l'utilisation d'eau douce dans l'aquarium entraîne dans tous les cas une dermatite de contact (*Rosskopf et Shindo, 2003*).

Cette pathologie se traduit par l'apparition d'un érythème cutané et de vésicules s'ulcérant au bout de quelques jours. Souvent, elle provoque aussi une rhinite légère avec du jetage muqueux au départ, puis qui devient purulent lors d'apparition de surinfections (*Rosskopf et Shindo, 2003*).

Le traitement consiste à retirer la cause de l'irritation : nettoyage du bac, changement de substrat ou de produit désinfectant (*Harkewicz, 2002*). Chez *Malaclemys terrapin*, l'ajout d'une poignée de sel dans l'eau de l'aquarium permet de résoudre la dermatite de contact (*Bour, 2012*). L'utilisation d'antibiotiques pour prévenir les surinfections est recommandée par certains auteurs (*Divers et Mader, 2005 ; Saint-Raymond Moynat, 2009*), cependant, cette pratique est contraire aux règles de bonne pratique de l'antibiothérapie.

2.2.8.3. Anomalies de l'écaillage

Les écailles peuvent parfois présenter des anomalies au niveau de leur nombre, de leur forme ou de leur disposition.

Plusieurs processus peuvent expliquer cette malformation. En règle générale, les conditions ambiantes durant le développement des embryons (température, humidité) (*Lynn et Ullrich, 1950*), la pollution (*Bishop et al., 1998*) et la perte de diversité génétique (*Soule, 1979*) semblent impliquées. *Velo-Antón, Becker, et Cordero-Rivera, 2011* ont montré une plus grande implication de la génétique que des conditions environnementales sur l'apparition d'écailles surnuméraires chez la cistude d'Europe. Ils attribuent cette observation au fait que les œufs des cistudes, possédant une coquille plus dure que celle d'autres espèces de reptiles, seraient moins soumis à l'effet de l'humidité ambiante.

Chez les tortues, on observe le plus souvent des écailles surnuméraires. La présence de ces écailles surnuméraires peut parfois entraîner une déformation de la carapace (*Lynn et Ullrich, 1950*).



Photographie 19 : Ecailles vertébrales surnuméraires chez une cistude d'Europe. Crédit : Z. Owen-Jones

D'autres pathologies dermatologiques ont été décrites chez les reptiles.

La « blister disease », autrement appelée « scale rot », « dermatite d'humidité » ou « maladie des ampoules » est une affection due à une humidité trop élevée dans le terrarium des reptiles vivant au sec (Maas, 2013). Elle entraîne l'apparition de vésicules sur la peau qui peuvent se rompre et se surinfecter, à l'origine de pustules, d'ulcères et/ou de zones de nécrose cutanées (Brogard, 1992). Chez les tortues terrestres, elle entraîne la chute des écailles du plastron (Firmin, 1997 ; Harkewicz, 2002). Cependant, cette pathologie n'a jamais été décrite chez des tortues aquatiques.

De multiples ectoparasites ont été décrits chez la plupart des reptiles (aoûtats, tiques, myases ...) (Harvey-Clark, 1997 ; Harkewicz, 2002 ; De Matteis, 2004 ; Saint-Raymond Moynat, 2009), mais jamais sur la carapace des tortues dulçaquicoles.

En somme, la carapace des tortues dulçaquicoles peut être le siège d'un nombre important d'affections différentes. Ces affections sont relativement bien documentées chez les animaux domestiques, en revanche, peu d'informations sont disponibles quant aux pathologies de la carapace des tortues dulçaquicoles sauvages.

SECONDE PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE

Lors de l'observation d'une nouvelle pathologie, la première question qui vient à l'esprit est souvent « *A quoi cette pathologie est-elle due ?* ». C'est exactement la question que se sont posés les naturalistes lors de l'observation de cistudes touchées par le SUC dans la nature. Cette interrogation a motivé la demande de mise en place d'une étude par des vétérinaires.

Notre étude a été réalisée selon la démarche méthodologique proposée par *Fiers et al., 2003*. Selon eux, il est nécessaire de bien définir la pathologie à étudier dans un premier temps, et de se fixer des objectifs. C'est ainsi qu'en se basant sur les descriptions formulées par les naturalistes français, nous avons pu définir le sujet de notre étude comme « un ensemble pathologique à l'origine de pertes de substances au niveau de la carapace des cistudes d'Europe ». Notre objectif principal est de caractériser au mieux cet ensemble pathologique, autant par son étiologie que par son épidémiologie, afin de mettre en place des actions correctrices dans le but d'enrayer la progression de la pathologie et de limiter au maximum son impact sur les populations de cistude d'Europe.

Pour cerner d'autant plus le sujet, *Fiers et al., 2003* conseillent dans un second temps de rechercher dans la bibliographie des données concernant la pathologie étudiée. Très peu de publications mentionnent les lésions de perte de substance sur la carapace des tortues dulçaquicoles sauvages et la plupart émettent l'hypothèse d'une étiologie bactérienne avec la mise en cause de plusieurs agents différents. Certaines de ces publications désignent cet ensemble pathologique sous le terme de « Maladie ulcérate de la carapace » ; cependant, la multiplicité des agents étiologiques suspectés semble classer cet ensemble dans la catégorie non pas des « maladies » mais plutôt des « syndromes ». C'est pourquoi nous avons choisi de désigner cet ensemble pathologique sous le terme de syndrome ulcérate de la carapace (SUC). Il est néanmoins important de souligner que le terme « ulcérate » est ici utilisé de manière abusive : l'absence de donnée histologique ne permet pas de classer ces lésions sous le terme d'« ulcères » mais plutôt de « perte substance » au sens plus large.

Une fois le sujet bien défini, il est nécessaire de mettre en place un protocole technique, en définissant l'échantillon et les données à analyser, ainsi que la méthodologie de l'analyse.

Quelques études ont déjà été réalisées sur le SUC chez des populations de tortues dulçaquicoles sauvages dans le monde, et nous ont inspiré pour la méthodologie technique utilisée dans notre étude :

- *Tucker et al., 2002* ont observé des ulcérations de la peau du cou sur des tortues de Krefft (*Emydura krefftii*) sauvages dans le Queensland, en Australie. Ces lésions ne concernent pas la carapace, mais nous nous sommes inspiré de leur méthodologie pour réaliser notre étude ;
- *Hernandez-Divers et al., 2009* ont étudié des tortues cartes (*Graptemys* spp.) provenant de saisies chez des particuliers et amenées au College of Veterinary Medicine de l'Université de Géorgie pour des ulcérations sur la carapace. Du fait de la date relativement récente de leur publication et de son aspect très rigoureux, nous avons décidé d'appliquer leur méthodologie, approuvée par le groupement scientifique *Institutional Animal Care and Use Committee* de l'Université de Géorgie.

Après lecture des résultats de ces deux publications, nous avons décidé d'articuler notre étude en deux parties, qu'il est important de bien mener pour caractériser au mieux la pathologie. Dans un premier temps, nous nous proposons d'étudier l'épidémiologie du SUC, afin de mieux comprendre les facteurs prédisposant et les conséquences de la pathologie, puis nous tenterons de mettre en évidence le ou les agent(s) responsable(s) du SUC.

Comme il est préconisé par *Fiers et al., 2003*, les résultats de ces deux études distinctes seront ensuite analysés. Les résultats mais aussi la méthodologie utilisée seront ensuite discutés afin de savoir si l'objectif visé est atteint ainsi que pour permettre des améliorations potentielles du protocole.

3. Etude épidémiologique

3.1. Définitions et objectifs

Afin de caractériser au mieux l'épidémiologie du SUC, il est nécessaire de bien définir les termes utilisés. Voici quelques définitions à connaître afin de ne pas commettre d'erreur dans l'interprétation des résultats :

- Individu touché : individu présentant au moins une lésion de perte de substance (PDS)
(cf. *Photographie 1* : Lésion type de SUC (crédit :)
- Taux de mortalité : nombre de morts sur la population étudiée
- Taux de létalité : nombre de morts sur la population malade
- Taux de morbidité ou prévalence : nombre de malades sur la population étudiée
- Incidence : Nombre de nouveaux cas pendant une période donnée (année, mois, saison ...)

Plusieurs structures (associations, parc naturels, Conservatoires d'Espaces Naturels, parcs zoologiques ...) ont été contactés pour participer à cette étude. Il leur a été demandé de remplir un tableau à partir de leurs bases de données et de leurs observations sur le terrain. Les données ont ensuite été collectées et analysées.

La phase d'épidémiologie descriptive a ainsi permis de mettre en évidence, pour chaque structure / région puis au niveau national, la prévalence globale du SUC, les taux de mortalité et de létalité, sa répartition géographique ainsi que son évolution sur plusieurs années en Aquitaine. Les principales caractéristiques des lésions (extension, sévérité, distribution sur la carapace ...) ont été étudiées, ainsi que les potentiels impacts du SUC sur les individus touchés.

L'analyse de ces résultats avait pour but de faire apparaître dans un second temps (phase d'épidémiologie analytique) les facteurs favorisant la pathologie, et d'étudier son impact à l'échelle individuelle.

Enfin, grâce à la collaboration des structures partenaires, nous espérons pouvoir instaurer une phase d'épidémiologie opérationnelle, permettant la mise en place d'actions concrètes afin d'enrayer l'extension de la pathologie et d'en limiter au maximum les impacts (éviter l'introduction d'animaux porteurs ou sensibles, aménager le milieu de vie pour limiter les facteurs favorisants ...).

3.2. Matériel et méthodes

Afin d'évaluer au mieux l'épidémiologie du SUC, la plupart des structures hébergeant ou suivant des populations de cistudes d'Europe en France ont été contactées par mail, soit par diffusion directe du mail à des structures naturalistes, soit via la liste de diffusion de l'AFVPZ (Association Française des Vétérinaires de Parcs Zoologiques).

Au total, 20 structures possédant ou suivant des populations de cistudes d'Europe se sont montrées intéressées par cette étude, parmi lesquelles :

- Deux associations de protection de l'environnement : Cistude Nature et Nature Midi-Pyrénées, gérant les populations de cistudes d'Europe respectivement en Aquitaine et dans la région Midi-Pyrénées ;
- Quatre Conservatoires d'Espaces Naturels (CEN), gérant les populations de cistudes d'Europe dans l'Allier (03), le Languedoc-Roussillon, la Savoie (73) et la Corse ;
- Le Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS) de Montpellier ;
- Le Conseil Général du Bas-Rhin (67) ;
- Six parcs zoologiques : le centre d'élevage des tortues A Cupulata (2A), Zoodyssée (79), le Parc Animalier de Sainte-Croix (57), la Réserve Zoologique de la haute-Touche (36), le Parc zoologique Fort-Mardyck - Dunkerque Grand Littoral (59) et le Parc Zoologique et Botanique de Mulhouse (68) ;
- La réserve naturelle de Chérine (36) et le domaine de la Tour du Valat (13) ;
- La Société d'Histoire Naturelle d'Autun (SHNA) en Bourgogne
- Les Zones Naturelles d'Intérêt Ecologique, Faunistique et Floristique (ZNIEFF) de l'Ancienne Poudrerie de Saint-Chamas (13) et du Marais des Baux de Provence (13).

Un premier tri parmi ces structures a été effectué via les réponses données à un sondage en ligne hébergé par le site www.surveymonkey.fr (cf. ANNEXE I : *Questionnaire en ligne*).

Les populations suivies par les CEN de Languedoc-Roussillon, de Savoie et de Corse ainsi que celles gérées par le Conseil Général d'Alsace-Lorraine et par le SHNA ne semblent pas présenter de lésion évocatrice de SUC, tout comme les populations de la Réserve de la haute-Touche, des Parc Zoologique Fort-Mardyck et de Mulhouse, et des ZNIEFF de l'Ancienne Poudrerie de Saint-Chamas et du Marais des Baux de Provence.

Les autres structures ont indiqué observer des lésions de perte de substance sur la carapace de leurs tortues. Un tableau à remplir ainsi qu'un lien vers un dossier en ligne (hébergé par le site www.dropbox.com) contenant toutes les informations nécessaires pour remplir le tableau leur ont alors été envoyés.

Les données concernant une partie ou l'ensemble des individus suivis par chaque structure ont été renseignées dans le tableau. Les cistudes sont capturées aléatoirement lors de campagnes de Capture – Marquage – Relâcher (CMR), grâce à des nasses et des filets verveux relevés régulièrement. Chaque tortue est identifiée par des entailles faites à la lime sur les écailles

marginales, selon un protocole choisi par chaque structure (cf. Figure 14 : Exemples de schémas de marquage sur les écailles marginales des tortues dulçaquicoles (source : (Servan et al. 1986)). Plusieurs paramètres sont alors relevés : numéro d'identification de la tortue, son âge (juvénile ou adulte), son sexe, ses paramètres biométriques (longueur et largeur de la carapace ainsi que le poids de l'individu) et le stade d'usure de sa carapace.

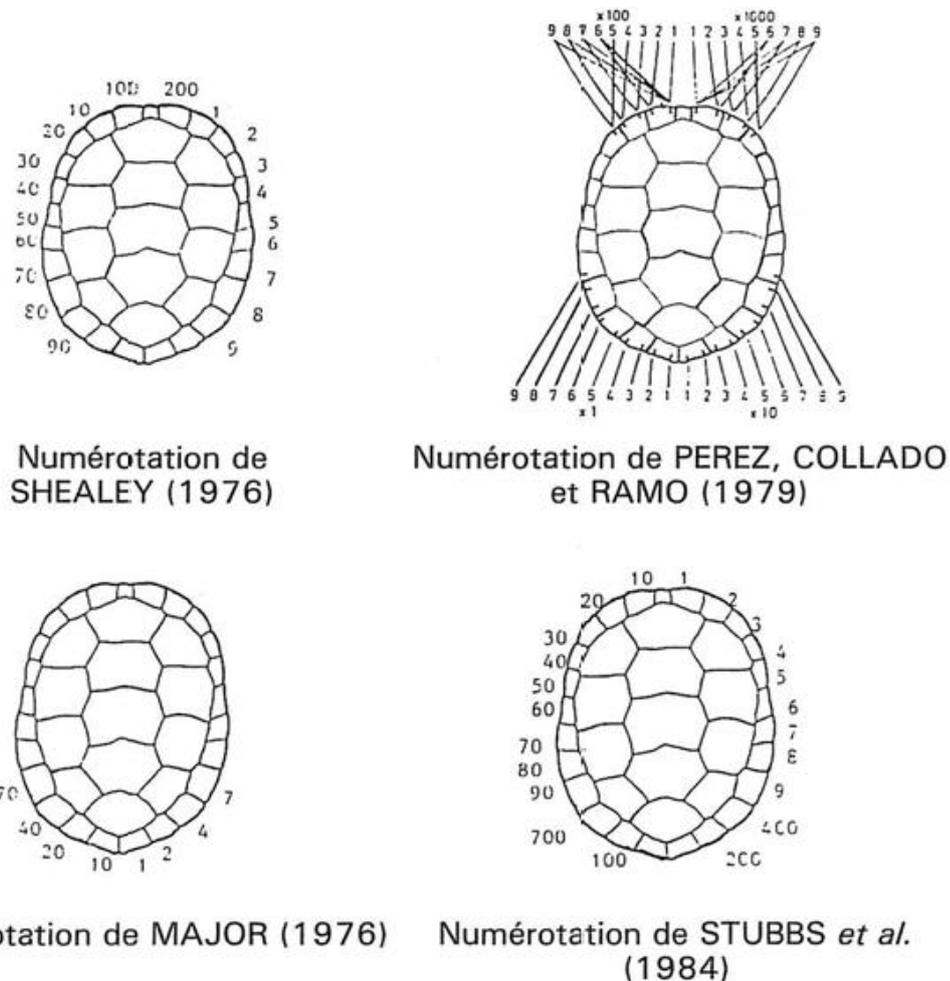


Figure 14 : Exemples de schémas de marquage sur les écailles marginales des tortues dulçaquicoles (source : (Servan et al. 1986))

Le stade d'usure de la carapace est gradé de 1 à 4 comme suit (Olivier 2002) :

- 1 : individu juvénile
- 2 : toutes les lignes d'arrêt de croissance (LAC, cf. « 1.3.6 : Croissance et longévité ») sont visibles
- 3 : une partie des LAC est effacée
- 4 : carapace entièrement lisse, plus aucune LAC n'est visible.

Afin de préciser au mieux la pathologie, plusieurs caractéristiques des lésions sont relevées : leur multiplicité (lésion(s) unique ou multiples), leur emplacement, leur grade de sévérité et leur grade d'extension.

Pour indiquer l'emplacement des lésions, la dossière et le plastron sont divisés en trois parties comme indiqué sur la *Figure 15* : Division de la dossière et du plastron en trois régions (source : (Hernandez-Divers et al. 2009)). Dans le cas d'une lésion à cheval sur deux régions, cette lésion est située au niveau de la région sur laquelle elle déborde le plus.

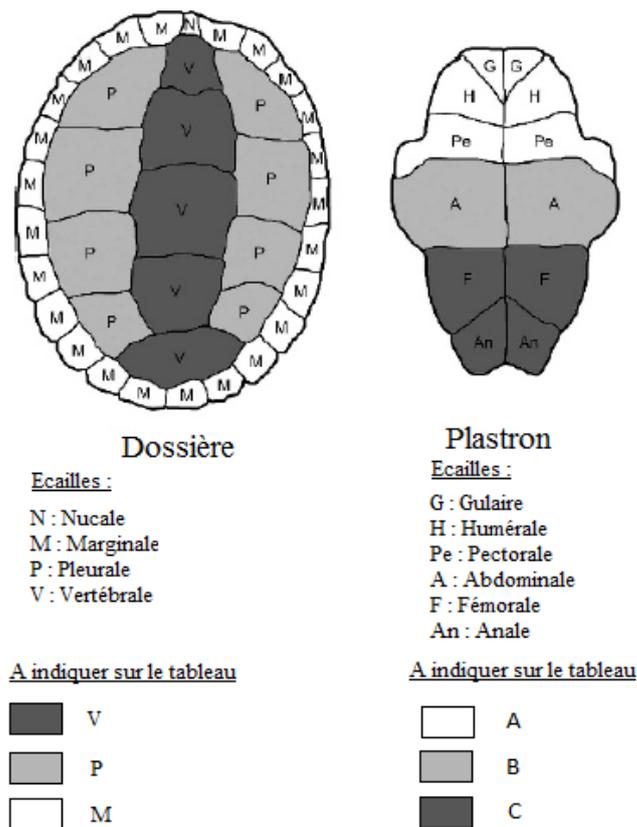


Figure 15 : Division de la dossière et du plastron en trois régions (source : (Hernandez-Divers et al. 2009))

Chaque lésion est scorée à l'aide d'une méthode proposée par (Hernandez-Divers et al. 2009), selon son grade d'extension et son grade de sévérité, définis ainsi :

- Grade d'extension :
 - 0 : absence de lésion visible
 - 1 : lésion ne dépassant pas 10% de la surface de la région touchée
 - 2 : lésion s'étalant sur une surface comprise entre 10 et 50% de la surface de la région touchée
 - 3 : lésion dépassant 50% de la surface de la région touchée

- Grade de sévérité :
- 0 : absence de lésion visible
 - 1 : lésion superficielle n'atteignant que l'écaille
 - 2 : lésion moyennement profonde touchant une partie de l'ostéoderme
 - 3 : lésion profonde atteignant toute la profondeur de l'ostéoderme.

Dans le cas de multiples petites lésions, nous n'avons compté qu'une seule « lésion fictive » par écaille, dont la surface est égale à la somme des surfaces de toutes les petites lésions touchant l'écaille, et dont la sévérité est égale à la sévérité de la lésion la plus grave touchant l'écaille.

La *Figure 16* illustre plusieurs lésions avec des scores de sévérité différents.

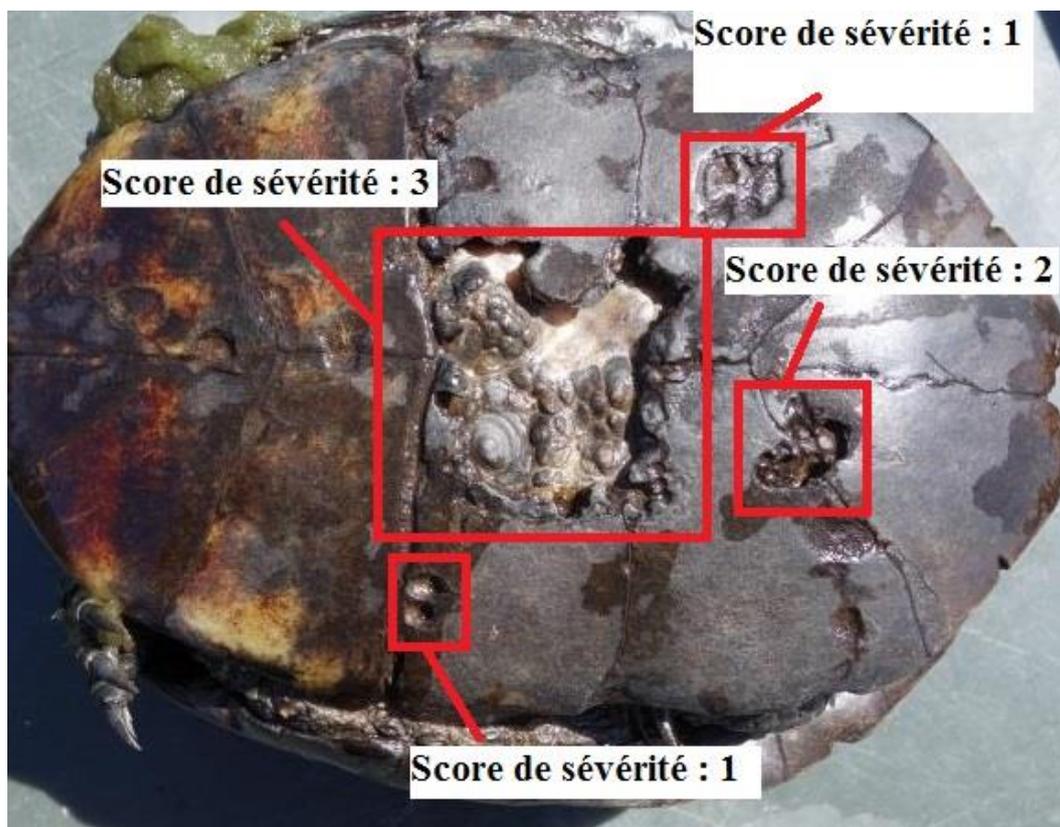


Figure 16 : Score de sévérité illustré (crédit :Z. Owen-Jones)

Les données concernant les différents milieux de vie des cistudes capturées sont aussi renseignées dans le tableau, à savoir : le type d'eau (stagnante, eutrophisée ou eau courante) ; le substrat du milieu de vie (blocs / roches, galets / cailloux, graviers, sables ou limon / argile / vase) avec les pourcentages de recouvrement de chaque substrat ; la superficie du milieu aquatique ; sa profondeur et la présence éventuelle d'autres espèces de tortues.

L'analyse de toutes ces données permet de dégager plusieurs caractéristiques du SUC. Elle sert notamment à calculer un taux de prévalence global, puis à mettre en évidence d'éventuelles populations qui semblent les plus touchées (prévalence par lieu de capture, par âge et par sexe). Une éventuelle corrélation entre la prévalence et le stade d'usure de la carapace est systématiquement recherchée.

Les caractéristiques principales des lésions sont aussi étudiées (multiplicité, distribution préférentielle sur le plastron ou la dossière, répartition sur les différentes régions de la carapace ...). Pour chaque lésion, un score lésionnel est calculé en effectuant le produit du score de gravité par le score d'extension. Enfin, l'addition de tous les scores lésionnels sur une tortue donne le *Total Shell Disease Score* (TSDS), ou « score de gravité » de la tortue touchée (Hernandez-Divers et al. 2009).

Ce TSDS est utilisé pour savoir si certaines catégories de tortues sont plus gravement touchées que d'autres (en fonction de leur âge, de leur sexe et de leur lieu de capture), et une éventuelle corrélation entre la gravité de l'affection et le stade d'usure de la carapace est systématiquement recherchée.

Enfin, l'indice biométrique de chaque tortue adulte est calculé par le ratio poids / longueur de la carapace, indice corrélé à l'état de santé global de la tortue selon *Blakey et Kirkwood, 1995*. Cet indice nous permet de mesurer l'impact des lésions et de leur gravité sur l'état de santé global des tortues adultes, l'indice biométrique n'ayant aucune signification chez les jeunes en croissance.

Toutes les données ainsi récoltées ont été interprétées grâce à des tests biostatistiques paramétriques, avec un seuil de confiance de 95% (cf. ANNEXE II : Tests biostatistiques utilisés) :

- Un test du khi-deux a été utilisé pour déterminer s'il existe des différences significatives entre les prévalences selon les lieux de capture, le sexe des individus, leur âge et le stade d'usure de leur carapace ;
- Pour déterminer l'existence d'un lien entre prévalence et paramètres biométriques ou type d'eau, ainsi qu'entre gravité et sexe, âge, localisation sur le plastron / la dossière, ou type d'eau, nous avons utilisé dans un premier temps un test de Fischer afin de déterminer si les variances entre les deux groupes étaient égales. Si c'était le cas, nous avons soumis ces deux groupes à un test de Student, sinon à un test d'Aspin-Welch.
- Une analyse de variance (ANOVA) a été utilisée pour rechercher un potentiel lien entre gravité moyenne de la pathologie et lieu de capture ou stade d'usure de la carapace, et gravité moyenne des lésions et leur localisation sur la carapace ou le type d'eau du lieu de prélèvement.
- Enfin, des régressions linéaires ont été effectuées pour mettre en évidence des potentielles corrélations entre gravité de la pathologie et indice biométrique, profondeur maximale ou superficie du lieu de capture, ainsi qu'entre prévalence de la pathologie et profondeur maximale ou superficie du lieu de capture.

L'unité d'échantillonnage¹ varie en fonction de l'analyse. En effet, les différentes unités d'échantillonnage utilisées sont :

- Les tortues pour l'étude des prévalences ;
- Les tortues touchées pour l'étude des gravités ;
- Les lésions pour l'étude des caractéristiques lésionnelles ;
- Et les lieux pour l'étude de l'impact du milieu de vie.

Attention cependant à l'unité d'échantillonnage pour l'étude de la multiplicité des lésions, qui est l'ensemble des tortues touchées : on cherche à comparer le nombre de tortues touchées présentant des lésions multiples à celui des tortues touchées présentant des lésions uniques !

Les analyses biostatistiques ont été réalisées à l'aide des formules et de l'utilitaire d'analyse présents dans le logiciel Microsoft® Excel 2016. Toutes les barres d'erreur sur les graphiques représentent un intervalle de confiance à 95%.

¹ Unité d'échantillonnage : entité concrète, comme un individu, ou abstraite, comme une association végétale, une relation comportementale, etc., sur laquelle on mesure ou on observe les variables propres (Fiers et al., 2003).

3.2.1. En Aquitaine

Cistude Nature est une association régie par la loi de 1901 agréée au titre de protection de l'environnement au niveau de la région Aquitaine. Créée en 1995, elle a pour but de gérer des espaces naturels, de mettre en place des études et des programmes de conservation d'espèces et de sensibiliser le grand public à la conservation de l'environnement. Cette association gère notamment les populations de cistudes d'Europe dans toute la région Aquitaine (Priol 2009).

Les données concernant 1558 tortues capturées entre 1999 et 2014 ont été récupérées et analysées. Les captures se sont effectuées par piégeage aléatoire au niveau de 18 étangs répartis sur toute la région Aquitaine. L'âge et le sexe des individus ont été relevés, ainsi que la présence d'éventuelles lésions. En revanche, les paramètres biométriques comme la taille de la carapace et le poids de la tortue, ou encore la gravité et l'extension des lésions n'ont pas été renseignés, tout comme le stade d'usure de la carapace. Les lésions ont été localisées seulement sur le plastron ou la dossière, aucune localisation plus précise n'a été communiquée.

3.2.2. A la Tour du Valat

La Tour du Valat est un institut privé de recherche ayant le statut juridique d'une fondation à but non lucratif. Elle gère un domaine naturel s'étendant sur près de 2 600 ha au cœur de la Camargue, dont 1 845 ha sont classés en Réserve Naturelle Régionale. Le dernier inventaire du patrimoine naturel du domaine recense 590 espèces de plantes, plus de 300 espèces d'oiseaux parfois rares, et de nombreuses espèces de reptiles et batraciens (Tour du Vallat 2016).

Les tortues ont été capturées au sein de trois étangs (Esquineau, Faisse et Petit Badon), dont l'eau est eutrophisée et dont le fond est recouvert de limons, argiles et autres vases. Leurs profondeurs maximales ne dépassent pas un mètre, et leurs superficies sont respectivement de 20, 8 et 4 hectares.

Au total, 108 tortues provenant de ces 4 étangs ont été capturées de manière aléatoire de juin à août 2016. Cet échantillon compte 26 immatures et 82 adultes, répartis en 58 femelles et 46 mâles, le sexe de 4 individus n'ayant pu être déterminé car trop jeunes.

3.2.3. Dans la Réserve Naturelle de Chérine

La Réserve Naturelle de Chérine a été créée en 1985 dans le but au départ de protéger l'avifaune que le site abritait. Aujourd'hui, c'est l'intégralité d'un écosystème remarquable qui est protégée sur les 370 ha de la réserve. La cistude d'Europe en est l'une des espèces phares, et de nombreuses études sont menées chaque année sur cet animal protégé (*cf. Photographie 5*) (Van Ingen et al. 2013).

Au total, 1 002 tortues issues de captures entre 2007 et 2016 ont été analysées à partir de la base de données fournie par nos partenaires (tableau récapitulatif des numéros, dates et lieux de captures, âges, sexes et paramètres biométriques des tortues ainsi qu'une base de données photographiques). Les captures ont été effectuées par piégeage aléatoire au niveau de 27 étangs de la réserve. Chaque photographie a été analysée et les éventuelles lésions présentes sur la carapace ont été reportées dans la base de données.

Les lieux de prélèvement sont caractérisés par une eau stagnante non eutrophisée ainsi qu'un fond recouvert de limons, argiles et autres vases. Leur profondeur varie entre 1,2 et 2,5 m, et leur superficie varie énormément d'un étang à l'autre (de quelques m² à plus de 40 hectares). Notons que certains lieux de prélèvement sont constitués de multiples mares de petite taille.

L'échantillon, regroupant 934 adultes pour 68 immatures, possède un sex-ratio de 50% (476 mâles et 475 femelles, les sexes des autres individus n'étant pas communiqués).

3.2.4. Au centre d'élevage des tortues de A Cupulatta

A Cupulatta est un centre d'élevage des tortues situé en Corse du Sud (2A). Le parc présente au public plus de 3 000 tortues de 170 espèces différentes. Il a été créé en 1998 par l'association A Cupulatta, qui signifie « tortue » en langue corse (A Cupulatta 2013).

La population de cistudes d'Europe est composée au total de 13 individus : 5 mâles pour 8 femelles. Le bassin d'accueil comporte un fond en béton ensablé, recouvert au fur et à mesure des années par une boue de décomposition. Sa profondeur est de 1,5 m au centre.

3.2.5. En région Auvergne

Le CEN Allier est une association régie par la loi de 1901 qui a pour mission la connaissance, la préservation, la gestion et la valorisation du patrimoine naturel. Créée en 1992, elle est chargée de la préservation de l'environnement au niveau du département de l'Allier (03) et d'espaces naturels adjacents (CEN Allier, s. d.).

Notre contact au sein du CEN Allier nous a fourni des données (date et lieu de capture, sexe, âge, stade d'usure de la carapace, données biométriques et caractéristiques des lésions) concernant 270 cistudes d'Europe capturées entre 2012 et 2014 dans deux étangs de l'Allier (03). Cet échantillon comprend 69 mâles et 137 femelles ; les 64 individus restants n'étant pas sexés car immatures.

En revanche, aucune caractéristique des lieux de capture n'a été relevée faute de temps.

3.2.6. Au Parc Zoologique de Sainte-Croix

Le Parc Zoologique de Sainte-Croix a été créé en 1980 à Rhodes, en Moselle (57). Le parc regroupe plus de 1 500 animaux issus d'environ 100 espèces pour la plupart européennes, en semi-liberté sur 120 hectares (Parc Animalier de Sainte-Croix, s. d.).

Le bassin accueillant les tortues, d'une surface de 100m², est constitué d'une partie dont la profondeur ne dépasse pas un mètre, et d'une autre partie plus profonde (jusqu'à 1,50 m) pour permettre aux tortues en hivernage de ne pas être prise dans la glace lors d'un gel. Le fond est recouvert de vase. Les cistudes ont aussi accès à une surface herbacée constituée notamment de carex, de roseaux, de laïches, de joncs et d'iris.

Les 9 tortues du zoo ont été capturées en 2013, et une base de données photographique a été créée. Cet échantillon regroupe 5 femelles pour 4 mâles, tous adultes.

3.2.7. France entière

Nous avons pu analyser 2960 cistudes d'Europe provenant des cinq lieux ci-dessus. Toutes les tortues ont été capturées par piégeage aléatoire. Les caractéristiques des cistudes ont été fournies à partir des bases de données écrites et/ou photographiques de nos partenaires.

L'échantillon se décompose en 2557 adultes et 163 juvéniles, les âges des tortues restantes n'ayant pas été communiqués. Le sex-ratio de l'échantillon (52/48) penche légèrement en faveur des mâles (1 315 mâles pour 1 281 femelles, les sexes des autres individus n'ayant pas été communiqués).

De plus, nos partenaires ont recensé 676 cistudes d'Europe provenant de lieux strictement indemnes de SUC. Aucune information (sexe, âge, stade d'usure de la carapace, ...) concernant ces tortues n'a été communiquée.

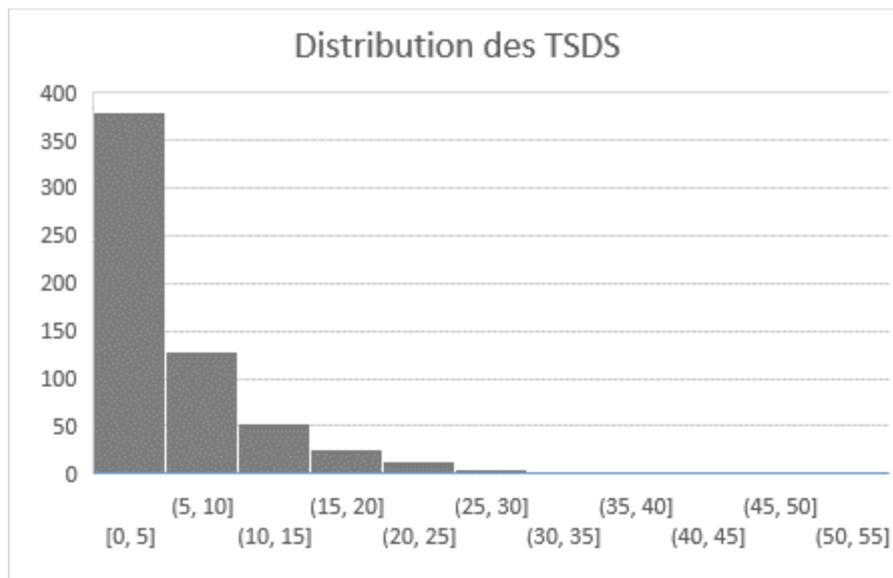
Au final, 3636 cistudes d'Europe ont été analysées pour notre étude.

3.3. Résultats

Sur les 3636 cistudes d'Europe étudiées, 765 présentent des lésions caractéristiques du SUC, soit une prévalence globale de $21,04 \pm 1,32$ % en France.

La gravité de l'atteinte est mesurée par le TSDS, où « score de gravité ».

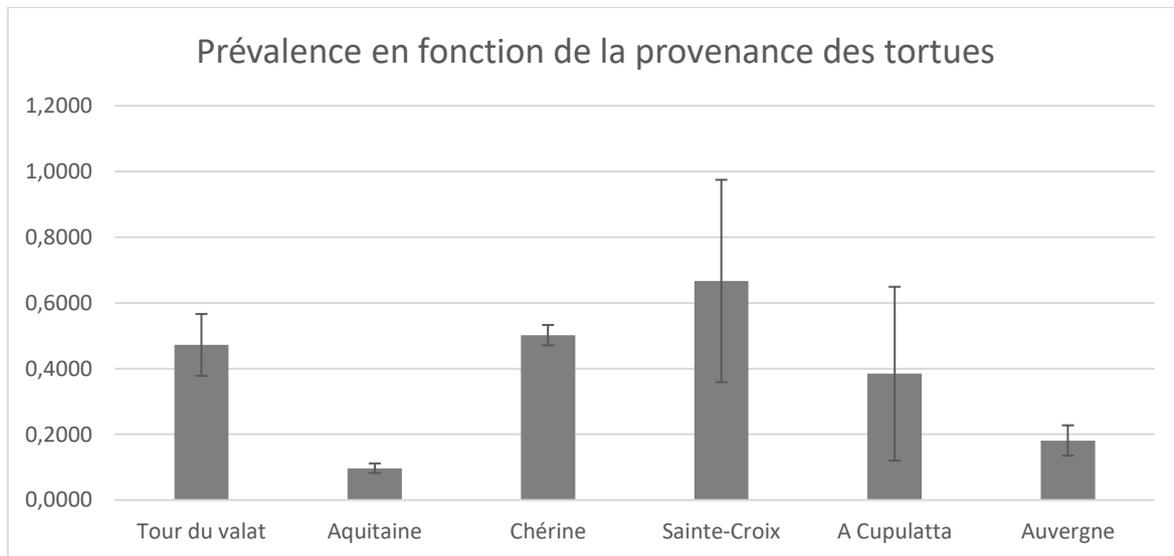
Le TSDS moyen de l'ensemble des tortues touchées par le SUC est de 6,55, mais ce résultat est à moduler car l'intervalle de confiance est très large (6,84). On remarque un grand nombre de cistudes peu touchées pour seulement quelques individus très gravement affectés (cf. *Graphique 1*).



Graphique 1 : Distribution des TSDS chez les cistudes de France

3.3.1. Impact du lieu de capture

La prévalence du SUC varie de manière significative en fonction du lieu de prélèvement ($p\text{-value} = 6,58.10^{-120}$; cf. *Graphique 2*) : relativement peu de tortues semblent touchées en Aquitaine (9,69 %), alors que les prévalences avoisinent les 50 % à la Tour du Valat et dans la Réserve Naturelle de Chérine. Les prévalences du SUC dans le Parc Zoologique de Sainte-Croix et dans le Centre d'Élevage A Cupulatta sont peu interprétables, du fait d'intervalles de confiance relativement étendus (respectivement $66,67 \pm 30,80$ % et $38,46 \pm 26,44$ %).



Graphique 2 : Prévalence du SUC en fonction de la provenance des tortues

Les prévalences de chaque lieu étudié sont représentées sur la *Figure 17*.

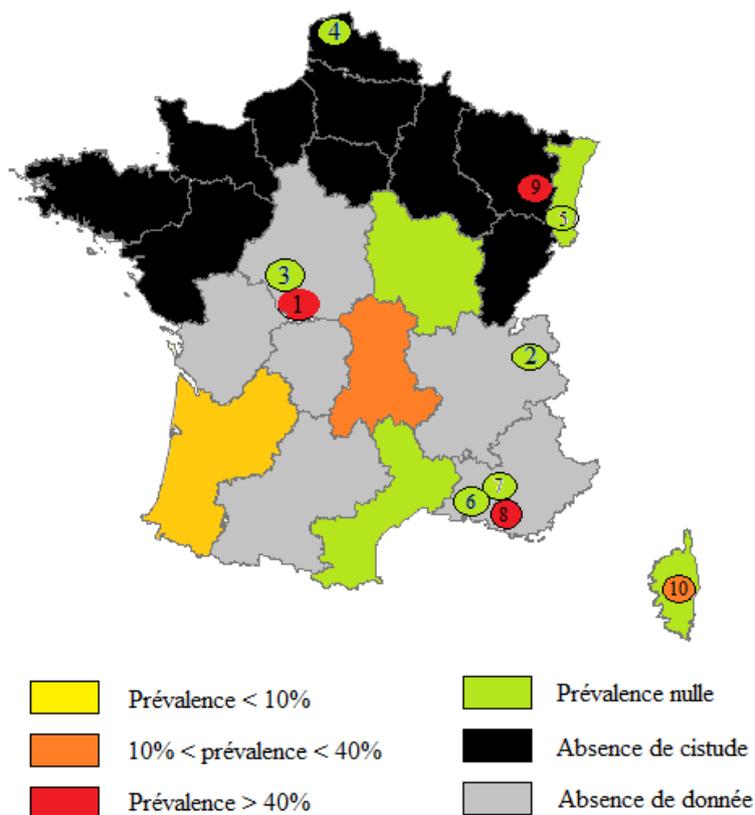


Figure 17 : Carte choroplèthe de la prévalence du SUC en France.

1 : Réserve Naturelle de Chérine ; 2 = Département de Savoie ; 3 : Réserve Zoologique de la haute-Touche ; 4 : Parc Zoologique de Fort-Mardyck ; 5 : Parc Zoologique de Mulhouse ; 6 : ZNIEFF de l’Ancienne Poudrerie de Saint-Chamas ; 6 : ZNIEFF du Marais des Baux de Provence ; 8 : Domaine de la Tour du Valat.

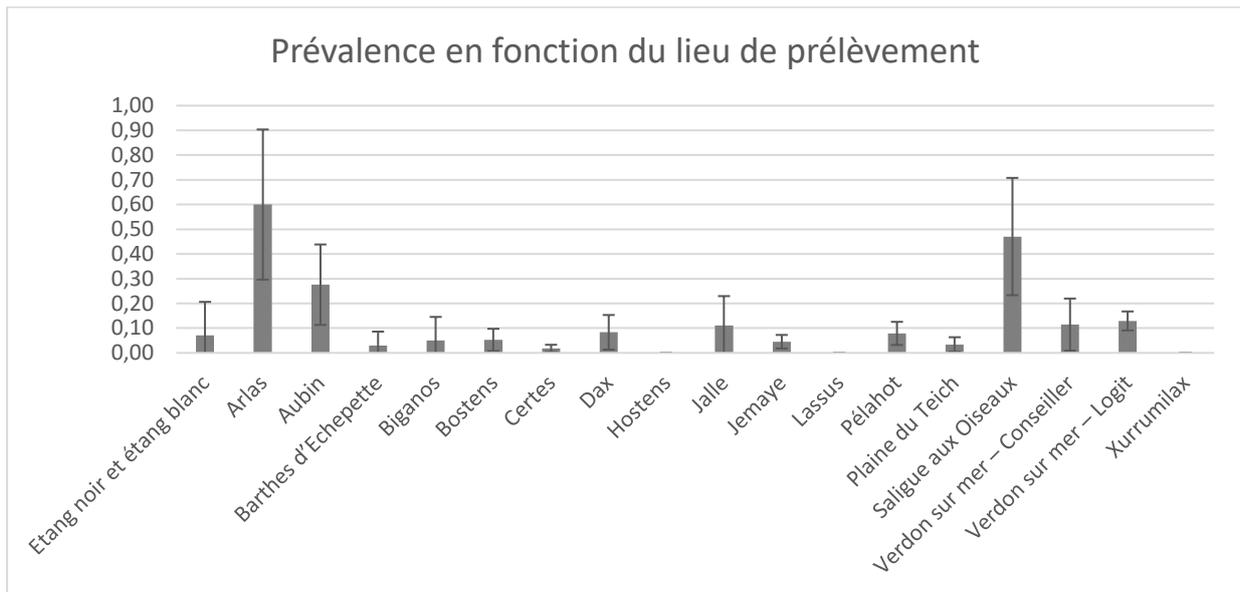
Selon le lieu étudié (région ou réserve naturelle), les différences de prévalence en fonction de l’étang de prélèvement sont plus ou moins significatives (cf. *Tableau 1*).

Lieu	p-value
Région Aquitaine	$1,79.10^{-21}$
Région Auvergne	0,29
Réserve Naturelle de Chérine	$5,70,10^{-16}$
Réserve Naturelle de la Tour du Valat	0,32

Tableau 1 : p-values des différences de prévalence entre les étangs de prélèvement selon les lieux étudiés.

En Aquitaine notamment, la prévalence varie de manière significative entre les étangs de prélèvement.

Dans cette région, la plupart des lieux prélevés montre une prévalence assez faible (moins de 10 %), cependant, les étangs d’Arlas, Aubin et Saligues-aux-Oiseaux affichent des taux de SUC significativement très élevés (respectivement 60, 28 et 47 % ; $p\text{-value} = 1,79.10^{-21}$) (cf. Graphique 3).



Graphique 3 : Prévalence du SUC en fonction du lieu de prélèvement chez les cistudes capturées en Aquitaine

Chaque lieu étudié a été localisé géographiquement (cf. Figure 18). On remarque alors une relative proximité géographique entre les lieux où la prévalence du SUC est élevée.

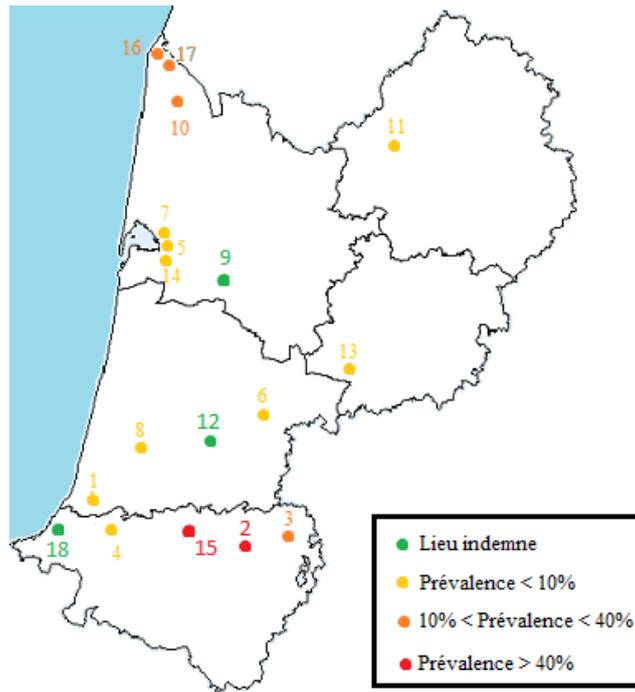
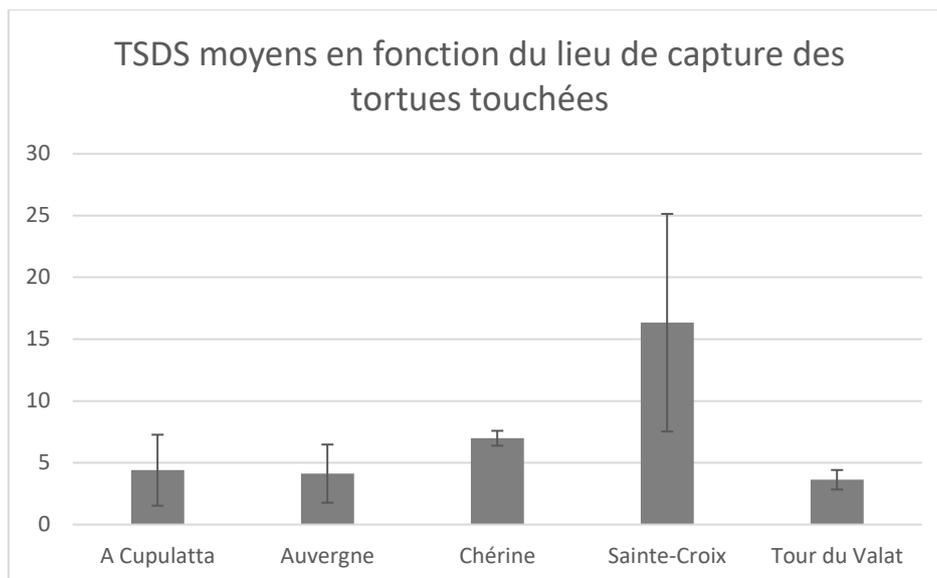


Figure 18 : Lieux de capture et prévalence en Aquitaine.

1 : Etang noir et Etang blanc ; 2 : Arlas ; 3 : Aubin ; 4 : Barthes d'Echepette ; 5 : Biganos ; 6 : bostens ; 7 : Certes ;
 8 : Dax ; 9 : Hostens ; 10 : Jalle ; 11 : Jemaye ; 12 : Lassus ; 13 : Pélahot ; 14 : Plaine du Teich ;
 15 : Saligue-aux-Oiseaux ; 16 : Verdon sur Mer – Conseiller ; 17 : Verdon sur Mer – Logit ; 18 : Xurrumilax.

L'étude du score de gravité en fonction du lieu de capture donne elle aussi des résultats significatifs. Elle révèle une moyenne des TSDS plus élevée dans la Réserve Naturelle de Chérine et beaucoup plus grande encore au Parc Zoologique de Sainte-Croix que dans les autres lieux ($p\text{-value} = 3,13.10^{-6}$; cf. Graphique 4).



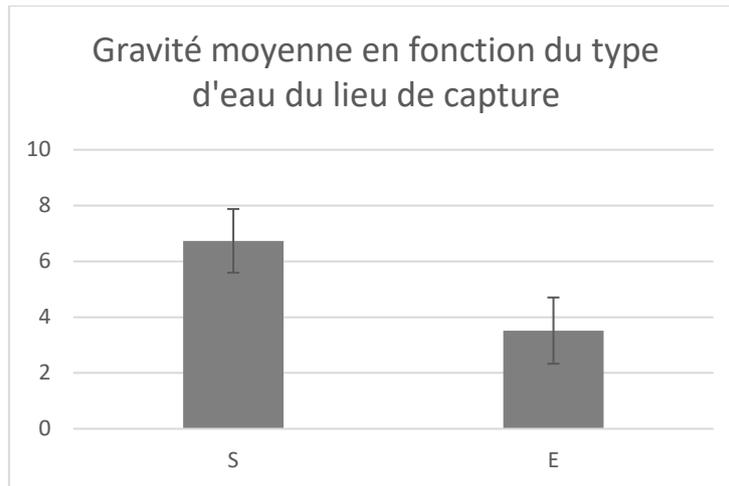
Graphique 4 : Score de gravité moyen en fonction de la provenance des cistudes touchées

En revanche, aucune différence de score de gravité n'est mise en évidence entre les étangs de prélèvement, que ce soit à la Tour du Valat ($p\text{-value} = 0,23$), à la Réserve Naturelle de Chérine ($p\text{-value} = 0,31$) ou en Auvergne ($p\text{-value} = 0,066$).

Afin d'identifier des facteurs environnementaux favorisant, les différences de prévalence et de gravité du SUC en fonction des données caractérisant les lieux de captures ont été analysées.

La prévalence de la maladie ne varie pas de manière significative en fonction de la profondeur maximale ($r^2 = 0,06$), de la superficie ($r^2 = 0,01$) et du type d'eau ($p\text{-value} = 0,47$) du lieu de capture. De même, aucune différence significative de gravité en fonction de la profondeur maximale ($r^2 = 0,08$) ou de la superficie ($r^2 = 2.10^{-4}$) du lieu de capture.

En revanche, on remarque que les tortues provenant d'un lieu de capture où l'eau est eutrophisée (E) sont significativement moins touchées que les tortues provenant d'un étang non eutrophisé (S) ($p\text{-value} = 0,03$; cf. Graphique 5).

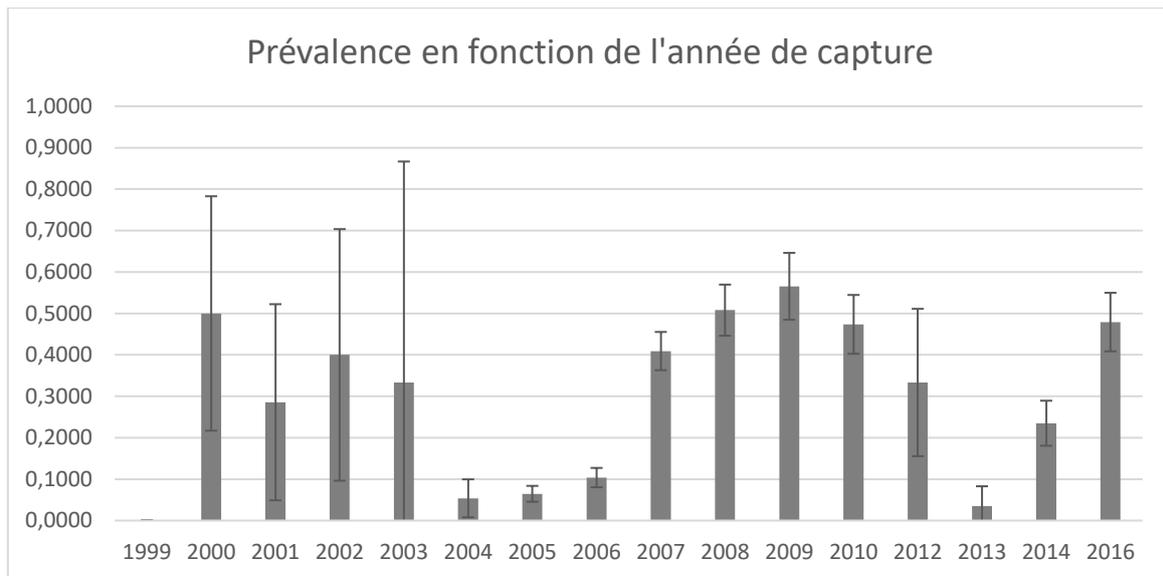


Graphique 5 : TSDS moyen en fonction du type d'eau de l'étang de capture

Ainsi, il existe des différences significatives de prévalence et de gravité du SUC en fonction du lieu de capture, avec une proximité géographique des lieux avec une forte prévalence. Cependant, aucun facteur environnemental favorisant n'a pu être mis en évidence par notre étude. Néanmoins, l'absence d'eutrophisation de l'eau semble être un facteur aggravant du SUC.

3.3.2. Evolution temporelle du SUC

L'évolution du SUC dans le temps montre des différences significatives entre les différentes années de prélèvement ($p\text{-value} = 2,01.10^{-107}$; cf. Graphique 6). Les résultats antérieurs à 2003 sont peu interprétables, du fait d'intervalles de confiance très étendus. Entre 2004 et 2006, les prévalences sont relativement faibles ; en revanche, elles sont plus élevées entre 2007 et 2012. Puis, elles redeviennent faibles en 2013 et augmentent progressivement jusqu'aux dernières captures en 2016.



Graphique 6 : Prévalence du SUC en fonction de l'année de capture en France

Aucune différence significative de gravité du SUC n'est objectivée entre les années de prélèvement ($p\text{-value} = 0,12$).

3.3.3. Susceptibilité des cistudes

Afin de déterminer les types d'individus les plus susceptibles de présenter des lésions caractéristiques du SUC, nous avons comparé les prévalences ainsi que les scores de gravité entre les individus de sexe, d'âge et de stade d'usure de la carapace différents.

Si l'on considère l'ensemble des individus capturés, aucune différence de prévalence n'est mise en évidence entre les mâles et les femelles ($p\text{-value} = 0,12$).

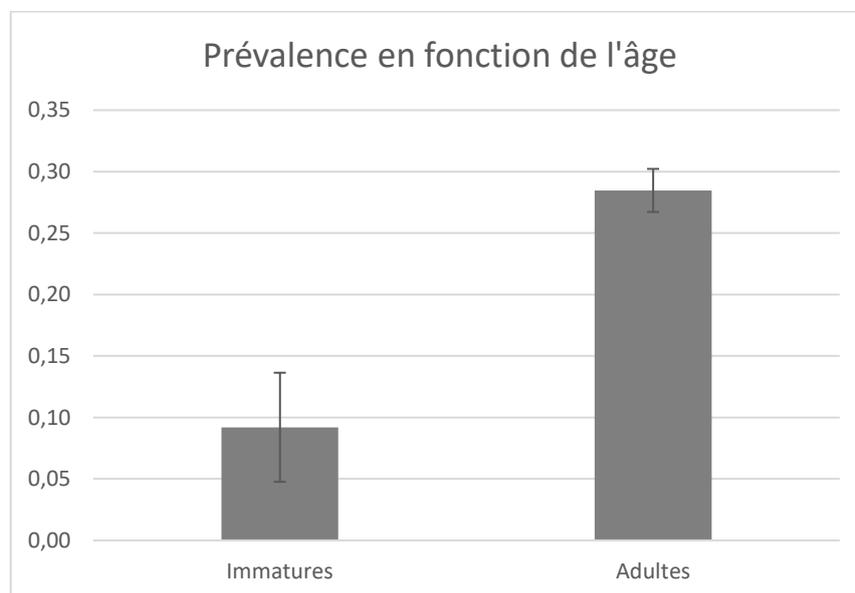
Cette absence d'influence du sexe se retrouve au centre A Cupulatta ($p\text{-value} = 0,93$), au Domaine de la Tour du Valat ($p\text{-value} = 0,16$), au Parc Zoologique de Sainte Croix ($p\text{-value} = 0,34$), en Auvergne ($p\text{-value} = 0,39$) et dans la Réserve Naturelle de Chérine ($p\text{-value} = 0,07$).

En revanche, en Aquitaine, on note que la prévalence du SUC est significativement plus élevée chez les mâles que chez les femelles (respectivement 11,47 et 7,69 % ; $p\text{-value} = 0,02$).

Comme pour la prévalence, il n'existe aucune différence de gravité entre les mâles et les femelles touchés si l'on considère l'ensemble des individus capturés ($p\text{-value} = 0,44$).

Ce résultat se retrouve pour la plupart des lieux étudiés, à l'exception de la Région Auvergne, où les femelles atteintes du SUC semblent plus gravement touchées que les mâles ($p\text{-value} = 0,05$).

Sur l'ensemble des cistudes étudiées, les adultes sont significativement plus touchés que les individus juvéniles ($p\text{-value} = 8,65.10^{-8}$; cf. Graphique 7).



Graphique 7 : Prévalence en fonction de l'âge des cistudes en France

On retrouve ces résultats au Domaine de la Tour du Valat ($p\text{-value} = 0,005$), dans la Réserve Naturelle de Chérine ($p\text{-value} = 2,49.10^{-13}$) ainsi qu'en Auvergne ($p\text{-value} = 0,001$).

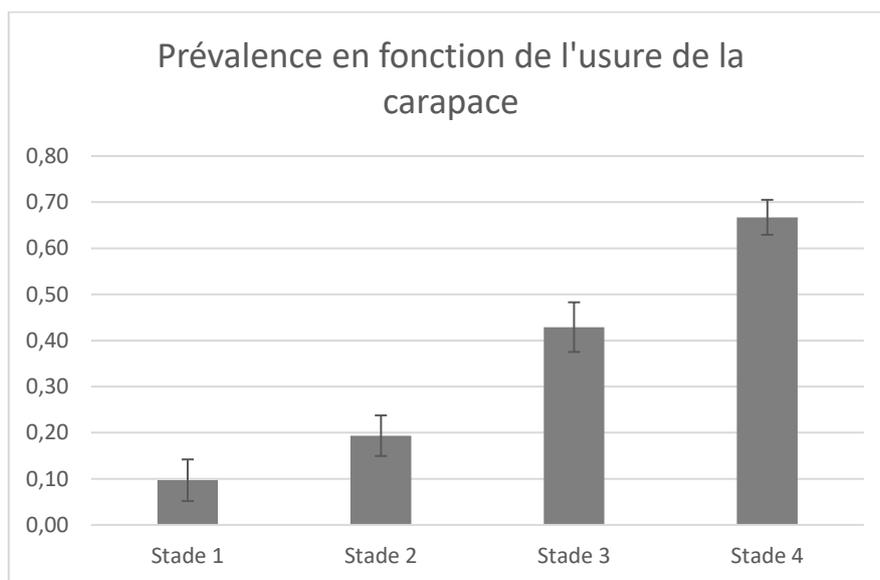
Le faible nombre de juvéniles capturés ne permet en revanche pas d'obtenir de résultats significatifs en Aquitaine, au centre A Cupulatta et au Parc Zoologique de Sainte-Croix (les $p\text{-values}$ sont respectivement de 0,44 ; 0,43 et 0,34).

Sur l'ensemble des cistudes présentant une lésion caractéristique du SUC en France, l'affection se montre généralement plus grave chez les adultes que chez les individus juvéniles (gravités moyennes respectives de 6,63 et 3,14 ; $p\text{-value} = 7,77.10^{-4}$).

Ce résultat est retrouvé dans la Réserve Naturelle de Chérine ($p\text{-value} = 0,02$) et en Auvergne ($p\text{-value} = 0,013$). En revanche, aucune différence significative de gravité n'est mise en évidence entre adultes et juvéniles touchés au Domaine de la Tour du Valat ($p\text{-value} = 0,07$) et au centre A Cupulatta ($p\text{-value} = 0,14$). L'absence de données ou le faible nombre de juvéniles capturés ne permettent pas de conclure en Aquitaine et au Parc Zoologique de Sainte-Croix.

Ces résultats sont appuyés par ceux obtenus en étudiant la prévalence et la gravité moyenne du SUC en fonction du stade d'usure de la carapace des cistudes.

En effet, sur l'ensemble des cistudes étudiées, on remarque que la prévalence du SUC augmente avec le stade d'usure de la carapace ($p\text{-value} = 2,56.10^{-60}$; cf. Graphique 8).

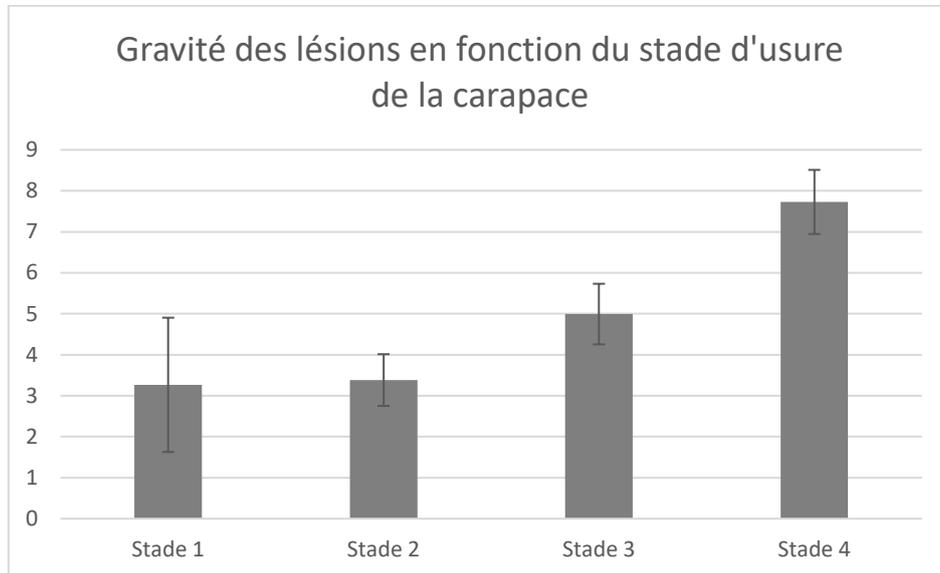


Graphique 8 : Prévalence en fonction du stade d'usure de la carapace des cistudes en France

On observe le même résultat au Domaine de la Tour du Valat ($p\text{-value} = 0,0005$), dans la Réserve naturelle de Chérine ($p\text{-value} = 4,17.10^{-43}$) et en Auvergne ($p\text{-value} = 0,001$).

La différence de prévalence du SUC en fonction du stade d'usure de la carapace n'est en revanche pas significative au Parc Zoologique de Sainte-Croix ($p\text{-value} = 0,14$). L'absence de données concernant les stades d'usure de la carapace des individus capturés en Aquitaine et au centre A Cupulatta ne nous permettent pas d'obtenir des résultats.

Sur l'ensemble des tortues capturées, on remarque que les individus semblent plus gravement touchés lorsque leur carapace est usée (stade d'usure 3 ou 4) ($p\text{-value} = 7,53.10^{-8}$; cf. Graphique 9).



Graphique 9 : Score de gravité en fonction du stade d'usure de la carapace des cistudes de France

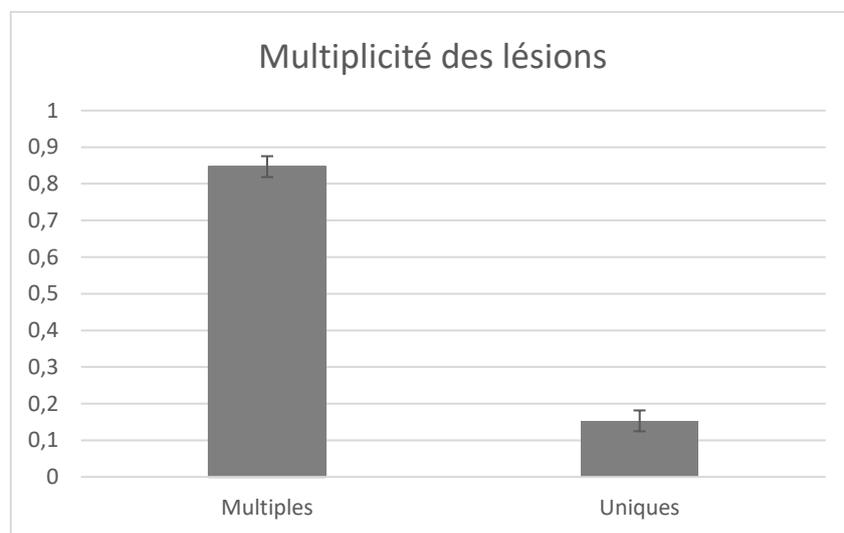
Ce résultat est retrouvé dans la Réserve Naturelle de Chérine ($p\text{-value} = 5,62.10^{-4}$). En revanche, aucune différence significative de gravité selon le stade d'usure de la carapace n'est mise en évidence au Domaine de la Tour du Valat ($p\text{-value} = 0,41$) et en Auvergne ($p\text{-value} = 0,14$). Enfin, aucun résultat ne peut être donné au Parc Zoologique de Sainte-Croix, en Aquitaine et au centre A Cupulatta, faute de données suffisantes.

L'âge avancé et l'usure de la carapace sont donc deux facteurs prédisposant au SUC et péjoratifs pour la gravité de ce syndrome. En revanche, on ne remarque aucune influence du sexe sur la prévalence et la gravité du SUC.

3.3.4. Caractéristiques des lésions

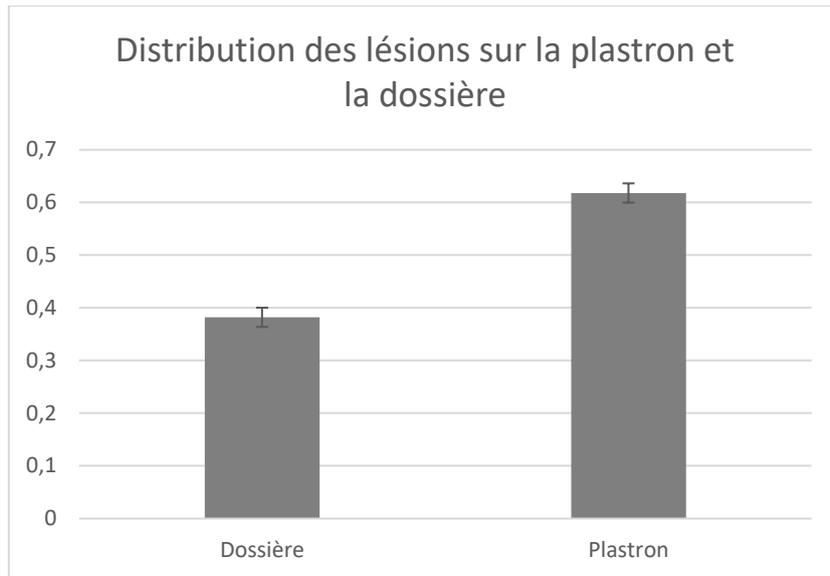
L'analyse des données fournies par nos partenaires a permis de caractériser les lésions du SUC en déterminant leur multiplicité, leur localisation préférentielle ainsi que leur gravité moyenne en fonction de leur emplacement sur la carapace.

Les individus touchés par le SUC présentent en grande majorité des lésions multiples (cf. *Graphique 10*). Ce résultat est retrouvé dans l'ensemble des six lieux étudiés, à l'exception de l'Aquitaine, où aucune donnée concernant la multiplicité des lésions n'a été fournie.

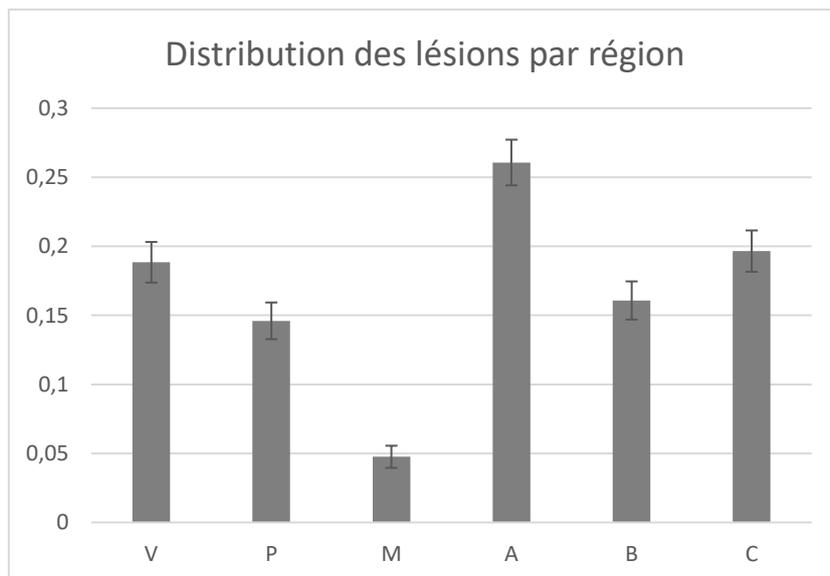


Graphique 10 : Proportion de lésions uniques et multiples chez les cistudes touchées en France

Chez les tortues touchées par le SUC, les lésions sont préférentiellement situées sur le plastron (cf. *Graphique 11*), plus particulièrement sur sa partie antérieure. Les lésions situées sur la dossière se trouvent quant à elles majoritairement en partie centrale (cf. *Graphique 12*).

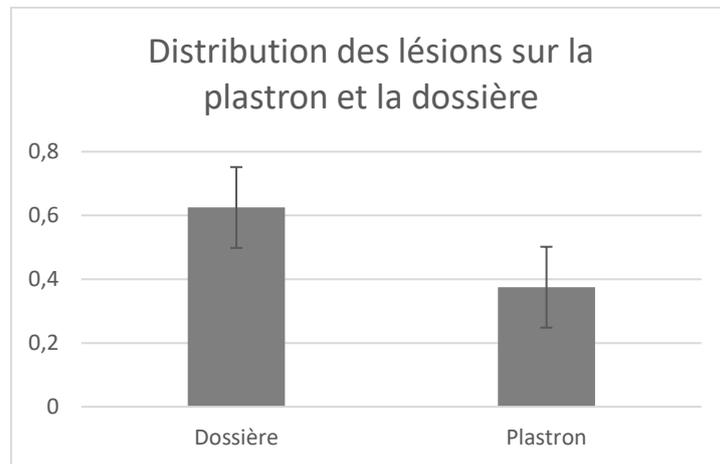


Graphique 11 : Répartition des lésions sur le plastron et la dossière des cistudes de France



Graphique 12 : Distribution des lésions chez les cistudes de France en fonction des régions de la carapace décrites dans la Figure 15

La répartition préférentielle des lésions sur le plastron se retrouve chez les cistudes touchées de l'ensemble des lieux étudiés, à l'exception des tortues du Parc Zoologique de Sainte-Croix, chez qui les lésions sont plutôt situées sur la dossière (cf. Graphique 13).



Graphique 13 : Localisation des lésions sur le plastron et la dossière des cistudes du Parc Zoologique de Sainte-Croix

Les lésions sont préférentiellement situées sur la partie antérieure du plastron chez les cistudes touchées de la Réserve Naturelle de Chérine et au centre A Cupulatta.

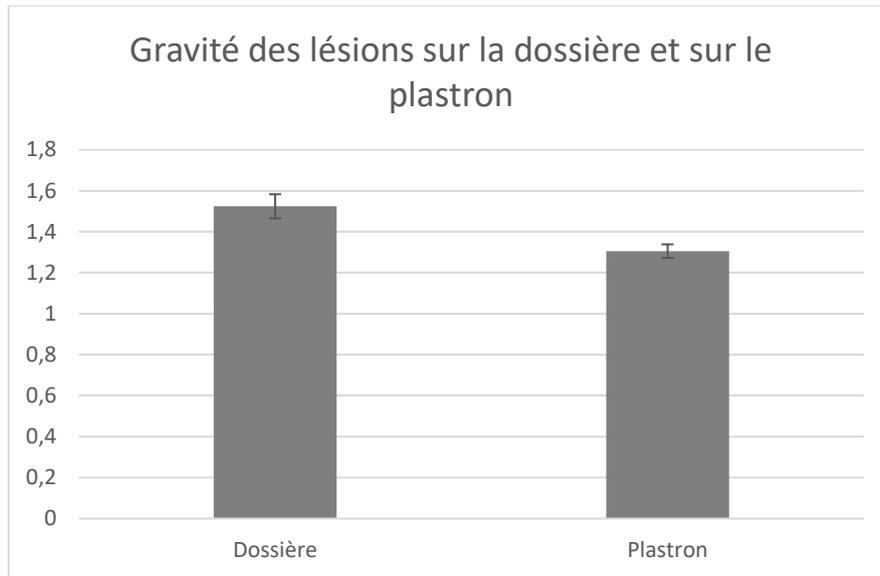
Aucune différence significative dans la répartition des lésions sur la carapace des cistudes du Domaine de la Tour du Valat et d'Auvergne n'est mise en évidence.

Au Parc Zoologique de Sainte-Croix, les lésions se situent préférentiellement sur les écailles marginales.

Aucune donnée sur la localisation précise des lésions n'est disponible pour les cistudes d'Aquitaine.

Nous avons cherché à savoir si la localisation des lésions avait un impact sur leur gravité.

Sur l'ensemble des cistudes touchées, on remarque que les lésions sur la dossière, bien que moins nombreuses, sont en général plus graves que celles situées sur le plastron ($p\text{-value} = 1,86.10^{-9}$; cf. Graphique 14).



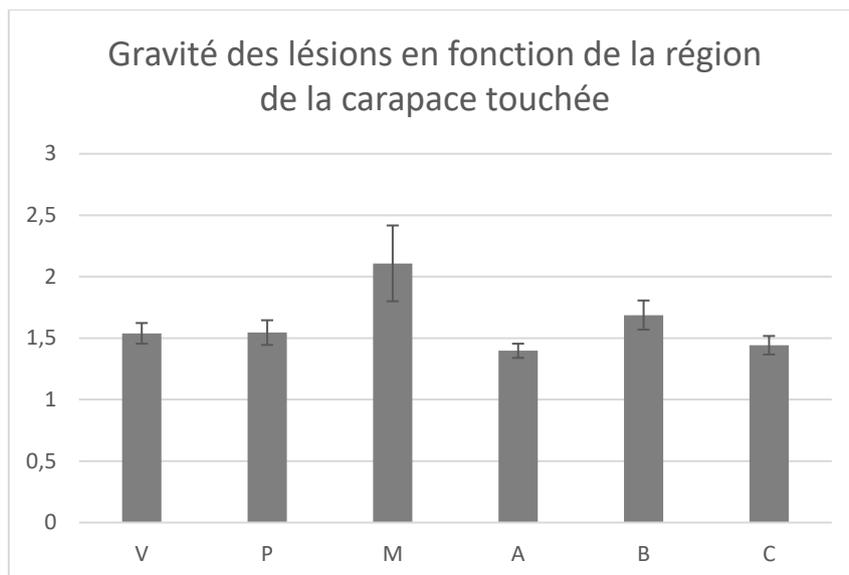
Graphique 14 : Gravité des lésions en fonction de leur emplacement sur le plastron ou la dossière des cistudes de France

Ce résultat est retrouvé chez les cistudes auvergnates ($p\text{-value} = 0,023$).

A l'inverse, chez les tortues du Parc Zoologique de Sainte-Croix, on note que les lésions situées sur le plastron, bien que moins nombreuses, sont significativement plus graves que celles situées sur la dossière ($p\text{-value} = 0,005$).

Aucune différence de sévérité entre les lésions du plastron et celles de la dossière n'est mise en évidence chez les cistudes du Domaine de la Tour du Valat ($p\text{-value} = 0,28$), celles de la Réserve Naturelle de Chérine ($p\text{-value} = 0,07$) et celles du centre A Cupulatta ($p\text{-value} = 0,38$).

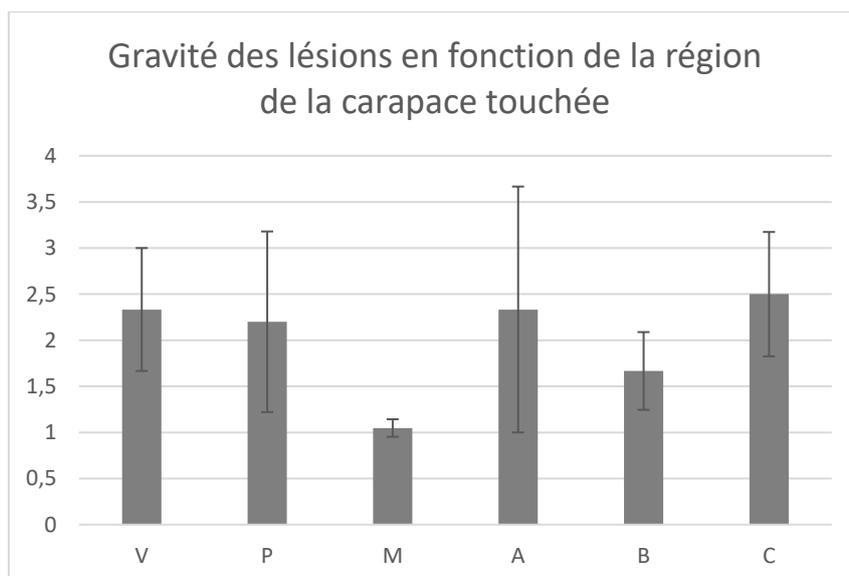
L'étude de la gravité des lésions en fonction de leur répartition sur les six régions décrites dans la *Figure 15* révèle que les lésions les plus graves touchent majoritairement les écailles marginales ($p\text{-value} = 1,56.10^{-13}$; cf. *Graphique 15*).



Graphique 15 : Gravité des lésions chez les cistudes de France en fonction de leur localisation sur les régions de la carapace décrites dans la Figure 15

On retrouve les mêmes résultats au Domaine de la Tour du Valat (p -value = 0,04) ainsi que dans la Réserve Naturelle de Chérine (p -value = $8,24 \cdot 10^{-21}$).

Au contraire, les lésions touchant les écailles marginales des cistudes du Parc Zoologique de Sainte-Croix sont supérieures en nombre mais en moyenne moins graves que les lésions touchant les autres écailles (p -value = $7,13 \cdot 10^{-5}$; cf. Graphique 16).



Graphique 16 : Gravité des lésions en fonction de leur localisation selon les régions de la carapace décrites dans la Figure 15 chez les cistudes du Parc Zoologique de Sainte-Croix

Au centre A Cupulatta et en Auvergne, la répartition régionale des lésions ne semble pas influencer de manière significative sur leur gravité (les *p-values* respectives sont de 0,34 et 0,25).

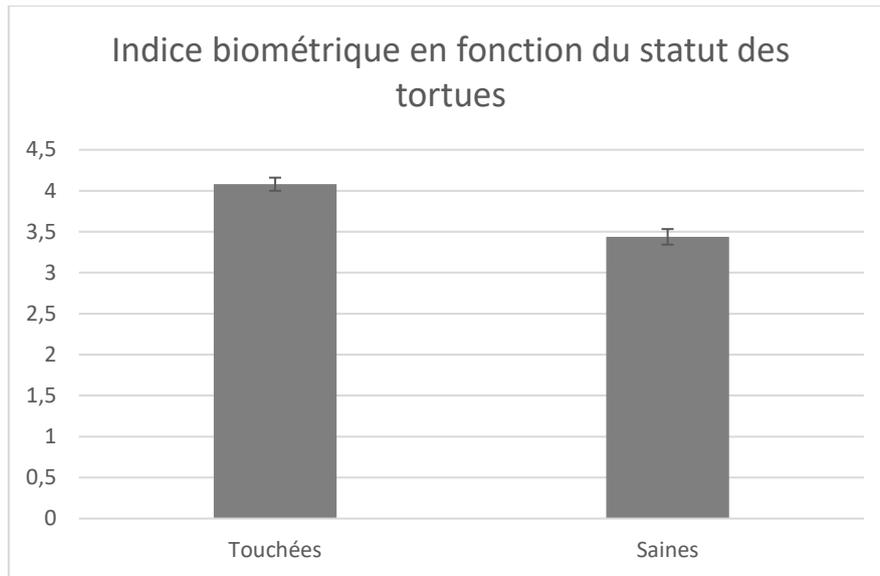
Enfin, l'absence de données concernant la gravité des lésions sur les cistudes d'Aquitaine ne nous permet pas d'étudier l'influence de la localisation (régionale ou plastron / dossière) des lésions sur leur gravité.

Pour la majorité des tortues touchées par le SUC, les lésions sont donc le plus souvent situées sur la partie antérieure du plastron, mais les lésions les plus graves sont situées préférentiellement sur les écailles marginales de la dossière des cistudes d'Europe.

3.3.5. Impacts du SUC

Afin d'étudier l'impact du SUC sur les individus étudiés, les moyennes des indices biométriques des tortues saines et des tortues touchées ont été comparées.

Sur l'ensemble des cistudes étudiées, l'indice biométrique est significativement plus élevé chez les individus touchés que chez les tortues saines (*p-value* = $4,24 \cdot 10^{-24}$; cf. *Graphique 17*).



Graphique 17 : Indice biométrique en fonction du statut des cistudes de France

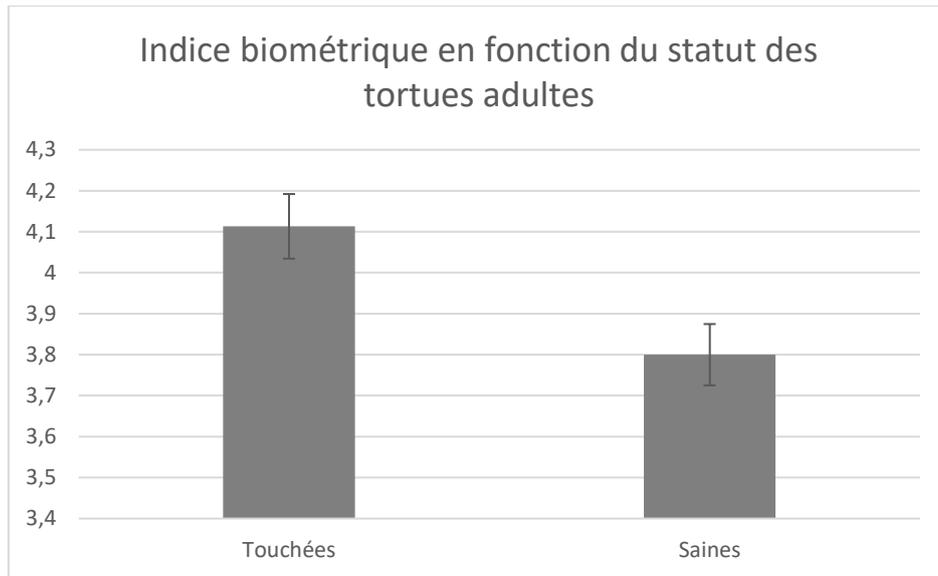
Ce résultat est retrouvé au Domaine de la Tour du Valat ($p\text{-value} = 0,006$), à la Réserve Naturelle de Chérine ($p\text{-value} = 9,08.10^{-7}$) et en Auvergne ($p\text{-value} = 8,83.10^{-8}$).

En revanche, aucune différence significative d'indice biométrique entre individus sains et touchés n'est mise en évidence au centre A Cupulatta ($p\text{-value} = 0,63$), ainsi qu'au Parc Zoologique de Sainte-Croix ($p\text{-value} = 0,47$).

Afin de comprendre ce résultat, nous avons analysé le statut des tortues en fonction de leur poids et de la longueur de leur carapace.

Sur l'ensemble des cistudes étudiées, les individus touchés possèdent une carapace plus longue ($p\text{-value} = 1,75.10^{-22}$) et un poids plus élevé ($p\text{-value} = 7,00.10^{-23}$) que les tortues saines.

En restreignant l'étude à l'unité d'échantillonnage « cistudes adultes », nous observons que l'indice biométrique est toujours plus élevé chez les individus touchés que chez les tortues saines, mais de manière moins évidente qu'avec l'ensemble de tous les individus ($p\text{-value} = 1,07.10^{-8}$; cf. *Graphique 18*).



Graphique 18 : *Indice biométrique en fonction du statut des cistudes adultes de France*

Nous avons aussi tenté de mettre en évidence une potentielle corrélation entre le score de gravité et l'indice biométrique des tortues touchées.

Sur l'ensemble des cistudes présentant au moins une lésion caractéristique du SUC, aucune corrélation n'est mise en évidence entre le TSDS et l'indice biométrique des tortues touchées ($r^2 = 9,10.10^{-3}$).

Ce résultat est retrouvé sur les cistudes touchées par le SUC dans tous les lieux étudiés dans cette étude.

L'indice biométrique est donc significativement plus élevé chez les individus touchés par le SUC. En revanche, aucune corrélation n'apparaît entre la gravité de l'atteinte et l'indice biométrique de l'individu touché.

3.4. Discussion

3.4.1. Matériel et méthodes

Toutes les captures de cistudes (à l'exception des tortues provenant du Parc Zoologique de Sainte-Croix et du Centre d'Élevage A Cupulatta) ont été effectuées par piégeage aléatoire, souvent dans le cadre de campagnes de CMR. Le piégeage aléatoire constitue le meilleur moyen de capture de tortues dulçaquicoles sauvages selon (*Servan et al., 1986*). Cependant, cette technique peut induire un biais d'échantillonnage : on ne peut malheureusement pas rejeter l'hypothèse selon laquelle les individus touchés seraient plus facilement capturés que les autres, entraînant ainsi une augmentation factice du taux de prévalence. Cependant, comme les individus touchés ne semblent pas présenter d'atteinte de l'état général, cette hypothèse est peu probable.

Les données sur lesquelles nous avons travaillé nous ont été fournies par les acteurs de terrain. On remarque que ces données diffèrent en fonction du lieu d'étude.

L'étude du SUC en Aquitaine a été mise en place en 2014, soit deux ans avant les autres. Elle a constitué une sorte d'étude préliminaire, nous permettant d'affiner les recherches et de préciser les demandes formulées aux autres organismes gérant des populations de cistudes. Ainsi, les résultats obtenus en Aquitaine ne nous permettent pas de caractériser au mieux les lésions. En effet, aucune information n'est disponible sur la localisation précise, l'extension et la gravité des lésions. De plus, l'absence de données biométriques concernant les tortues capturées ne permet pas de caractériser l'impact de la pathologie sur l'état de santé global des cistudes. Le stade d'usure de la carapace n'a pas non plus été renseigné.

Dans le but de mettre en évidence des résultats plus pertinents, nous nous sommes inspirés de la méthodologie mise en place par *Hernandez-Divers et al., 2009*. Ces auteurs ont notamment imaginé le système de scoring des lésions que nous avons utilisé, en fonction de leur extension et de leur profondeur (cf. « 3.2 : Matériel et méthodes »).

Cependant, nous avons constaté tout au long de notre étude une distribution très étirée des scores de gravité. Cette distribution sur dispersée des TSDS illustre l'une des limites de ce système : elle est induite par le fait que le score lésionnel est calculé en multipliant l'extension par la sévérité de la lésion. Ainsi, lorsqu'un des paramètres (extension ou sévérité) croît, l'augmentation du score lésionnel n'est pas linéaire, mais exponentielle. Par exemple, une tortue souffrant de quelques lésions graves pourra être créditée d'un TSDS beaucoup plus

élevé qu'une autre tortue portant de multiples lésions de faible gravité. Pourtant, la carapace peut être autant détériorée dans les deux cas.

Sur certaines tortues, l'existence d'une multitude de lésions bien distinctes met en évidence une autre limite de ce système. *Hernandez-Divers et al., 2009* proposent de sommer les surfaces de toutes les lésions situées sur une même région afin de donner un score d'extension régional. Cette méthodologie revient à ne considérer qu'une seule « super lésion » par région touchée. Cependant, comme nous l'avons expliqué précédemment, l'existence de telles « super lésions » tend à faire augmenter de manière exponentielle le TSDS des tortues.

Nous avons donc choisi d'adapter cette méthodologie :

- Dans le cas de lésions assez grandes, un score lésionnel est donné par le produit de l'extension par la sévérité de chaque lésion ;
- Dans le cas de multiples lésions de petite taille (« pitting lesions »), nous avons choisi de ne dénombrer qu'une seule lésion par écaille touchée. Le score lésionnel est donc donné par le produit entre la somme des surfaces de chaque petite lésion par la sévérité de la lésion la plus profonde.

Ainsi, pour chaque lésion (lésion de grande taille ou lésion fictive composé de l'ensemble des petites lésions touchant la même écaille), le score lésionnel est calculé, et tous les scores lésionnels sont additionnés pour trouver le TSDS de la tortue.

Une autre méthode de scoring lésionnel a été décrite par *Lovich et al., 1996*. Elle se base uniquement sur l'extension des lésions. On leur attribue le score de :

- 1 si la lésion ne dépasse pas un tiers de la surface de la carapace ;
- 2 si la lésion couvre entre un et deux tiers de la surface de la carapace ;
- Et 3 si la lésion est plus étendue que les deux tiers de la surface de la carapace.

Cependant, la profondeur de la lésion est importante à caractériser, c'est pourquoi nous n'avons pas choisi cette méthode de scoring lésionnel.

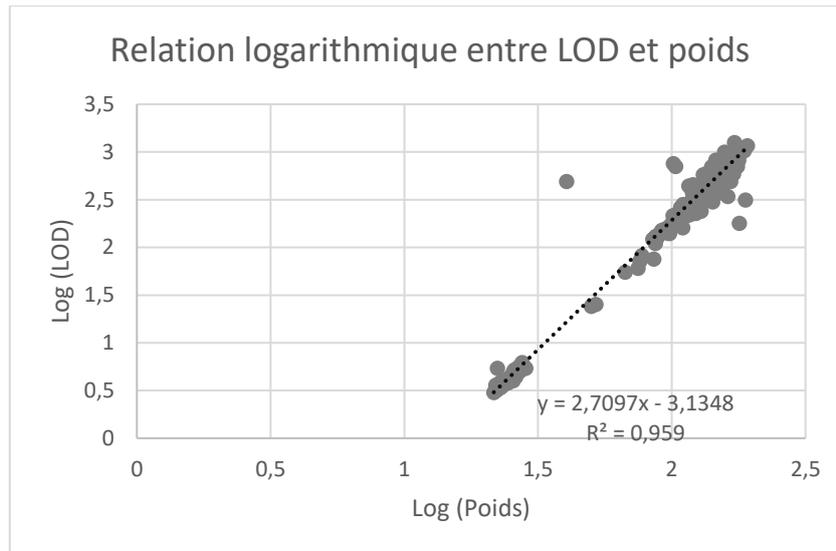
La prise en compte du stade d'usure de la carapace, technique décrite par *Olivier, 2002*, nous a permis de préciser un peu plus l'épidémiologie du SUC. En effet, la détermination de l'âge par lecture des LAC est impossible chez les adultes (chez qui les LAC sont en partie ou totalement effacées). L'auteur suggère alors qu'une indication sur l'âge d'un individu peut être déterminée par le stade d'usure de sa carapace. Ainsi, l'étude de la prévalence et de la gravité du SUC en fonction du stade d'usure de la carapace est en réalité un bon indicateur de la prévalence et de la gravité du SUC en fonction de l'âge des individus.

Le découpage de la carapace en différentes régions proposé par *Hernandez-Divers et al., 2009* nous a permis de situer les lésions sur les carapaces des cistudes touchées. Cependant, au niveau de la dossière, nous avons remarqué une répartition préférentielle des lésions sur la partie antérieure des animaux. Cette simple observation n'a malheureusement pas pu être démontrée par la méthode utilisée. Il aurait été dans notre cas plus pertinent de diviser la dossière en six régions, chacune des trois régions décrites par *Hernandez-Divers et al., 2009* divisée en une partie antérieure et une partie postérieure.

La manière dont a été menée l'étude peut elle aussi apporter un biais dans la localisation des lésions sur la carapace. En effet, dans la plupart des cas, les données proviennent d'archives composées de bases de données sous formes de tableurs et de photographies. Toutes les photographies ont été prises en aplomb de la dossière, ce qui entraîne une très mauvaise visibilité des écailles marginales. Il est de ce fait fort probable que de nombreuses lésions sur les écailles marginales des cistudes n'aient pas été prises en compte. Leur prévalence sur ces écailles est donc sous-estimée.

Afin de calculer le potentiel impact de la pathologie sur l'état de santé global des tortues, un indice biométrique dépendant de la taille (LOD) et du poids des individus a été calculé. Selon *Blakey et Kirkwood, 1995*, le ratio poids / longueur de la carapace serait corrélé à l'état de santé global de la tortue. Ainsi, il existerait des intervalles de référence de l'indice biométrique pour chaque espèce de tortue. Cet intervalle de référence ne serait pertinent que s'il existe une relation linéaire entre le poids et la longueur de la carapace de la tortue. Cette corrélation linéaire a été démontrée chez certaines espèces (*Dunson, 1967 ; Blakey et Kirkwood, 1995*).

Cependant, dans notre cas, aucune corrélation linéaire n'est mise en évidence entre le poids et le LOD des tortues ($r^2 = 0.69$). Néanmoins, on remarque qu'il existe une corrélation linéaire significative entre les logarithmes (base 10) de ces deux grandeurs ($r^2 = 0.959$, cf. *Graphique 19*). Il aurait donc été plus logique de calculer l'indice biométrique (IB) par la formule $IB = \log(\text{LOD}) / \log(\text{poids})$.



Graphique 19 : Relation entre les logarithmes du LOD et du poids

Ce type de relation logarithmique a été mis en évidence par certains auteurs chez diverses espèces de tortues (*Limpus, Limpus, et Hamann, 2002*). D'autres relations sont rapportées par certains auteurs. C'est le cas par exemple de l'indice dit « de Donoghue », qui a démontré une corrélation forte entre le poids et la taille chez des tortues terrestres de différentes espèces ($P = 0,15 \cdot \text{LOD}^3$, avec $P = \text{poids}$ et $\text{LOD} : \text{longueur de la carapace}$) (*Divers et Mader, 2005*). *Tucker et al., 2002* ont mis en évidence une relation similaire entre le poids et la taille chez des tortues dulçaquicoles australiennes ($P = 8,88 \cdot 10^{-5} \times \text{LOD}^{3,08}$).

Les données provenant de différents lieux n'ont pas été entrées de la même manière :

- Les données concernant les tortues des régions Aquitaine et Auvergne, ainsi que celles concernant les tortues du Domaine de la Tour du Valat et du Centre d'élevage A Cupulatta ont été fournies par nos partenaires à l'aide de leurs bases de données photographiques
- Les tableaux concernant les cistudes capturées avant 2016 dans la Réserve Naturelle de Chérine et concernant les tortues du Parc Zoologique de Sainte-Croix ont été remplis par nos soins à l'aide des bases de données photographiques fournies par nos partenaires.
- Les données concernant les tortues capturées en 2016 dans la Réserve Naturelle de Chérine ont été fournies par notre partenaire et sont basées sur l'observation directe de la carapace des tortues lors de leur capture.

Ces différences induisent un biais non négligeable lié à l'observateur.

Aucune donnée concernant d'éventuelles recaptures n'a été relevée. Il est donc impossible dans notre cas de caractériser l'évolution individuelle de l'affection (incidence, guérison potentielle, aggravation des lésions ...), comme cela a été effectué par *Tucker et al., 2002*.

De plus, considérant la phénologie¹ particulière de l'espèce, les captures ont toutes été effectuées durant la saison chaude. Ainsi, aucune incidence saisonnière ne peut être mise en évidence.

Les acteurs de terrain ne rapportent aucune mortalité associée au SUC. Toutefois, il serait plus rigoureux de caractériser la létalité de ce syndrome en comparant les taux de mortalité chez les individus sains et chez les tortues touchées, en tenant compte des données de recaptures. Ces dernières devront donc être analysées dans les prochaines études sur le SUC.

3.4.2. Résultats

A première vue, le SUC ne semble pas avoir d'impact important sur les populations sauvages de cistudes d'Europe en France. Néanmoins, sa prévalence élevée (presque 25 %) en fait une pathologie importante à surveiller. Ce taux est plus faible que les résultats trouvés par *Lovich et al., 1996* sur des tortues de Floride (*Trachemys scripta*) et par *Tucker et al., 2002* sur des tortues de Krefft (*Emydura krefftii*) (prévalences respectives de 35 et 39 %) ; cependant, nous avons inclus dans ce résultats les cistudes saines provenant de structures non touchées.

3.4.2.1. *Distribution spatiale du SUC*

L'absence de données dans certaines régions et de cistudes dans d'autres, ainsi que le calcul de la prévalence à l'échelle de la région ne permettent pas de dégager de caractéristique épidémiologique du SUC. A une échelle plus restreinte, les échanges de tortues entre les différents étangs géographiquement proches de la Réserve Naturelle de Chérine ne permettent pas de tirer de conclusion quant à la distribution spatiale du SUC dans cette réserve. Néanmoins, la prévalence en fonction des lieux de capture en Aquitaine est exploitable (*cf. Figure 18*).

Dans cette région, on remarque que les lieux les plus touchés (prévalence supérieure à 10 %) sont géographiquement proches. Cette proximité peut s'expliquer par deux hypothèses

¹ Phénologie : Etude d'un phénomène périodique de la vie végétale et / ou animale (*Fiers et al., 2003*). Dans notre cas, ce terme désigne l'alternance de périodes d'activité estivales et de périodes d'hivernage.

différentes : un caractère transmissible du SUC ou une particularité environnementale qui serait un facteur prédisposant de la pathologie.

L'étude de l'agent étiologique ainsi que de futures études expérimentales sur les potentielles voies de transmission du pathogène permettront de vérifier la première hypothèse.

En revanche, de mauvaises conditions environnementales jouent un rôle prépondérant dans la plupart des affections de la carapace des tortues dulçaquicoles (*cf. « 2.2 : Les pathologies de la carapace »*). Notre deuxième hypothèse serait donc plus probable.

3.4.2.2. *Identification de facteurs favorisants*

Pour identifier les facteurs favorisants du SUC, nous avons tenté d'analyser sa prévalence en fonction des différentes caractéristiques environnementales. Aucune des caractéristiques étudiées (profondeur, superficie et type d'eau de l'étang) ne semble être un facteur prédisposant du SUC. Tous les étangs prélevés montrent une absence d'autres espèces de tortues (notamment de la tortue « de Floride ») et un fond recouvert de limons, argiles et autres vases. L'étude de ces deux caractéristiques comme facteur favorisant est donc impossible.

Nous avons également tenté de mettre en évidence l'effet de l'environnement sur la gravité du SUC. Cette gravité, bien que corrélée ni à la profondeur ni à la superficie de l'étang de capture, semble cependant plus importante dans les milieux non eutrophisés que dans ceux qui le sont. Ce résultat peut paraître étonnant, car l'eutrophisation est un phénomène caractéristique d'une eau de mauvaise qualité ; cependant, il faut être prudent quant à l'interprétation de ce résultat. En effet, l'absence d'analyse statistique multivariée dans notre étude ne permet pas de rejeter l'hypothèse d'une implication d'effets confondants sur ce résultat.

Une analyse de la qualité de l'eau (présence de pollution, charge bactérienne et algale ...) aurait été nécessaire afin d'identifier le plus de facteurs favorisants potentiels. L'impact de la pollution de l'eau sur les pathologies dermatologiques des cistudes d'Europe a notamment été pointé par *Aleksić-Kovačević et al., 2014*. En effet, la pollution chimique d'un environnement entraînerait une immunosuppression favorable à l'apparition de maladies opportunistes chez de nombreuses espèces (*Ferronato et al., 2009*). Dans notre cas, une analyse de l'eau n'a malheureusement pas pu être mise en place, faute de moyens financiers. Néanmoins, une étude sur l'impact des métaux lourds sur les populations de cistudes est actuellement en cours (*Brischoux et al., en attente de publication*).

3.4.2.3. *Evolution de la pathologie : forme épidémiologique*

Au-delà de son extension géographique et de son mode de diffusion, la forme épidémiologique d'une maladie est caractérisée par son potentiel d'évolution. En effet, en fonction de leur rapidité d'extension, les pathologies animales sont classées en épizootie, enzootie ou cas sporadiques (*Toma et al., 1991*).

Notre étude révèle une prévalence du SUC très fluctuante en fonction des années en France. Ce résultat est aussi observé en Aquitaine, mais pas dans la Réserve Naturelle de Chérine. Cette observation classerait le SUC dans la catégorie des épizooties (terme aussi utilisé pour les maladies non transmissibles selon *Toma et al., 1991*).

Cependant, une épizootie est caractérisée par une augmentation du taux d'incidence sur une période, c'est-à-dire une augmentation du nombre de nouveaux cas rapporté à la population totale. Or, dans notre cas, la prévalence a été calculée par rapport à une population qui change chaque année : la prévalence annuelle est le rapport du nombre d'individus présentant au moins une lésion sur tous les individus issus de première capture cette année-là. De plus, la pression d'échantillonnage n'est pas la même tous les ans dans un étang donné : certaines années, les captures sont effectuées majoritairement dans un étang montrant une prévalence plus élevée que les autres.

La prévalence annuelle observée est donc loin de l'évolution de l'incidence globale, et aucune conclusion ne peut en être dégagée.

De même, cette étude n'a pas pu mettre en évidence le caractère émergent de la pathologie, caractère évoqué par de nombreux naturalistes français qui n'observaient pas ou très peu de lésions caractéristiques du SUC avant la fin des années 1990 (*comm. pers.*).

3.4.2.4. *Susceptibilité des tortues*

Les données recueillies nous permettent de cibler plus précisément les types d'individus à risque.

On remarque que le SUC touche préférentiellement les adultes. De plus, sa prévalence est positivement corrélée au stade d'usure de la carapace, qui reflète l'âge de l'individu selon *Olivier, 2002*. Ces résultats sont retrouvés pour la gravité du SUC, qui est plus élevée chez les individus âgés que chez les jeunes.

Ce résultat est retrouvé chez les tortues de Géorgie, qui montrent une prévalence positivement corrélée à la taille de la carapace, et donc à l'âge des individus chez les femelles (*Lovich et al., 1996*).

Cette observation pourrait être expliquée par le fait que la carapace des individus âgés, à cause de son usure importante, serait plus aisément lésée et offrirait donc plus facilement une porte d'entrée pour d'éventuels pathogènes.

Sur la France entière, aucune différence significative de prévalence n'est mise en évidence entre les mâles et les femelles. On retrouve ce résultat au sein de toutes les structures étudiées à l'exception de la région Aquitaine, où les mâles sont significativement plus touchés que les femelles. Cette observation n'a aucune explication. Au contraire, une prévalence plus élevée chez les femelles aurait été plus logique : leur carapace, plus grande que celle des mâles, pourrait être touchées par plus de lésions, comme cela a été le cas avec les tortues parasitées par des sangsues observées par *Bielecki et al., 2012*. Dans tous les lieux d'étude, aucune différence de sévérité n'est observée entre les mâles et les femelles.

3.4.2.5. *Caractéristiques des lésions*

En France, et plus particulièrement dans chaque lieu étudié, on remarque que les lésions sont le plus souvent situées à l'avant du plastron. Ce résultat est retrouvé chez les tortues touchées par le SUC en Géorgie (*Lovich et al., 1996*).

Cette observation conforte notre hypothèse de l'existence d'une lésion primaire à l'origine du SUC. En effet, l'avant du plastron est la partie de la carapace qui frotte le plus sur les substrats lorsque la cistude se déplace ou monte sur un promontoire abrasif (rocher ou souche d'arbre pour l'insolation). Ces frottements réguliers entraîneraient une usure et une abrasion particulièrement importante dans la partie antérieure du plastron à l'origine d'une porte d'entrée pour de nombreux pathogènes.

Sur la dossière, la majorité de lésions sont retrouvées en zone centrale. Cependant, il est très probable que le nombre de lésions sur les écailles marginales ait été sous-estimé (*cf. « 3.4.1 : Matériel et méthode »*). On retrouve en effet une majorité de lésions sur les écailles marginales des cistudes du Parc Zoologique de Sainte-Croix, où les données ont été entrées à partir de photographies prises non seulement à l'aplomb, mais aussi de profil, limitant ainsi le risque d'oubli de lésions sur les écailles marginales. De plus, sur les données concernant la France entière, on retrouve les lésions les plus graves sur les écailles marginales.

Or, les écailles marginales constituent une zone de frottement fréquente lorsque les tortues se déplacent. Cette observation conforte donc notre hypothèse d'un frottement régulier entraînant l'apparition d'une porte d'entrée pour les pathogènes.

Le caractère très majoritairement multiple des lésions de perte de substance semblerait indiquer soit une prolifération de surface du pathogène, soit une colonisation de l'organisme entier. Aucun trouble de l'état général indiquant une possible septicémie n'étant relevé, notre première hypothèse semble donc la plus probable.

3.4.2.6. *Impacts du SUC*

Dans notre étude, aucune mortalité n'est associée au SUC, contrairement à *Lovich et al., 1996* qui ont observé de nombreux individus morts présentant des lésions.

La comparaison de l'indice biométrique des tortues saines avec celui des tortues touchées nous a permis de mesurer l'impact de la pathologie sur les individus. L'étude de cet indice, corrélé à l'état de santé des individus selon *Blakey et Kirkwood, 1995*, montre des résultats à première vue étonnants dans notre étude. En effet, les individus sains affichent un indice biométrique plus faible que les individus touchés : leur état de santé serait donc moins bon que celui de leurs homologues atteints par le SUC.

L'indice biométrique est calculé par le rapport poids / longueur de la carapace (LOD), chez les individus de tout âge. Cependant, ces variables sont susceptibles d'évoluer avec l'âge des individus, entraînant des modifications de l'indice biométrique en fonction de l'âge des individus (cf. « 3.4.1 : *Matériel et méthodes* »). La restriction de cette corrélation à l'étude des seuls adultes montre d'ailleurs une différence d'indice biométrique plus faible entre individus sains et touchés, avec une *p-value* moins élevée. L'indice biométrique tel qu'il est utilisé dans notre étude ne s'est donc pas montré pertinent pour évaluer l'impact du SUC sur l'état de santé des tortues. Il aurait été intéressant d'utiliser un autre indice permettant de modéliser l'état de santé global des tortues, sans biais induit par l'âge des individus. Malheureusement, tous les indices mis en place pour caractériser l'état de santé global des tortues sont calculés à partir du poids et de la taille des individus, et aucun ne semble donc convenir.

Au-delà des conséquences que peut avoir le SUC sur les individus, il aurait été pertinent de mesurer l'impact de cette pathologie sur les populations de cistudes, en corrélant la prévalence du SUC avec des indicateurs démographiques des populations de cistude.

3.4.2.7. *Bilan*

Le protocole utilisé dans cette étude résulte d'un mélange de protocoles déjà validés dans la littérature. Cette méthodologie pourra donc être réutilisée et améliorée dans des études ultérieures sur la carapace des tortues, afin de travailler selon un protocole standardisé. Ces études devront prendre en compte les données de recaptures, dans le but de caractériser l'évolution de la maladie.

La prévalence élevée du SUC en France en fait une pathologie importante à surveiller, malgré le manque de données concernant son véritable impact sur les individus et sur les populations de cistudes. La forme géographique du SUC (avec les lieux les plus touchés proches les uns des autres) est assez typique d'une maladie due à un environnement défavorable. Les lésions, plus nombreuses et plus graves sur les parties de la carapace exposées à un frottement régulier sur le substrat (partie antérieure du plastron et écailles marginales), semblent indiquer que le SUC serait secondaire à une abrasion de la carapace.

4. Etude étiologique

Après avoir caractérisé l'épidémiologie du SUC en France, il était nécessaire de mettre en place une étude afin de comprendre l'étiologie de ce syndrome.

Les tortues touchées en France ne présentent pas d'autres symptômes que des ulcérations sur la carapace. Comme nous l'avons vu dans la bibliographie sur les pathologies de la carapace des tortues dulçaquicoles, le diagnostic différentiel du SUC sans atteinte de l'état général regroupe :

- Des parasitoses cutanées comme les mycoses (cf. « 2.2.3.3 : Mycoses »), les pertes de substances dues à une prolifération algale (cf. « 2.2.3.4 : Algues ») ou à la fixation de sangsues sur la carapace (cf. « 2.2.3.2 : Sangsues ») ;
- Des maladies bactériennes comme l'USD (cf. « 2.2.4.4 : La dermatite ulcéreuse »), la SCUD en début d'évolution (cf. « 2.2.5.4 : Septicémie cutanée ulcéreuse ») ou la dermatite superficielle (cf. « 2.2.4.1 : Dermatite superficielle ») ;
- Ou encore une érosion traumatique de la carapace (cf. « 2.2.1.2 : Érosion du plastron »).

Le but de cette étude est d'identifier la cause du SUC chez les cistudes françaises parmi toutes ces affections, en menant des analyses bactériologiques et mycologiques.

4.1. Matériel et méthodes

Le but de cette étude est de mettre en évidence le ou les agent(s) pathogène(s) à l'origine des lésions du SUC en France.

Cette étude a été cofinancée par la Fédération Francophone d'Élevage et de Protection des Tortues (FFEPT), par l'association des Amis des Tortues du Centre (ATC) et par l'Agence de l'Eau Loire – Bretagne.

4.1.1. Individus prélevés

Au total, 26 prélèvements ont été effectués sur des tortues touchées et 4 sur des tortues saines (soit 13 % de témoins négatifs). Toutes les tortues prélevées provenaient de la Réserve Naturelle de Chérine, où elles ont été capturées par piégeage aléatoire pendant trois années consécutives (2014, 2015 et 2016). Les caractéristiques des tortues ayant fait l'objet d'un prélèvement (numéro de marquage, lieu et date de capture, stade d'usure de la carapace, poids, longueur de la carapace (LOD) et score de sévérité (TSDS)), ainsi que les caractéristiques des lésions prélevées (multiplicité, score lésionnel et emplacement sur la carapace) ont été renseignées. Des photographies de chaque lésion prélevée ont été effectuées. Après le prélèvement, toutes les tortues ont été relâchées au niveau de leur lieu de capture.

4.1.2. Protocole de prélèvement

Tous les prélèvements ont été effectués en zone centro-lésionnelle.

Après un nettoyage large à l'aide de sérum physiologique stérile sous pression et d'une compresse stérile, la zone de prélèvement est grattée avec un scalpel lui aussi stérile. La poudre de carapace ainsi récoltée est récupérée dans un flacon fourni par le laboratoire. Le grattage est effectué jusqu'à la rosée sanguine.

Des prélèvements sont effectués en profondeur à l'aide d'écouvillons stériles fournis par le laboratoire. Une fois frottés, les écouvillons sont immédiatement replacés dans leur milieu de transport :

- Deux écouvillons, correspondant chacun à une température d'analyse différente, sont placés dans un milieu de transport amiè-charbon pour l'analyse bactériologique

- Un écouvillon est placé dans un tube sec pour analyse mycologique et pour la recherche de mycobactéries sur les six premiers échantillons.

La zone de prélèvement est alors nettoyée avec une solution antiseptique (polyvidone iodée diluée au dixième) et la tortue est relâchée dans son milieu de prélèvement.

Les écouvillons et le pot contenant la poudre de carapace ont été stockés dans un endroit sec, à l'abri du soleil, à une température inférieure à 25°C, et acheminés au Laboratoire de Touraine (Tours, 37, France) dans les deux jours suivant le prélèvement.

Le protocole de prélèvement a été adapté en fonction des résultats des premières analyses.

A partir de la quatrième analyse, nous avons donc décidé d'abandonner la culture à 22°C : un seul écouvillon transporté en milieu amiès-charbon a donc été utilisé pour les analyses ultérieures.

La poudre de carapace n'a pas été prélevée durant les deux dernières années (2015 et 2016).

4.1.3. Protocole d'analyse

4.1.3.1. *Culture et identification primaire*

Les échantillons ainsi récoltés ont été analysés dans un premier temps au Laboratoire de Touraine, BP 67357 – 37073 Tours, France. La recherche bactériologique a été effectuée en deux temps : culture bactérienne sur gélose puis identification primaire des souches sur galeries d'identification.

La recherche des bactéries a été effectuée sur la poudre de carapace (pour la première année) ainsi que sur les écouvillons placés en milieu amiès-charbon. Les germes provenant de ces échantillons ont été ensemencés sur gélose Colombia au sang, sur gélose lactosée et sur gélose Tryptone Soy Agar (TSA[®]) pour la recherche de bactéries aérobies ; ainsi que sur gélose Colombia au sang (COS[®]) avec hémine et vitamine K1 et sur gélose glucose yeast pour les bactéries anaérobies. Ces ensemencements ont été effectués à deux températures (22 ± 2°C et 37 ± 2 °C) pour les six premières analyses afin de sélectionner une température de

croissance optimale, puis la température de $37 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ a été choisie pour le reste des analyses. Les colonies obtenues ont été repiquées individuellement et un premier niveau d'identification a été obtenu par examen microscopique.

La recherche de mycobactérie a été effectuée uniquement pour les six premiers échantillons par calque à partir d'écouvillons secs avec coloration de Ziehl.

Afin de détecter la présence d'agents fongiques, les germes provenant des écouvillons secs et de la poudre de carapace ont été ensemencés sur gélose YM et gélose au malt, à une température de $25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$.

Les trois ou quatre germes dominants sur les cultures bactériologiques ont été identifiés sur galeries. Plusieurs types de galeries ont été utilisés selon leurs caractéristiques microscopiques :

- Galerie API® CORYNE (V3.0), pour l'identification de bactéries corynéformes (cf. Figure 19) ;
- Galerie API® 20 NE (V7.0 et V8.0), similaire à celle utilisée par *Aleksić-Kovačević et al., 2014*, permettant l'identification de bacilles gram négatifs non entérobactéries (cf. Figure 20) ;
- Galerie ID® 32 STAPH (V3.0), pour l'identifications des staphylocoques, microcoques et autres genres apparentés.

Les souches issues des cultures bactériennes et mycologiques ont été conservées à $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ au Laboratoire de Touraine.



Figure 19 : Liste des tests de la galerie API® CORYNE V3.0 (source : apiweb.biomerieux.com)

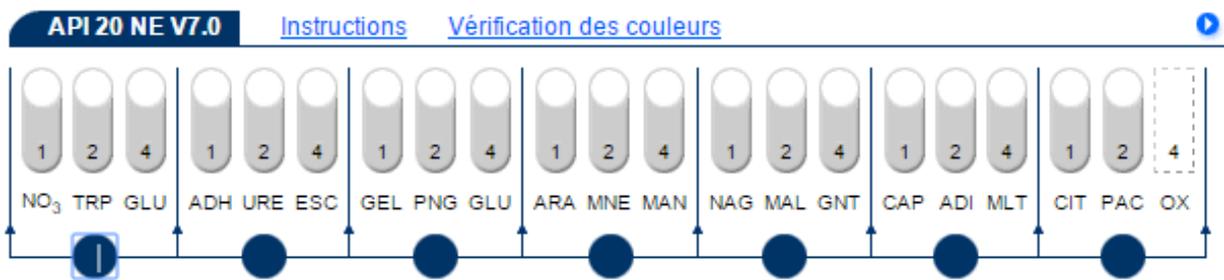


Figure 20 : Liste des tests de la galerie API® 20 NE V7.0 (source : apiweb.biomerieux.com)

4.1.3.2. Identification poussée en spectrométrie MALDI-TOF

Toutes les souches bactériennes obtenues ont été envoyées à l'INP-ENVT, 23 Chemin des Capelles, 31076 Toulouse Cedex 3, en colis carboglace contenant des cryobilles permettant d'assurer une température de transport de -78,5°C.

Chaque prélèvement a été repiqué sur une trois géloses différentes : gélose TSA®, gélose Columbia au sang COS®, et gélose Columbia CNA® avec 5% de sang de mouton. Puis quelques milligrammes de chaque colonie ont été étalés sur les puits de la cible MALDI-TOF, puis préparés avec 1µL d'acide formique et 1µL de matrice HCCA.

Les cibles sont ensuite analysées en spectrométrie MALDI-TOF au laboratoire de bactériologie – hygiène du Centre Hospitalier Universitaire de Purpan, place du Docteur Joseph Baylac, 31300 Toulouse, France.

Pour s'assurer de la viabilité de l'analyse, deux témoins ont été analysés avec chaque cible : une souche d'*Escherichia coli* et une souche de *Staphylococcus* sp. coagulase négative.

4.1.3.3. Analyse des résultats

Pour chaque colonie obtenue, les résultats ont été compilés sous forme d'un tableau regroupant :

- l'identification et les caractéristiques de la lésion prélevée, à savoir sa localisation sur la carapace, la date de son prélèvement, son score lésionnel et sa multiplicité ;
- les caractéristiques de la tortue prélevée : son numéro de marquage, son lieu de capture, le stade d'usure de sa carapace, son TSDS et son indice biométrique ;
- les résultats de chaque analyse (identification par analyse bactériologique / mycologique simple et/ou identification par spectrométrie Maldi-Tof)

Les lésions et les tortues ont été caractérisées par les mêmes méthodes que celle utilisées dans notre étude épidémiologique (cf. « 3.2 : Matériel et méthodes »).

En accord avec la méthodologie proposée par *Aleksić-Kovačević et al., 2014*, nous avons choisi de considérer un résultat comme significatif lorsqu'au moins le genre du pathogène (bactérie ou agent fongique) est identifié.

Nous avons choisi de ne pas prendre en compte la découverte d'une entérobactérie sur un témoin négatif, ce résultat étant certainement lié à une contamination (cf. « 4.3 : Discussion »).

Afin d'analyser les résultats le plus précisément possible, des tests biostatistiques ont été utilisés, avec un seuil de confiance de 95 % (cf. « ANNEXE II : Tests biostatistiques utilisés ») :

- Tests d'indépendance du « Khi-deux » pour détecter d'éventuelles différences significatives de proportions des pathogènes identifiés selon le lieu de capture, l'année de captures ainsi que la localisation et la multiplicité de la lésion ;
- Analyses de variance pour mettre en évidence une potentielle différence d'impact des pathogènes identifiés sur le stade d'usure de la carapace, ainsi que sur le score lésionnel, le TSDS et l'indice biométrique des tortues.

Les analyses biostatistiques ont été réalisées à l'aide des formules et de l'utilitaire d'analyse présents dans le logiciel Microsoft® Excel 2016. Toutes les barres d'erreur sur les graphiques représentent un intervalle de confiance de 95%.

4.2. Résultats

La mise en culture des prélèvements obtenus sur les cistudes de la Réserve Naturelle de Chérine a permis la croissance de 78 colonies bactériennes et 20 colonies fongiques. Parmi ces colonies, 57 bactéries appartenant à 10 genres bactériens différents ont été identifiées. De même, 20 agents fongiques appartenant à 6 genres ont été isolés. Les résultats de l'analyse sont présentés dans le *Tableau 2*.

Bactérie	Nombre de colonies	Pourcentage
<i>Acinetobacter</i> sp.	18	51,43
<i>Aeromonas</i> sp.	12	34,29
<i>Pseudomonas</i> sp.	8	22,86
<i>Corynebacterium</i> sp.	7	20,00
<i>Staphylococcus</i> sp.	6	17,14
<i>Chryseobacterium</i> sp.	2	5,71
<i>Comamonas</i> sp.	1	2,86
<i>Bacillus</i> sp.	1	2,86
<i>Enterobacter</i> sp.	1	2,86
<i>Moraxella</i> sp.	1	2,86
Agent fongique	Nombre de colonies	Pourcentage
<i>Cladosporidium</i> sp.	7	35,00
<i>Rhodotorula</i> sp.	5	25,00
<i>Penicillium</i> sp.	4	20,00
<i>Aspergillus</i> sp.	2	10,00
<i>Acremonium</i> sp.	1	5,00
<i>Mucor</i> sp.	1	5,00

Tableau 2 : Résultats de l'analyse au Laboratoire de Touraine

A la date de rédaction de cette thèse, 35 colonies ont été analysées en spectrométrie MALDI-TOF. Parmi celles-ci :

- 8 bactéries non identifiées par les galeries API ont donné un résultat fiable avec l'analyse spectrométrique ;
- 11 bactéries identifiées au Laboratoire de Touraine n'ont pas donné de résultat significatif en spectrométrie ;
- les genres de 10 bactéries identifiées lors de la première analyse ont été confirmés ;
- 2 bactéries non identifiées dans un premier temps n'ont pas donné de résultat significatif en spectrométrie.

Enfin, l'analyse spectrométrique a classé dans le genre *Acinetobacter* deux bactéries identifiées au Laboratoire de Touraine sous les genres *Aeromonas* et *Pseudomonas*. De même, deux *Staphylococcus* sp. ont été identifiés comme *Pseudomonas* sp. En raison de la contradiction de ces résultats, ces quatre souches n'ont pas été comptabilisées pour la suite de l'étude.

Les résultats de l'analyse en spectrométrie MALDI-TOF ainsi que les identifications définitives de ces bactéries sont présentés dans le *Tableau 3*.

Bactériologie primaire	Identification en spectrométrie MALDI-TOF	Identification retenue
<i>Acinetobacter</i> sp.	<i>Acinetobacter</i> sp.	<i>Acinetobacter</i> sp.
<i>Acinetobacter</i> sp.	<i>Acinetobacter</i> sp.	<i>Acinetobacter</i> sp.
<i>Acinetobacter</i> sp.	<i>Acinetobacter</i> sp.	<i>Acinetobacter</i> sp.
<i>Acinetobacter</i> sp.	<i>Acinetobacter</i> sp.	<i>Acinetobacter</i> sp.
<i>Acinetobacter</i> sp.	<i>Acinetobacter</i> sp.	<i>Acinetobacter</i> sp.
<i>Acinetobacter</i> sp.	<i>Acinetobacter</i> sp.	<i>Acinetobacter</i> sp.
<i>Aeromonas</i> sp.	<i>Acinetobacter</i> sp.	NI
NI	<i>Acinetobacter</i> sp.	<i>Acinetobacter</i> sp.
NI	<i>Acinetobacter</i> sp.	<i>Acinetobacter</i> sp.
NI	<i>Acinetobacter</i> sp.	<i>Acinetobacter</i> sp.
NI	<i>Acinetobacter</i> sp.	<i>Acinetobacter</i> sp.
NI	<i>Acinetobacter</i> sp.	<i>Acinetobacter</i> sp.
<i>Pseudomonas</i> sp.	<i>Acinetobacter</i> sp.	NI
<i>Aeromonas</i> sp.	<i>Aeromonas</i> sp.	<i>Aeromonas</i> sp.
<i>Aeromonas</i> sp.	<i>Aeromonas</i> sp.	<i>Aeromonas</i> sp.
<i>Aeromonas</i> sp.	<i>Aeromonas</i> sp.	<i>Aeromonas</i> sp.
NI	<i>Exiguobacterium</i> sp.	<i>Exiguobacterium</i> sp.
NI	<i>Macrocooccus</i> sp.	<i>Macrocooccus</i> sp.
<i>Acinetobacter</i> sp.	NI	<i>Acinetobacter</i> sp.
<i>Acinetobacter</i> sp.	NI	<i>Acinetobacter</i> sp.
<i>Acinetobacter</i> sp.	NI	<i>Acinetobacter</i> sp.
<i>Bacillus</i> sp.	NI	<i>Bacillus</i> sp.
<i>Corynebacterium</i> sp.	NI	<i>Corynebacterium</i> sp.
<i>Moraxella</i> sp.	NI	<i>Moraxella</i> sp.
NI	NI	NI
NI	NI	NI
<i>Pseudomonas</i> sp.	NI	<i>Pseudomonas</i> sp.
<i>Pseudomonas</i> sp.	NI	<i>Pseudomonas</i> sp.
<i>Pseudomonas</i> sp.	NI	<i>Pseudomonas</i> sp.
<i>Staphylococcus</i> sp.	NI	<i>Staphylococcus</i> sp.
<i>Staphylococcus</i> sp.	NI	<i>Staphylococcus</i> sp.
NI	<i>Pseudomonas</i> sp.	<i>Pseudomonas</i> sp.
<i>Pseudomonas</i> sp.	<i>Pseudomonas</i> sp.	<i>Pseudomonas</i> sp.
<i>Staphylococcus</i> sp.	<i>Pseudomonas</i> sp.	NI
<i>Staphylococcus</i> sp.	<i>Pseudomonas</i> sp.	NI

Tableau 3 : Résultats de l'analyse en spectrométrie MALDI-TOF et identification définitive.
NI = Non identifiée

L'analyse bactériologique de base ainsi que les premiers résultats de l'analyse en spectrométrie MALDI-TOF ont révélé la présence de 12 genres bactériens et de 6 genres fongiques différents. Aucun pathogène particulier n'est présent sur toutes les lésions.

Les résultats sont présentés dans le *Tableau 4*.

Genre identifié	Nombre de lésions touchées	Pourcentage de l'échantillon
<i>Acinetobacter</i> sp.	18	69,23
<i>Aeromonas</i> sp.	10	38,46
<i>Cladosporidium</i> sp.	7	26,92
<i>Corynebacterium</i> sp.	7	26,92
<i>Staphylococcus</i> sp.	7	26,92
<i>Pseudomonas</i> sp.	6	23,08
<i>Rhodotorula</i> sp.	5	19,23
<i>Penicillium</i> sp.	4	15,38
<i>Aspergillus</i> sp.	2	7,69
<i>Chryseobacterium</i> sp.	2	7,69
<i>Acremonium</i> sp.	1	3,85
<i>Bacillus</i> sp.	1	3,85
<i>Comamonas</i> sp.	1	3,85
<i>Enterobacter</i> sp.	1	3,85
<i>Exiguobacterium</i> sp.	1	3,85
<i>Macrococcus</i> sp.	1	3,85
<i>Moraxella</i> sp.	1	3,85
<i>Mucor</i> sp.	1	3,85

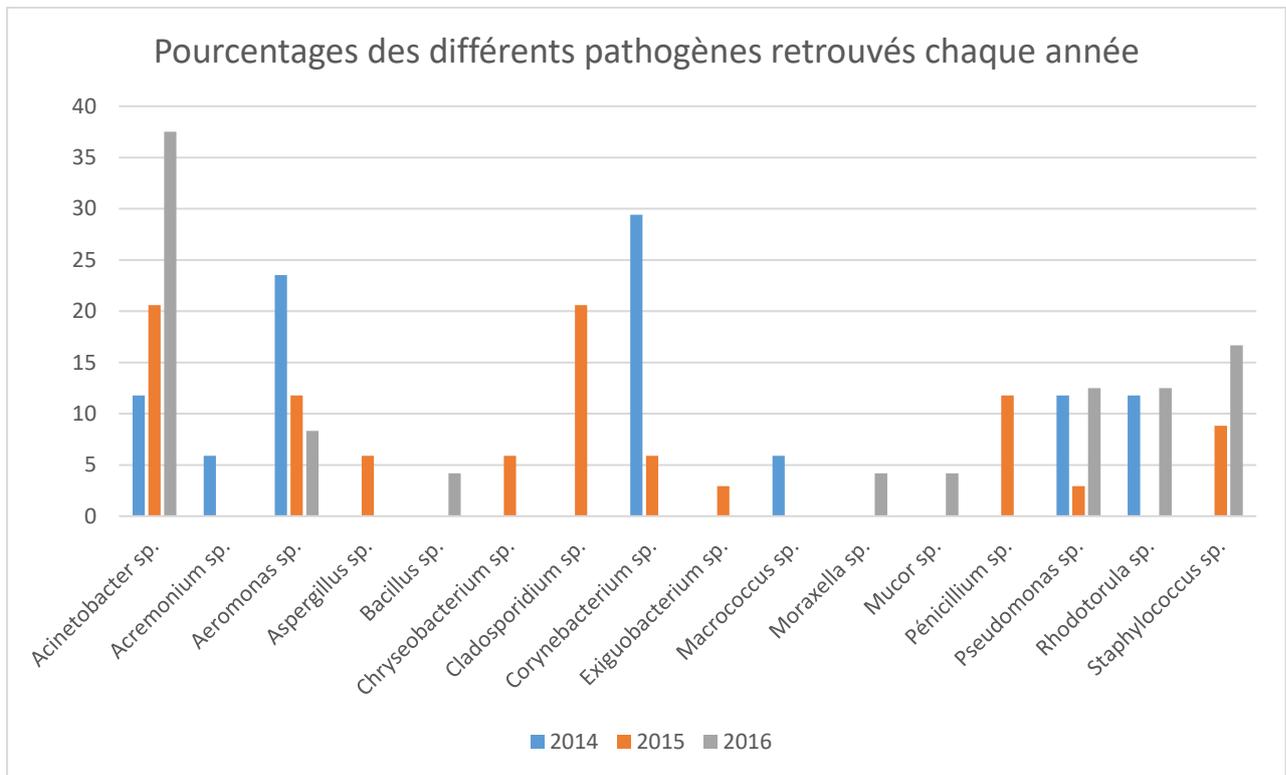
Tableau 4 : Pathogènes retrouvés sur les lésions prélevées

Le germe le plus fréquemment retrouvé appartient au genre *Acinetobacter* (présent sur 18 lésions soit 69,23 % des lésions prélevées), et notamment l'espèce *Acinetobacter iwoffii*, identifiée avec certitude sur 8 lésions. Viennent ensuite les bactéries du genre *Aeromonas* (sur 10 lésions soit 38,46 % des lésions prélevées).

Notons qu'une bactérie du genre *Enterobacter* a été retrouvée sur un témoin négatif. Ce résultat, provenant probablement d'une contamination de l'échantillon, n'a pas été comptabilisé.

La présence d'agents fongiques est détectée sur 15 lésions prélevées, soit 57,69 % de l'échantillon. On retrouve notamment les genres *Cladosporidium* (sur 7 lésions soit 26,92 % de l'échantillon) et *Rhodotorula* (sur 5 lésions soit 19,23 % de l'échantillon).

Les proportions de ces pathogènes semblent différentes en fonction des années (cf. *Graphique 20*), cependant, le faible nombre de données concernant certains pathogènes ne permet pas de conclure de manière significative ($p\text{-value} = 0,20$).



Graphique 20 : Pourcentages des différents pathogènes en fonction des années

Les proportions de pathogènes retrouvés au niveau de lésions sur des tortues provenant de lieux différents ne montrent pas de différence significative ($p\text{-value} = 0,97$). De même, les pathogènes retrouvés ne changent pas de manière significative en fonction du stade d'usure de la carapace ($p\text{-value} = 0,94$).

Aucune différence d'impact sur les caractéristiques des lésions (score lésionnel, multiplicité ou emplacement sur la carapace) n'est démontrée entre les différents pathogènes : la gravité des lésions ne sera significativement pas différente si on y retrouve une corynébactérie ou si on y retrouve une bactérie du genre *Acinetobacter*. Le *Tableau 5* résume les $p\text{-values}$ de ces différences d'impact, selon les tests biostatistiques décrits dans la partie 4.1.3.3 : « *Analyse des résultats* ».

Caractéristique des lésions	<i>p-value</i>
Multiplicité	0,46
Emplacement sur la carapace	0,90
Score lésionnel	0,91
TSDS	0,93

Tableau 5 : p-values des différences d'impact selon le pathogène sur les caractéristiques des lésions

Ces résultats non significatifs pourraient provenir d'un faible nombre de lésions infestées par certains pathogènes. Afin de nous affranchir de ces effectifs relativement faibles, nous avons choisi d'étudier l'impact sur le score lésionnel des genres pathogènes retrouvés sur au minimum trois lésions. Cependant, même en appliquant cette restriction, les différences restent non significatives (*p-value* = 0,89).

Enfin, nous avons tenté de mesurer l'impact de chaque pathogène retrouvé sur l'état de santé des tortues en comparant les indices biologiques moyen des cistudes hébergeant chaque type de pathogène. Cependant, ici aussi, le résultat s'est avéré non significatif (*p-value* = 0,47).

Nous avons alors appliqué la même restriction que celle utilisée précédemment (éviction des pathogènes infestant strictement moins de trois lésions) ; mais les différences sont encore une fois non significatives (*p-value* = 0,41).

A l'exception de la contamination à *Enterobacter* sp., tous les témoins négatifs n'ont pas montré de croissance bactérienne. De même, l'analyse en spectrométrie MALDI-TOF a correctement identifié les deux témoins *E. coli* et *Staphylococcus* sp. coagulase négative.

4.3. Discussion

4.3.1. Matériel et méthode

4.3.1.1. *Protocole*

Tout au long de l'étude étiologique, nous avons tenté de mettre en place un protocole le plus complet possible afin de mettre en évidence la cause de la pathologie. Cependant, des ressources budgétaires, techniques et infrastructurelles limitées nous ont obligés à faire des choix quant au protocole utilisé.

L'importance de la biopsie pour rechercher l'agent étiologique d'une pathologie de la carapace a été démontrée par de nombreuses publications (cf. « 2.2 : *Les pathologies de la carapace* »), notamment pour diagnostiquer une mycose (*Lafortune et al., 2005*) ou une maladie virale (*Garner et al., 1997*). Une étude histologique avait, au départ, été prévue sur les lésions des cistudes présentes en région Midi-Pyrénées. Ces tortues auraient été anesthésiées au sein de la clinique NAC et Faune Sauvage de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, où les prélèvements auraient été effectués. Ces prélèvements auraient été analysés au sein du Laboratoire d'anatomie pathologique vétérinaire Vet Diagnostics de Lyon (69). Malheureusement, le manque de temps de nos partenaires sur le terrain n'a pas permis de mettre en place cette étude.

Le recours à l'imagerie médicale est recommandé par certains auteurs pour détecter pertes de substance non cliniques ainsi que pour déterminer plus précisément l'extension et la sévérité des lésions. *Aleksić-Kovačević et al., 2014* et *Slavens et Slavens, 2016* ont notamment utilisé respectivement la radiologie et la tomodensitométrie.

Pour une étude la plus complète possible, l'imagerie médicale doit être associée à une hématologie et une biochimie afin de caractériser l'impact de la maladie sur les paramètres sanguins. Une mise en culture du sang récolté peut aussi permettre de mettre en évidence une potentielle bactériémie (*Garner et al., 1997*).

La réalisation de tous ces examens complémentaires nécessite une tranquillisation des animaux qui peut être assurée par un placement en thermo-boxes à une température comprise entre 4 et 8°C, recréant ainsi des conditions artificielles d'hivernage (*Aleksić-Kovačević et al., 2014*). La biopsie doit en revanche être réalisée sous anesthésie générale.

Enfin, certains auteurs ont euthanasié des animaux atteints et effectué une autopsie ainsi que des examens histopathologiques (*Garner et al., 1997 ; Tucker et al., 2002*). Ces examens ont permis de mettre en évidence les lésions internes des pathologies que ces deux auteurs ont observées. Cependant, au-delà de la dimension éthique, ce sacrifice était impossible dans notre cas, la cistude d'Europe étant une tortue protégée en France et dans le monde. De plus, le faible impact de la pathologie ne nécessitait pas le sacrifice de certains individus.

4.3.1.2. *Biostatistiques*

L'analyse statistique des résultats lors d'une étude sur une pathologie est indispensable pour valider les observations et les interpréter.

L'existence de témoins négatifs permet dans ce genre d'étude de vérifier l'hypothèse d'une contamination expliquant la présence de pathogènes sur les prélèvements. Ainsi, un individu sur quatre dans l'étude menée par *Tucker et al., 2002* ne présentait pas de symptôme, soit un taux de témoins négatifs de 25 %. Nous avons arbitrairement choisi quatre individus indemnes sur les trente prélèvements, soit un taux de témoins négatifs de 13,33 %.

4.3.2. Résultats

La présence d'une bactérie du genre *Enterobacter* sur un témoin négatif résulte probablement d'une contamination de l'échantillon. Cette bactérie n'a donc pas été comptée dans nos résultats. Sa présence indique néanmoins un risque de contamination d'autres prélèvements effectués sur les lésions. Cependant, comme un seul témoin négatif sur les quatre a donné lieu à une croissance bactérienne, ce risque de contamination semble minime.

Aucune bactérie n'est présente sur toutes les lésions prélevées : il n'existerait donc pas un seul agent responsable du SUC observé en France.

Le pathogène le plus présent appartient au genre *Acinetobacter*, un genre regroupant des bactéries présentes dans le sol et l'eau (*Soslau et al., 2011*).

Une nouvelle espèce appartenant à ce genre bactérien a été isolée dans le sang de tortues Luth (*Dermochelys oriacea*) nouveaux nés par *Soslau et al., 2011*, causant une chute importante du taux de survie des nouveaux nés. Les auteurs rapportent une importante anémie des nouveaux

nés due à la production par cette bactérie d'une hémolysine spécifique aux tortues Luth. Des bactéries du genre *Acinetobacter* ont aussi été isolées conjointement à d'autres bactéries chez une tortue Caouane (*Caretta caretta*) souffrant de stomatite ulcéralive (*Glazebrook et Campbell, 1990*). Cependant, ce genre bactérien n'a jamais été décrit à l'origine de lésions de la carapace chez les tortues à notre connaissance.

Les genres *Aeromonas* et *Pseudomonas*, respectivement second et troisième en fréquence dans notre étude, ont été isolés conjointement à d'autres genres bactériens (*Citrobacter*, *Serratia* et *Proteus*) et fongiques (*Mucor* et *Fusarium*) sur des lésions nécrotiques de la carapace par *Aleksić-Kovačević et al., 2014*. Selon *Harvey-Clark, 1997*, *Aeromonas* spp. et *Pseudomonas* spp. sont très fréquemment retrouvés dans des complexes bactériens à l'origine d'une dermatite superficielle (cf. « 2.2.4.1 : Dermatite superficielle »).

Selon *Hernandez-Divers et al., 2009*, la plupart des surinfections de lésions de la carapace sont dues à des surinfections de lésions existantes par des entérobactéries comme *Enterobacter* spp. Cependant, ce genre est le seul de la famille des *Enterobacteriaceae* que nous retrouvons sur les lésions du SUC en France. De plus, ce genre n'est retrouvé que sur une unique lésion.

En ce qui concerne les agents fongiques, *Aspergillus* et *Penicillium* seraient les genres les plus souvent retrouvés dans les dermatites mycosiques chez les reptiles. Ces champignons saprobes du sol, ont été décrits à la fois chez des squamates, des ophidiens, des crocodiliens et des chéloniens. *Mucor* spp. a été à l'origine de dermatites fongiques chez des tortues à carapace molle *Apalone ferox*. Des agents mycosiques du genre *Fusarium* ont été isolés chez des gophères du Texas (*Gopherus berlandieri*) présentant des lésions nécrotiques sur la carapace (*Jacobson, 2007*) (cf. « 2.2.3.3 : Mycoses »).

Les bactéries des genres *Pseudomonas*, *Macrococcus*, *Corynebacterium* et *Aeromonas* sont des germes commensaux de la bouche des reptiles. *Aeromonas* spp., *Pseudomonas* spp., *Enterobacter* spp., *Bacillus* spp., et *Aspergillus* spp. sont quant à eux des germes commensaux de l'intestin et du cloaque des reptiles (*Lahoreau, 2003 ; Nowakiewicz et al., 2015*). Leur présence sur la carapace des tortues pourrait être expliquée par une contamination (notamment fécale) de l'eau. Par ailleurs, *Cladosporium* sp. est un agent fongique de la flore cutanée commensale des reptiles (*Jacobson, 2007*).

4.3.3. Conclusion

Finally, the majority of germs found are commensals of the skin of reptiles, but can become pathogenic in favor of a primary lesion of the epidermis. The SUC observed on the wild European tortoises of France would therefore be a mixed (bacterial and fungal) surface dermatitis of multiple etiology. The presence of *Acinetobacter* sp. among these germs is interesting, as this bacterial genus has, to our knowledge, never been described in dermatitis.

No particular germ seems to have a more important impact than another on the health of individuals or on the characteristics of the lesions observed. However, the small number of samples may have induced this uncertainty. Future similar studies should be carried out in order to clarify these results.

CONCLUSION

Depuis de nombreuses années, les naturalistes de France suivent de près les tortues dulçaquicoles sauvages de France, notamment la cistude d'Europe (*Emys orbicularis*). Le statut précaire des populations sauvages de cette espèce a poussé les autorités à mettre en place un Plan National d'Action qui prévoit notamment l'étude des pathologies de la carapace. Parmi elles, les pertes de substance (« ulcérations ») sur la carapace semblent être de plus en plus présentes depuis quelques années.

Notre étude a permis dans un premier temps de caractériser cet ensemble pathologique. De par son étiologie multiple, nous avons proposé de le désigner sous le terme de Syndrome Ulcératif de la Carapace (SUC).

Afin de caractériser au mieux le SUC observé sur les cistudes de France, nous avons mis en place deux études. Dans un premier temps, nous avons tenté de caractériser son épidémiologie, puis nous avons recherché l'agent en cause dans un second temps. La méthodologie mise en place pour l'étude épidémiologique, inspirée de plusieurs protocoles menés sur des études similaires, constitue une nouveauté utile à la standardisation de futures recherches sur la carapace des tortues dulçaquicoles.

Les résultats de ces deux études font apparaître le rôle important de l'environnement dans la pathogénie du SUC. Les ulcérations constitueraient la manifestation clinique d'une dermatite superficielle due à une surinfection par des germes opportunistes de lésions primaires, elles-mêmes causées par un substrat abrasif. La présence d'*Acinetobacter* sp. sur de nombreux prélèvements est à souligner, car cette bactérie n'a jamais été isolée sur ce type de lésion.

Des études supplémentaires devront être mises en place afin de vérifier nos résultats et de caractériser l'évolution de la maladie grâce aux données de recapture. Ces études devront également rechercher de potentiels facteurs favorisants environnementaux en s'appuyant sur des analyses de l'eau dans le but de définir sa charge bactérienne et de détecter d'éventuels polluants. Une fois ces facteurs identifiés, une phase d'épidémiologie opérationnelle pourra être mise en place afin de corriger ces facteurs prédisposants.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

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

Je soussigné, Philippe JACQUIET, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de BIOT Lilian intitulée « Synthèse des connaissances actuelles sur la cistude d'Europe (*Emys orbicularis*) et étude d'une pathologie de sa carapace. » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

Fait à Toulouse, le 21 février 2017
Professeur Philippe JACQUIET
Enseignant chercheur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse



Vu :
Le Président du jury :
Professeur Gérard CAMPISTRON



M. BIOT Lilian
a été admis(e) sur concours en : 2010
a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le : 25/06/2015
a validé son année d'approfondissement le : 03/11/2016
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

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



Vu et autorisation de l'impression :
Président de l'Université
Paul Sabatier
Monsieur Jean-Pierre VINEL

Le Président de l'Université Paul Sabatier
par délégation,
La Vice-Présidente de la CFVU



Régine ANDRE-OBRECHT



LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS UTILISES

BID : *Bis In Die* : deux fois par jour

CEN : Conservatoire des Espaces Naturels

CMR : Capture – Marquage – Relâcher

CNRS : Centre National de la Recherche Scientifique

CSFS : Centre de Soins à la Faune Sauvage

DREAL : Direction Régionale de l'Environnement, de l'Aménagement et du Logement

IM : par voie intramusculaire

INP – ENVT : Institut National Polytechnique – Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

LAC : Ligne d'arrêt de croissance

NAC : Nouveaux Animaux de Compagnie

NMP : Nature Midi Pyrénées (association)

PNA : Plan National d'Actions

PO : *per os* : par voie orale

SHF : Société Herpétologique de France

SHNA : Société d'Histoire Naturelle d'Autun

TSDS : Total Shell Disease Score ou « score lésionnel d'une tortue »

SC : par voie sous-cutanée

SID : *Semel In Die* : une fois par jour

SLED : Sea Turtle Leech Erosion Disease : maladie érosive des tortues marines causée par des sangsues

SUC : Syndrome Ulcératif de la Carapace

TID : *Ter In Die* : trois fois par jour

TSA : gélose Tryptone Soy Agar : gélose utilisée pour la culture de bactéries aérobies

UICN : Union Internationale pour la Conservation de la Nature

ZNIEFF : Zone Naturelle d'Intérêt Ecologique, Faunistique et Floristique

BIBLIOGRAPHIE

- A Cupulatta. 2013. Site internet. <http://www.acupulatta.com>.
- Ackerman, L. 1997. *The Biology, Husbandry and Health Care of Reptiles*. Cité dans « Saint-Raymond Moynas, 2009 ». TFH Publications, Incorporated.
- Ahne, W. 1993. « Viruses of Chelonia ». *Journal of Veterinary Medicine, Series B* 40 (1-10): 35-45.
- Aleksić-Kovačević, S., J. Ozvegy, N. Krstić, M. Rusvai, C. Jakab, Z. Stanimirović, et Z. Becskei. 2014. « Skin and Skeletal System Lesions of European Pond Turtles (*Emys Orbicularis*) from Natural Habitats ». *Acta Veterinaria Hungarica* 62 (2): 180-93.
- Alibardi, L. 2005. « Differentiation of Snake Epidermis, with Emphasis on the Shedding Layer ». *Journal of Morphology* 264 (2): 178-90.
- . 2014. « Presence of a Glycine-Cysteine-Rich Beta-Protein in the Oberhautchen Layer of Snake Epidermis Marks the Formation of the Shedding Layer ». *Protoplasma* 251 (6): 1511-20.
- Ariel, E., P. Ladds, et B. Roberts. 1997. « Mycobacteriosis in Young Freshwater Crocodiles (*Crocodylus Johnstoni*) ». *Australian Veterinary Journal* 75 (11): 831-33.
- Arrêté du 10 août 2004 fixant les conditions d'autorisation de détention d'animaux de certaines espèces non domestiques dans les établissements d'élevage, de vente, de location, de transit ou de présentation au public d'animaux d'espèces non domestiques.* 2004.
<https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=LEGITEXT000018810562>.
- Arrêté du 10 août 2004 fixant les règles générales de fonctionnement des installations d'élevage d'agrément d'animaux d'espèces non domestiques.* 2004.
<https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=LEGITEXT000005851004>.
- Arrêté du 19 novembre 2007 fixant les listes des amphibiens et des reptiles protégés sur l'ensemble du territoire et les modalités de leur protection.* 2007.
- Arvy, C., et B. Fertard. 2002. *Pathologie des tortues : étude synthétique*. Société Herpétologique de France.
- Arvy, C., et J. Servan. 1996. « Distribution of *Trachemys scripta elegans* in France : a potential competitor for *Emys orbicularis*, cité dans "Thienpont, 2011" ». In *Proceedings of the EMYS Symposium*. Dresden, Germany.
- Auby, I., C.-A. Bost, H. Budzinski, S. Dalloyau, A. Desternes, A. Belles, G. Trut, et al., 2011. « Régression des herbiers de zostères dans le Bassin d'Arcachon : état des lieux et recherche des causes ».

- Ballouard, J.-M. 2013. « Pressions anthropiques subies par les chéloniens dans le Var-Testudo hermanni (Gmelin, 1789) et Emys orbicularis (Linnaeus, 1758): premier retour d'un centre de soins de la faune sauvage ». *Bull. Soc. Herp. Fr* 145 (146): 157–168.
- Bannikov, A. G. 1951. « Data on the knowledge of the biology of Kazach turtles ». *Uchenie Zapiski, Moskovskij Gorodskoj Pedagogiceskij Institute WP Potemkina*, cité dans « Thienpont, 2011 », 18: 131–166.
- Barthe, L. 2012. « Guide technique pour la conservation de la Cistude d'Europe en Midi-Pyrénées ». *CPIE Pays Gersois*, 84.
- Bemis, D. A., C. S. Patton, et E. C. Ramsay. 1999. « Dermatophilosis in Captive Tortoises ». *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 11 (6): 553-57.
- Bereiter-Hahn, J., A. G. Matoltsy, et K. S. Richards. 2013. *Biology of the Integument: 2 Vertebrates*. Springer Science & Business Media.
- Bernard, P. 1994. « Rapport d'évaluation sur les politiques publiques en matière de zones humides ». *Unpublished report of ministère de l'écologie, de l'énergie, du Développement durable et de la mer*.
- Bertolero, A. 2007. « Protocole de suivi du projet de réintroduction de la Cistude Emys orbicularis aux Réserves Naturelles Nationales de l'Estagnol et du Bagnas (Languedoc-Roussillon) », Laboratoire de Biogéographie et Ecologie des Vertébrés EPHE, , 66.
- Bielecki, A., J. Cichocka, A. Jabłoński, I. Jeleń, E. Ropelewska, A. Biedunkiewicz, J. Terlecki, J. Nowakowski, J. Pakulnicka, et J. Szlachciak. 2012. « Coexistence of Placobdella costata (Fr. Müller, 1846) (Hirudinida: Glossiphoniidae) and mud turtle Emys orbicularis ». *Biologia* 67 (4): 731–738.
- Bishop, C. A., P. Ng, K. E. Pettit, S. W. Kennedy, J. J. Stegeman, R. J. Norstrom, et R. J. Brooks. 1998. « Environmental contamination and developmental abnormalities in eggs and hatchlings of the common snapping turtle (Chelydra serpentina serpentina) from the Great Lakes—St Lawrence River basin (1989–1991) ». *Environmental Pollution* 101 (1): 143-56.
- Blakey, C., et J. Kirkwood. 1995. « Body Mass to Length Relationships in Chelonia ». *Veterinary Record* 136 (22): 566-68.
- Bour, R. 2012. *Atlas de la terrariophilie : les tortues terrestres et aquatiques*. cité dans « Saint-Raymond Moynas, 2009 ». Animalia éd.
- Bourdeau, P. 1988. « Pathologie des tortues, 2e partie: affections cutanées et digestives ». *Le Point vétérinaire: revue d'enseignement post-universitaire et de formation permanente* 20 (118): 19-32.
- Bourdin, J. 2009. « Rapport d'information fait au nom de la Délégation du Sénat pour la planification sur l'évaluation des politiques publiques concernant les zones humides ». Rapport public.

- Bouvard, J. 1992. « Contribution à l'étude des affections tégumentaires des tortues terrestres méditerranéennes. Observations personnelles dans le Village des tortues de Gonfaron ». Thèse pour l'obtention du doctorat vétérinaire, Maison-Alfort: Faculté de Médecine de Créteil.
- Brogard, J. 1992. *Les maladies des reptiles*. Editions du Point Vétérinaire. cité dans « Saint-Raymond Moynas, 2009 ».
- Brooks, R. J., D. A. Galbraith, et J. A. Layfield. 1990. « Occurrence of *Placobdella parasitica* (Hirudinea) on snapping turtles, *Chelydra serpentina*, in southeastern Ontario ». *The Journal of Parasitology*, 190–195.
- Brown, D. R., J. K. Lackovich, et P. A. Klein. 1999. « Further Evidence for the Absence of Papillomaviruses from Sea Turtle Fibropapillomas ». *Veterinary Record* 145 (21): 616-17.
- Buenviaje, G., R. Hirst, P. Ladds, et J. Millan. 1997. « Isolation of *Dermatophilus* Sp from Skin Lesions in Farmed Saltwater Crocodiles (*Crocodylus Porosus*) ». *Australian Veterinary Journal* 75 (5): 365-67.
- Bugot, E. 2009. « Réintroduction de la Cistude d'Europe, *Emys orbicularis* L., sur la Réserve Naturelle du Bagnas, deuxième année de suivi ». *Mars*, Université Montpellier II, , 72.
- Bulliot, C. 2006. « Origine des fractures de carapace », 5.
- Bunkley-Williams, L., E. H. Williams, J. A. Horrocks, H. C. Horta, A. A. Mignucci-Giannoni, et A. C. Poponi. 2008. « New Leeches and Diseases for the Hawksbill Sea Turtle and the West Indies ». *Comparative Parasitology* 75 (2): 263-70. doi:10.1654/4252.1.
- Cabañes, F. J., J. M. Alonso, G. Castellá, F. Alegre, M. Domingo, et S. Pont. 1997. « Cutaneous Hyalohyphomycosis Caused by *Fusarium Solani* in a Loggerhead Sea Turtle (*Caretta Caretta* L.). » *Journal of Clinical Microbiology* 35 (12): 3343-45.
- Cadi, A., et P. Faverot. 2004. « La cistude d'Europe: gestion et restauration des populations et de leur habitat », cité dans « Thienpont, 2011 », .
- Cadi, A, et P Joly. 2003. « Competition for basking places between the endangered European pond turtle (*Emys orbicularis galloitalica*) and the introduced r ». *Canadian Journal of Zoology* 81 (8): 1392-98.
- Cadi, A., et A. Miquet. 2004. « A reintroduction programme for the European pond turtle (*Emys orbicularis*) in Lake Bourget (Savoie, France): first results after two years ». *Biologia (Bratislava)* 59 (Suppl 14): 155–159.
- Cadi, A., A. Miquet, et B. Coïc. 2002. « Charte de réintroduction de la Cistude d' Europe ». *Conservatoire du patrimoine naturel de la Savoie, Conservatoire Rhône-Alpes des espaces naturels, Université Claude Bernard Lyon 1 UMR-CNRS*, 11.
- Carpenter, J. W. 2012. *Exotic Animal Formulary*. Elsevier Health Sciences.

- Castanet, J. 1988. « Les méthodes d'estimation de l'âge chez les chéloniens ». *Mesogee*, cité dans « Thienpont, 2011 », 48: 21–28.
- CEN Allier. s. d. Site internet. <http://cen-allier.org/le-cen-allier/>.
- CEPEC. 2014. « Suivi scientifique de la réintroduction de la Cistude d'Europe en Alsace ». In . Centre d'Etudes de Protection et d'Elevage des Chéloniens.
- Cezilly, F., A. Gregoire, et A. Bertin. 2000. « Conflict between co-occurring manipulative parasites? An experimental study of the joint influence of two acanthocephalan parasites on the behaviour of *Gammarus pulex* ». *Parasitology* 120 (6): 625-30.
- Cheyilan, M. 1981. « Biologie et écologie de la Tortue d'Hermann (*Testudo hermanni*, Gmelin 1789): contribution de l'espèce à la connaissance des climats quaternaires de la France, cité dans "Thienpont, 2011" ».
- . 1998. « Evolution of the distribution of the European pond turtle in the French Mediterranean area since the post-glacial ». *Mertensiella* 10: 47–65.
- Cheyilan, M., et F. Poitevin. 1998. « Impact of fire on a population of European pond turtles (*Emys orbicularis*) in southeastern France ». *Mertensiella* 10: 67–82.
- Chitty, J., et A. Raftery. 2013. *Essentials of Tortoise Medicine and Surgery*. John Wiley & Sons.
- Christman, J., M. Devau, H. Wilson-Robles, S. Hoppes, R. Rech, K. E. Russell, et J. J. Heatley. 2016. « Oncology of Reptiles ». *Veterinary Clinics: Exotic Animal Practice* 20 (1): 87-110.
- Çiçek, Kerim, et Dinçer Ayaz. 2011. « Food composition of the European pond turtle (*Emys orbicularis*) in Lake Sülüklü (Western Anatolia, Turkey) ». *Journal of Freshwater Ecology* 26 (4): 571-78.
- Colin, F. 1992. « Sur la présence de 3 espèces de Tortues aquatiques en Eure-et-Loir. » *Amis Mus. Chartres Nat. Eure-et-Loir: Bull* 11: 45–48.
- Collet, L. 2003. « Distribution spatiale des pontes de la Cistude d' Europe (*Emys orbicularis*) aux Marais du Vigueirat (13) ». *Maîtrise Sciences et Techniques, Rouen*. 22p.
- Conboy, G. A., J. R. Laursen, G. A. Averbek, et B. E. Stromberg. 1997. « Diagnostic guide to some of the helminth parasites of aquatic turtles ». *Veterinaria Cremona*, Cité dans « Johnson et al., 1998 », 11 (5): 103-7.
- Costanzo, J.-P. 1989. « Effects of Humidity, Temperature, and Submergence Behavior on Survivorship and Energy Use in Hibernating Garter Snakes, *Thamnophis Sirtalis* ». *Canadian Journal of Zoology* 67 (10): 2486-92.
- Dailey, M. D., et R. Morris. 1995. « Relationship of parasites (Trematoda: Spirorchidae) and their eggs to the occurrence of fibropapillomas in the green turtle (*Chelonia mydas*) ». *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 52 (S1): 84-89.

- Davies, R. W. 1978. « The morphology of *Ozobranchus margo* (Apathy)(Hirudinoidea), a parasite of marine turtles ». *The Journal of parasitology*, 1092–1096.
- De Matteis, C. 2004. « Carnet de clinique des reptiles ». Thèse pour l'obtention du doctorat vétérinaire, Maison-Alfort: Faculté de Médecine de Créteil.
- Dickinson, V. M., T. Duck, C. R. Schwalbe, J. L. Jarchow, et M. H. Trueblood. 2001. « Nasal and cloacal bacteria in free-ranging desert tortoises from the western united states ». *Journal of Wildlife Diseases* 37 (2): 252-57.
- Directive 92/43/CEE du Conseil, du 21 mai 1992, concernant la conservation des habitats naturels ainsi que de la faune et de la flore sauvages.* 1992.
- Directive 92/43/CEE du Conseil du 21 mai 1992 concernant la conservation des habitats naturels ainsi que de la faune et de la flore sauvages.* 2016.
- Divers, S. J., et D. R. Mader. 2005. *Reptile Medicine and Surgery*. Elsevier Health Sciences.
- Duguy, R., et T.-P. Baron. 1998. « La Cistude d'Europe, *Emys orbicularis* dans le Marais de Brouage (Char.-Mar.) : cycle d'activité, thermorégulation, déplacements, reproduction et croissance ». *Annales de la Société des sciences naturelles de la Charente-Maritime* 8 (7): 781-803.
- Duguy, R., P. Moriniere, et C. Le Milinaire. 1998. « Facteurs de mortalité observés chez les tortues marines dans le golfe de Gascogne ». *Oceanologica Acta*, International Conference on Oceanography of the Bay of Biscay, 21 (2): 383-88.
- Dunn, A.-M. 1995. « Evidence for the Displacement of *Gammarus Duebenii* By *Gammarus Pulex* (Amphipoda) in a Freshwater Site in Brittany, France ». *Crustaceana* 68 (7): 912-14.
- Dunson, W. A. 1967. « Relationship between Length and Weight in the Spiny Softshell Turtle ». *Copeia* 1967 (2): 483-85.
- DuPonte, M. W., R. M. Nakamura, et E. M. Chang. 1978. « Activation of Latent Salmonella and Arizona Organisms by Dehydration of Red-Eared Turtles, *Pseudemys Scripta-Elegans* ». *American Journal of Veterinary Research*, cité dans « Saint-Raymond Moynas, 2009 », 39 (3): 529-30.
- Elkan, E., et P. Zwart. 1967. « The ocular disease of young terrapins caused by vitamin A deficiency ». *Pathologia Veterinaria Online* 4 (3): 201–222.
- Ene, A., M. Su, S. Lemaire, C. Rose, S. Schaff, R. Moretti, J. Lenz, et L. H. Herbst. 2005. « Distribution of Chelonid Fibropapillomatosis-Associated Herpesvirus Variants in Florida: Molecular Genetic Evidence for Infection of Turtles Following Recruitment to Neritic Developmental Habitats ». *Journal of Wildlife Diseases* 41 (3): 489-97.
- Ernst, C.-H., et R.-W. Barbour. 1989. *Turtles of the World*. Smithsonian Institution Press.
- Ersanli, E. T., et A. Gonulol. 2015. « Epizooty Composition on Spotted Turtle *Emys Orbicularis* (Linnaeus, 1758) in Turkey ». *Bangladesh Journal of Botany* 43 (2): 157-61.

- Fayolle, S., C. Moriconi, B. Oursel, C. Koenig, M. Suet, S. Ficheux, M. Logez, et A. Olivier. 2016. « Epizoic algae distribution on the carapace and plastron of the European pond turtle (*Emys orbicularis*, Linnaeus, 1758): A study from the Camargue, France ».
- Fernández, C.-A., et A.-C. Rivera. 2004. « Asymmetries and accessory scutes in *Emys orbicularis* from Northwest Spain ». *Biologia* 59 (14): 85–88.
- Ferronato, B. O., T. S. Marques, F. L. Souza, L. M. Verdade, et E. R. Matushima. 2009. « Oral bacterial microbiota and traumatic injuries of free-ranging *Phrynops geoffroanus* (Testudines, Chelidae) in southeastern Brazil ». *Phyllomedusa: Journal of Herpetology* 8 (1): 19-25.
- Ficetola, G.-F., et F. De Bernardi. 2006. « Is the European “pond” turtle *Emys orbicularis* strictly aquatic and carnivorous? ». *Amphibia-Reptilia* 27: 445–447.
- Fiers, V., B. Bal, F. Bezannier, P. Dupont, J.-M. Faton, G. Lemoine, C. Schwoerhrer, et al. 2003. « Etudes scientifiques en espaces naturels. Cadre méthodologique pour le recueil et le traitement de données naturalistes ». Cahiers techniques de l'ATEN n°72. Montpellier: Réserves Naturelles de France.
- Firmin, Y. 1997. « Pathologie dermatologique des reptiles ». *Le point vétérinaire*, cité dans « Saint-Raymond Moynas, 2009 », 28 (184): 13–22.
- . 2004. « L'alimentation des reptiles ». *L'alimentation des animaux sauvages en captivité*, Institut Océanographique Paul Ricard, , 148.
- Friend, S.c.e., et E.g. Russell. 1979. « Mycobacterium intracellulare infection in a water monitor ». *Journal of Wildlife Diseases* 15 (2): 229-33.
- Fritz, U., A. Cadi, M. Cheylan, C. Coïc, M. Détaint, A. Olivier, E. Rosecchi, et al. 2005. « Distribution of mtDNA haplotypes (cyt *b*) of *Emys orbicularis* in France and implications for postglacial recolonization ». *Amphibia-Reptilia* 26 (2): 231-38.
- Fritz, U., D. Guicking, H. Kami, M. Arakelyan, M. Auer, D. Ayaz, C.-A. Fernández, et al. 2007. « Mitochondrial phylogeography of European pond turtles (*Emys orbicularis*, *Emys trinacris*) – an update ». *Amphibia-Reptilia* 28 (3): 418-26.
- Frye, F. L. 1991. *Reptile Care: An Atlas of Diseases and Treatments*, Cité dans « Saint-Raymond Moynas, 2009 ». T.F.H. Publications.
- Gagno, S., A. J. Petter, et S. Bouamer. 2006. *Parasitologie des chéloniens helminthes : biologie, écologie, pathologie*. Gonfaron, France: SOPTOM.
- Garner, M., R. Herrington, E.-W. Howerth, B. Homer, V. Nettles, R. Isaza, E.-B. Shotts, et E. Jacobson. 1997. « Shell Disease in River Cooters (*Pseudemys Concinna*) and Yellow-Bellied Turtles (*Trachemys Scripta*) in a Georgia (USA) Lake ». *Journal of Wildlife Diseases* 33 (1): 78-86.
- Garner, M. M., S. M. Hernandez-Divers, et J. T. Raymond. 2004. « Reptile Neoplasia: A Retrospective Study of Case Submissions to a Specialty Diagnostic Service ». *The Veterinary Clinics of North America. Exotic Animal Practice* 7 (3): 653-671, vi.

- Gasc, J.-P., A. Cabela, D. Crnobrnja-Isailovic, K. Dolmen, K. Grossenbacher, P. Haffner, J. Lescure, et al. 1997. *Atlas of amphibians and reptiles in Europe*. cité dans « Thienpont, 2011 ».
- Gaudron, C. 2001. « Imagerie médicale appliquée à l'anatomie clinique de chéloniens. Modèle de la Tortue de Floride, *Trachemys scripta* subsp. *elegans* (Wied, 1839) ». Thèse pour l'obtention du doctorat vétérinaire, Faculté de Médecine de Rangueil: Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.
- Georges, J.-Y. 2015. « Survie et comportement au cours du premier hiver post-relâcher de cistudes d'Europe *Emys orbicularis* en Alsace, France ». In , Programme et Recueil des Présentations des Journées Techniques Cistude 2015:32. Strasbourg, France.
- Georges, J.-Y., J.-N. Beisel, I. Combroux, C. Grac, D Hoch, S. Kern, P. Knibiely, et al. 2015. « Site d'Etude en Ecologie Globale du Woerr: approche multicritère d'un programme de relâcher de cistudes d'Europe en Alsace, cité dans "Thienpont, 2011" ». In *6ème Conférence nationale REVER et Dynamiser Restauration fonctionnelle et durable*. Strasbourg, France.
- Georges, J.-Y., C. Grac, et B. Quintard. 2015. « Tests de prédation de la moule zébrée *Dreissena polymorpha* par la cistude d'Europe *Emys orbicularis* ». In *Journées Scientifiques et Techniques « Cistudes »*. Strasbourg, France: Conseil Départemental du Bas-Rhin.
- Glazebrook, J. S., et R. S. F. Campbell. 1990. « A Survey of the Diseases of Marine Turtles in Northern Australia. II, Oceanarium-Reared and Wild Turtles ». *Diseases of Aquatic Organisms* 9 (2): 97-104.
- Goodchild, C. G., et D. E. Kirk. 1960. « The Life History of *Spirorchis elegans* Stunkard, 1923 (Trematoda: Spirorchiiidae) from the Painted Turtle ». *The Journal of Parasitology* 46 (2): 219-29.
- Grac, C., N. fernandez, A. Meyer, S. Cybill, J.-Y. Georges, et F. Labat. 2015. « Estimation de la biomasse disponible en macro-invertébrés aquatiques susceptible de nourrir les cistudes d'Europe relâchées sur le site alsacien du Woerr (Nord Est de la France) : résultats préliminaires ». In *Conférence nationale, Journées Scientifiques et Techniques « Cistudes »*. cité dans « Thienpont, 2011 ». Strasbourg, France: Conseil Départemental du Bas-Rhin.
- Grassé, P.-P. 1970. *Traité de zoologie : Anatomie-Systématique-Biologie. Reptiles-Caractères généraux et anatomie*. Vol. Tome XIV, fascicule 2. Masson.
- Grassé, P.-P., et A. Tétry. 1974. *Zoologie : Tétrapodes-Domaines faunistiques-Zoogéographie*. Vol. Tome IV. 14 vol. Gallimard.
- Greenblatt, R. J., T. M. Work, G. H. Balazs, C. A. Sutton, R. N. Casey, et J. W. Casey. 2004. « The *Ozobranchus leech* is a candidate mechanical vector for the fibropapilloma-associated turtle herpesvirus found latently infecting skin tumors on Hawaiian green turtles (*Chelonia mydas*) ». *Virology* 321 (1): 101-10.

- Greer, L. L., J. D. Strandberg, et B. R. Whitaker. 2003. « Mycobacterium chelonae Osteoarthritis in a Kemp's Ridley Sea Turtle (*Lepidochelys kempii*) ». *Journal of Wildlife Diseases* 39 (3): 736-41.
- Grenot, C. 1968. « Etude comparative de la résistance a la chaleur d'*Uromastix acanthinurus* et de *Varanus griseus* ».
- Haffner, P. 1997. « Bilan des introductions récentes d'amphibiens et de reptiles dans les milieux aquatiques continentaux de France métropolitaine ». *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture*, n° 344-345: 155-63.
- Haines, H., et W. C. Kleese. 1977. « Effect of Water Temperature on a Herpesvirus Infection of Sea Turtles. » *Infection and Immunity* 15 (3): 756-59.
- Harkewicz, K. A. 2002. « Dermatologic problems of reptiles ». *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine, Anatomy and Disorders of the Integument*, 11 (3): 151-61.
- Harvey-Clark, C. J. 1995. « Common dermatologic problems in pet Reptilia ». *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine, Dermatology*, 4 (4): 205-19.
- . 1997. « Dermatologic (skin) disorders ». *The biology, husbandry and health care of reptiles*, cité dans « Saint-Raymond Moynas, 2009 », 3: 654–680.
- Heard, D. J. 1999. « Shell repair in turtles and tortoises: An heretical approach ». *Proc N Am Vet Conf*, cité dans « Saint-Raymond Moynas, 2009 », .
- Héritier, L., M. Badets, L. H. Du Preez, M. S. O. Aisien, F. Lixian, C. Combes, et O. Verneau. 2015. « Evolutionary processes involved in the diversification of chelonian and mammal polystomatid parasites (Platyhelminthes, Monogenea, Polystomatidae) revealed by palaeoecology of their hosts ». *Molecular Phylogenetics and Evolution* 92 (novembre): 1-10.
- Hernandez-Divers, Stephen J., Patrick Hensel, Juliet Gladden, Sonia M. Hernandez-Divers, Kurt A. Buhlmann, Chris Hagen, Susan Sanchez, Kenneth S. Latimer, Mary Ard, et Alvin C. Camus. 2009. « Investigation of shell disease in map turtles (*Graptemys* spp.) ». *Journal of wildlife diseases* 45 (3): 637–652.
- Holliman, R. B., et J. E. Fisher. 1968. « Life Cycle and Pathology of *Spirorchis scripta* Stunkard, 1923 (Digenea: Spirorchiiidae) in *Chrysemys picta picta* ». *The Journal of Parasitology* 54 (2): 310-18.
- Holliman, R. B., J. E. Fisher, et J. C. Parker. 1971. « Studies on *Spirorchis parvus* (Stunkard, 1923) and Its Pathological Effects on *Chrysemys picta picta* ». *The Journal of Parasitology* 57 (1): 71-77.
- Holt, P. E. 1981. « Healing of a Surgically Induced Shell Wound in a Tortoise ». *The Veterinary Record*, cité dans « Saint-Raymond Moynas, 2009 », 108 (5): 102.
- Homer, B. L., K. H. Berry, M. B. Brown, G. Ellis, et E. R. Jacobson. 1998. « Pathology of Diseases in Wild Desert Tortoises from California ». *Journal of Wildlife Diseases* 34 (3): 508-23.

- Hoppmann, E., et H. W. Barron. 2007. « Dermatology in Reptiles ». *Journal of Exotic Pet Medicine* 16 (4): 210-24.
- Huchzermeyer, F. W., et J. E. Cooper. 2000. « Fibrin, Not Abscess, Resulting from a Localised Inflammatory Response to Infection in Reptiles and Birds ». *Veterinary Record* 147 (18): 515-17.
- Huchzermeyer, K. D. 1991. « Treatment and control of an outbreak of salmonellosis in hatchling Nile crocodiles (*Crocodylus niloticus*). » *Journal of the South African Veterinary Association* 62 (1): 23–25.
- IUCN/SSC. 2013. *Guidelines for Reintroductions and Other Conservation Translocations. Version 1.0*. IUCN Species Survival Commission, viii. Gland, Switzerland: Osprey Publishing.
- Jablonski, A., et S. Jablonska. 1998. « Egg-laying in the European pond turtle, *Emys orbicularis* (L.) ». *Leczyńsko–Włodawskie Lake District (east Poland)*. *Mertensiella*, cité dans « Thienpont, 2011 », 10: 141–146.
- Jacobson, E. R. 1980. « Necrotizing Mycotic Dermatitis in Snakes: Clinical and Pathologic Features ». *Journal of the American Veterinary Medical Association* 177 (9): 838-41.
- . 1992. « Reptile dermatology ». *Current veterinary therapy XI*. WB Saunders, Philadelphia, cité dans « Saint-Raymond Moynas, 2009 », , 1204–1210.
- . 1994. « Causes of mortality and diseases in tortoises: a review ». *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 2–17.
- . 2007. *Infectious Diseases and Pathology of Reptiles: Color Atlas and Text*. CRC Press.
- Jacobson, E. R., M. B. Calderwood, S. L. Clubb, et others. 1980. « Mucormycosis in hatchling Florida softshell turtles ». *J. Am. Vet. Med. Assoc* 177: 835–837.
- Jacobson, E. R., J. L. Cheatwood, et L. K. Maxwell. 2000. « Mycotic diseases of reptiles ». *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine, Fungal Diseases*, 9 (2): 94-101.
- Jacobson, E. R., J. M. Gaskin, S. Clubb, et M. B. Calderwood. 1982. « Papilloma-like Virus Infection in Bolivian Side-Neck Turtles ». *Journal of the American Veterinary Medical Association* 181 (11): 1325-28.
- Jacobson, E. R., G. R. Harman, L. K. Maxwell, et E. J. Laille. 2003. « Plasma concentrations of praziquantel after oral administration of single and multiple doses in loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) ». *American Journal of Veterinary Research* 64 (3): 304-9.
- Jacobson, E. R., T. J. Wronski, J. Schumacher, C. Reggiardo, et K. H. Berry. 1994. « Cutaneous dyskeratosis in free-ranging desert tortoises, *Gopherus agassizii*, in the Colorado Desert of southern California ». *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 68–81.
- Janssen, Hans, Maarten Scheepmaker, Matthijs van Couwelaar, et Sjouk Pinkster. 1979. « Biology and distribution of *Gammarus aequicauda* and *G. insensibilis* (Crustacea,

- Amphipoda) in the lagoon system of Bages-Sigean (France) ». *Bijdragen tot de Dierkunde* 49 (1): 42–70.
- Johnson, C. A., J. W. Griffith, P. Tenorio, S. Hytrek, et C. M. Lang. 1998. « Fatal Trematodiasis in Research Turtles ». *Comparative Medicine* 48 (4): 340-43.
- Jungwirth, N., R. Bodewes, A. Osterhaus, W. Baumgärtner, et P. Wohlsein. 2014. « First report of a new alphaherpesvirus in a freshwater turtle (*Pseudemys concinna concinna*) kept in Germany ». *Veterinary Microbiology* 170 (3–4): 403-7.
- Kalvig, B. A., L. Maggio-Price, J. Tsuji, et W. E. Giddens. 1991. « Salmonellosis in laboratory-housed iguanid lizards (*sceloporus* spp.) ». *Journal of Wildlife Diseases* 27 (4): 551-56.
- Kaplan, H.-M. 1957. « Septicemic, cutaneous ulcerative disease of turtles ». In *Proc. Animal Care Panel*, 7:273–277.
- Kenton, B., L. Kruger, et M. Woo. 1971. « Two classes of slowly adapting mechanoreceptor fibres in reptile cutaneous nerve ». *The Journal of Physiology* 212 (1): 21-44.
- Klaphake, E. 2010. « A Fresh Look at Metabolic Bone Diseases in Reptiles and Amphibians ». *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice* 13 (3): 375-92.
- Köbölkuti, L. B., GÁ Czirják, D. Cadar, A. Ungvári, et Andrei Uricaru. 2008. « Septicemic / systemic cutaneous ulcerative disease (SCUD) in captive Red Eared Slider (*Trachemys scripta elegans*) – First report in Romania ». *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Veterinary Medicine* 65 (2).
- Kosik, E., M. Wójcik, S. Beeger, et I. Rozempolska-Rucinska. 2013. « Carapace anomalies of pond turtles (*Emys orbicularis*) from the Poleski National Park, from the hatch of 2008 ». *Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska. Sectio EE: Zootechnica* 31 (1).
- Lackovich, J. K., D. R. Brown, B. L. Homer, R. L. Garber, D. R. Mader, R. H. Moretti, A. D. Patterson, et al. 1999. « Association of Herpesvirus with Fibropapillomatosis of the Green Turtle *Chelonia Mydas* and the Loggerhead Turtle *Caretta Caretta* in Florida ». *Diseases of Aquatic Organisms* 37: 89-97.
- Ladyman, J., G. Kuchling, D. Burford, W. Boardman, et S. Raidal. 1998. « Skin Disease Affecting the Conservation of the Western Swamp Tortoise (*Pseudemydura Umbrina*) ». *Australian Veterinary Journal* 76 (11): 743-45.
- Lafortune, M., J. F. X. Daczm, S. P. Terrell, E. R. Jacobson, D. H. Daczm, et J. W. Daczm. 2005. « Shell and systemic hyalohyphomycosis in Fly River turtles, *Carettochelys insculpta*, caused by *Paecilomyces lilacinus* ». *Journal of Herpetological Medicine and Surgery Volume* 15 (2).
- Lahoreau, J. 2003. « A propos d'un projet de suivi sanitaire des espèces sauvages non chassables en France ». Université Claude Bernard, Lyon (69).

- Lebboroni, M., et G. Chelazzi. 1991. « Activity patterns of *Emys orbicularis* L. (Chelonia Emydidae) in central Italy ». *Ethology Ecology & Evolution* 3 (3): 257-68.
- Lenk, P., U. Fritz, U. Joger, et M. Wink. 1999. « Mitochondrial phylogeography of the European pond turtle, *Emys orbicularis* (Linnaeus 1758) ». *Molecular ecology* 8 (11): 1911-1922.
- Limpus, C. J., D. J. Limpus, et M. Hamann. 2002. « Freshwater turtle population in the area to be flooded by the Walla Weir, Burnett River, Queensland: baseline study ». *Memoirs of the Queensland Museum* 48: 155-68.
- Lindeman, P.-V. 1996. « Comparative life history of painted turtles (*Chrysemys picta*) in two habitats in the inland Pacific Northwest ». *Copeia*, 114-130.
- Loi n° 92-3 du 3 janvier 1992 sur l'eau. 1992.
- Lombardini, K., et M. Cheylan. 2003. « La Cistude dans la réserve de l' étang de Biguglia, bilan des recherches 2001-2003 ». *Réserve Naturelle de Biguglia*, 75p.
- Lovich, J. E., S. W. Gotte, C. H. Ernst, J. C. Harshbarger, A. F. Laemmerzahl, et J. W. Gibbons. 1996. « Prevalence and histopathology of shell disease in turtles from lake blackshear, georgia ». *Journal of Wildlife Diseases* 32 (2): 259-65.
- Lynn, W. G., et M. C. Ullrich. 1950. « Experimental Production of Shell Abnormalities in Turtles ». *Copeia* 1950 (4): 253-62.
- Maas, A. 2013. « Vesicular, Ulcerative, and Necrotic Dermatitis of Reptiles ». *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice* 16 (3): 737-55.
- Mabille-Bentot, K., S. 2011. « Imagerie et endoscopie chez les reptiles ». Faculté de Médecine de Créteil: Ecole Nationale Vétérinaire de Maisons-Alfort.
- Mader, D. R., et S. J. Divers. 2013. *Current Therapy in Reptile Medicine and Surgery*. Elsevier Health Sciences.
- Maderson, P. F. A., et S. I. Roth. 1972. « A Histological Study of the Early Stages of Cutaneous Wound Healing in Lizards in in Vivo and in Vitro ». *Journal of Experimental Zoology* 180 (2): 175-85.
- Marcus, L. C., K. D. Stottmeier, et R. H. Morrow. 1975. « Experimental Infection of Anole Lizards (*Anolis Carolinensis*) with Mycobacterium Ulcerans by the Subcutaneous Route ». *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 24 (4): 649-55.
- Masters, A. M., T. M. Ellis, J. M. Carson, S. S. Sutherland, et A. R. Gregory. 1995. « *Dermatophilus chelonae* sp. nov., Isolated from Chelonids in Australia ». *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 45 (1): 50-56.
- Mateo, M. R., E. D. Roberts, et F. M. Enright. 1984. « Inflammation Induced by Subcutaneous Turpentine Inoculation of Young American Alligators (*Alligator Mississippiensis*) ». *American Journal of Veterinary Research*, cité dans « Saint-Raymond Moynas, 2009 », 45 (9): 1870-75.

- Mautino, M., et C. Douglas Page. 1993. « Biology and Medicine of Turtles and Tortoises ». *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 23 (6): 1251-70.
- Mc Williams, D. A. 2005. « Nutrition Research on Calcium Homeostasis. II. Freshwater Turtles (with Recommendations) ». *International Zoo Yearbook* 39 (1): 77-85.
- McGowin, A. E., T. M. Truong, A. M. Corbett, D. A. Bagley, L. M. Ehrhart, M. J. Bresette, S. T. Weege, et D. Clark. 2011. « Genetic Barcoding of Marine Leeches (*Ozobranchus* Spp.) from Florida Sea Turtles and Their Divergence in Host Specificity ». *Molecular Ecology Resources* 11 (2): 271-78.
- Mehler, S. J., et R. A. Bennett. 2003. « Oral, Dental, and Beak Disorders of Reptiles ». *Veterinary Clinics: Exotic Animal Practice* 6 (3): 477-503.
- Menesguen, A., A. Aminot, C. Belin, A. Chapelle, J.-F. Guillaud, M. Joanny, A. Lefebvre, M. Merceron, J.-Y. Piriou, et P. Souchu. 2001. « L'eutrophisation des eaux marines et saumâtres en Europe, en particulier en France », février.
- Meyer, A., N. fernandez, C. Grac, F. Labat, I. Combroux, J.-Y. Georges, S. Cybill, J.-N. Beisel, S. KERN, et F. LEVRESSE. 2015. *Colonisation par les macro-invertébrés de milieux lenticules nouvellement restaurés en Plaine d'Alsace*. cité dans « Thienpont, 2011 ». Eurométropole de Strasbourg, Université de Strasbourg, Laboratoire Image Ville Environnement.
- Mignet, F. 2010. « Bilan des résultats du suivi radio-téléométrique de la Cistude d'Europe *Emys orbicularis* Linné, 1758 (Testudinae, Emydidae) dans la Réserve naturelle nationale de l'Estagnol (Hérault, France) ». *Juvignac* (39).
- Mignet, F., T. Gendre, D. Reudet, F. Malgoire, M. Cheylan, et A. Besnard. 2014. « Short-Term Evaluation of the Success of a Reintroduction Program of the European Pond Turtle: The Contribution of Space-Use Modeling ». *Chelonian Conservation and Biology* 13 (1): 72-80.
- Ministère de l'Ecologie, de l'Energie, du Développement durable et de la Mer. 2009. « Les zones humides : un enjeu national - Bilan de 15 ans de politiques publiques ». Direction de l'Eau et de la Biodiversité ; Groupe National pour les Zones Humides.
- Mitrus, S. 2006. « Fidelity to nesting area of the European pond turtle, *Emys orbicularis* (Linnaeus, 1758) ». *Belgian journal of zoology* 136 (1): 25.
- Mitrus, S., et M. Zemanek. 2000. « Distribution and biology of *Emys orbicularis* (L.) in Poland ».
- . 2003. « European Pond Tortoise, *Emys Orbicularis*, Neonates Overwintering in the Nest ». *Herpetological Journal* 13 (4): 195-98.
- Norton, T. M. 2005. « Chelonian Emergency and Critical Care ». *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine*, Emergency and Critical Care, 14 (2): 106-30.
- Norton, T. M., E. R. Jacobson, et J. P. Sundberg. 1990. « Cutaneous Fibropapillomas and Renal Myxofibroma in a Green Turtle, *Chelonia Mydas* ». *Journal of Wildlife Diseases* 26 (2): 265-70.

- Nowakiewicz, A., G. Ziółkowska, P. Zięba, B. M. Dziedzic, S. Gnat, M. Wójcik, R. Dziedzic, et A. Kostruba. 2015. « Aerobic Bacterial Microbiota Isolated from the Cloaca of the European Pond Turtle (*Emys Orbicularis*) in Poland ». *Journal of Wildlife Diseases* 51 (1): 255-59.
- Olivier, A. 2002. « Ecologie, traits d'histoire de vie et conservation d'une population de cistude d'Europe *Emys orbicularis* en Camargue ». *Diplôme de l' Ecole Pratique des Hautes Etudes*, 165.
- Olivier, A., C. Koenig, M. Suet, S. Ficheux, et S. Fayolle-Sanna. 2014. « La Cistude d'Europe, un support de biodiversité algale ? » In . Caen.
- Olivier, A., A. Pichard, M. Filleux, A. Arnaud, P. Contournet, L. Willm, N. Ortola, et M. Gauthier-Clerc. 2008. « Inventaires écologiques concernant des espèces de vertébrés de l'annexe 2 de la Directive « Habitats » liés à l'élaboration du DOCOB NATURA 2000 de la SIC FR 9301592 « Camargue » Amphibiens, reptiles et mammifères ». *Rapport Centre de recherche pour la conservation des zones humides méditerranéennes, Tour du Valat*.
- Orós, J., J. L. Rodríguez, S. Déniz, L. Fernández, et A. Fernández. 1998. « Cutaneous Poxvirus-like Infection in a Captive Hermann's Tortoise (*Testudo Hermannii*) ». *Veterinary Record* 143 (18): 508-9.
- Orós, J., A. Torrent, P. Calabuig, et S. Déniz. 2005. « Diseases and causes of mortality among sea turtles stranded in the Canary Islands, Spain (1998–2001) ». *Diseases of aquatic organisms* 63 (1): 13–24.
- Oros, J., S. Tucker, L. Fernandez, et E. R. Jacobson. 2004. « Metastatic squamous cell carcinoma in two loggerhead sea turtles *Caretta caretta* ». *Diseases of aquatic organisms* 58 (2-3): 245–250.
- Ossiboff, R. J., B. L. Raphael, A. D. Ammazzalorso, T. A. Seimon, A. L. Newton, T. Y. Chang, B. Zarate, A. L. Whitlock, et D. McAloose. 2015. « Three Novel Herpesviruses of Endangered *Clemmys* and *Glyptemys* Turtles ». *PLOS ONE* 10 (4): e0122901.
- Ottonello, D., E. Rosecchi, et S. Salvidio. 2005. « Feeding Habits of the European Pond Terrapin *Emys Orbicularis* in Camargue (Rhône Delta, Southern France) ». *Amphibia-Reptilia* 26 (4): 562-65.
- Owen-Jones, Z. 2011. « Plan Régional d'Actions pour la Cistude d'Europe en Région Centre (2011 - 2015) ». DREAL Centre.
- Par, J. A., L. Sigler, D. B. Hunter, et K. L. Machin. 1997. « Cutaneous mycoses in chameleons caused by the chrysosporium anamorph of *nannizziopsis vriesii* (apinis) currah ». *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 28 (4): 443–453.
- Parc Animalier de Sainte-Croix. s. d. Site internet. <http://parcsaintcroix.com/fr/bienvenue-au-parc/>.

- Paterson, W. B., et S. S. Desser. 1976. « Observations on Haemogregarina Balli Sp. N. from the Common Snapping Turtle, *Chelydra Serpentina** ». *The Journal of Protozoology* 23 (2): 294-301.
- Peyraud, J.-L., A. Peeters, et A. De Vliegheer. 2012. « Place et atouts des prairies permanentes en France et en Europe ». *Fourrages* 2012, n° 211: 195–204.
- Pieau, C., et M. Dorizzi. 2004. « Oestrogens and Temperature-Dependent Sex Determination in Reptiles: All Is in the Gonads ». *Journal of Endocrinology* 181 (3): 367-77.
- Pieper, M. B. 1953. « The Life History and Germ Cell Cycle of *Spirorchis artericola* (Ward, 1921) ». *The Journal of Parasitology* 39 (3): 310-25.
- Priol, P. 2002. « Étude de l'activité et des patrons de déplacements chez deux populations de cistude (*Emys orbicularis*) du nord-Isère en vue de leur conservation. » Diplôme de Maîtrise. Rennes.
- . 2009. « Guide technique pour la conservation de la Cistude d'Europe en Aquitaine ». Association Cistude Nature.
- Priol, P., C. Coïc, et J. Servan. 2008. « Répartition de la Cistude d'Europe (*Emys orbicularis*) en Aquitaine ». *Bull. Soc. Herp. Fr* 127: 23–24.
- Quesada, R. 2004. « Les dessous noirs de l'Amour blanc ». *Le Courrier de l'environnement de l'INRA* 51 (51): 61-63.
- Raemy, M., U. Fritz, M. Cheylan, et S. Ursenbacher. 2016. « Hybridisation between Turtle Subspecies: A Case Study with the European Pond Turtle (*Emys Orbicularis*) ». *Conservation Genetics*, octobre.
- Ramsar Convention Secretariat. 2013. *The Ramsar Convention manual: a guide to the Convention on Wetlands (Ramsar, Iran, 1971), 6th ed.* Gland, Switzerland.
- Rebell, G., A. Rywlin, et H. Haines. 1975. « A Herpesvirus-Type Agent Associated with Skin Lesions of Green Sea Turtles in Aquaculture ». *American Journal of Veterinary Research*, cité dans « Saint-Raymond Moynas, 2009 », 36 (8): 1221-24.
- Rhodin, A. G., et M. R. Anver. 1977. « Myobacteriosis in Turtles: Cutaneous and Hepatosplenic Involvement in a *Phrynos Hilari* ». *Journal of Wildlife Diseases* 13 (2): 180-83.
- Richer-Bond, M., G. Gallerand, J. Dion, et A. René. 2015. « Inventaire des plantes aquatiques ».
- Rival, F. 2001. « Conduite à tenir - Chirurgie des abcès chez les reptiles ». *Le Point vétérinaire: revue d'enseignement post-universitaire et de formation permanente*, cité dans « Saint-Raymond Moynas, 2009 », 32 (213): 44-46.

- Rodenbusch, C. R., F. S. Marks, C. W. Canal, et J. Reck. 2012. « Marine Leech *Ozobranchus Margo* Parasitizing Loggerhead Turtle (*Caretta Caretta*) in Rio Grande Do Sul, Brazil ». *Revista Brasileira De Parasitologia Veterinaria = Brazilian Journal of Veterinary Parasitology: Orgao Oficial Do Colegio Brasileiro De Parasitologia Veterinaria* 21 (3): 301-3.
- Rodríguez, C. F., E. Bécares, M. Fernández-aláez, et C. Fernández-aláez. 2005. « Loss of Diversity and Degradation of Wetlands as a Result of Introducing Exotic Crayfish ». *Biological Invasions* 7 (1): 75-85.
- Rose, F. L., J. Koke, R. Koehn, et D. Smith. 2001. « Identification of the Etiological Agent for Necrotizing Scute Disease in the Texas Tortoise ». *Journal of Wildlife Diseases* 37 (2): 223-28.
- Roskopf, W. J., et M. K. Shindo. 2003. « Syndromes and conditions of commonly kept tortoise and turtle species ». *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine, Species Syndromes*, 12 (3): 149-61.
- Rosler, M. 2000. « The ecology and reproduction of an *Emys orbicularis* population in Austria ». *Chelonii*, cité dans « Thienpont, 2011 », 2: 69–72.
- Rovero, F., et G. Chelazzi. 1996. « Nesting Migrations in a Population of the European Pond Turtle *Emys Orbicularis* (L.) (Chelonia Emydidae) from Central Italy ». *Ethology Ecology & Evolution* 8 (3): 297-304.
- Ryerson, D. L. 1943. « Separation of the Two Acidophilic Granulocytes of Turtle Blood, with Suggested Phylogenetic Relationships ». *The Anatomical Record* 85 (1): 25-49.
- Saint-Raymond Moynat, D. 2009. « Les affections cutanées des reptiles ». Thèse pour l'obtention du doctorat vétérinaire, Faculté de Médecine de Créteil: Ecole Nationale Vétérinaire de Maisons-Alfort.
- Sakaguchi, K., H. Iima, K. Hirayama, M. Okamoto, K. Matsuda, T. Miyasho, M. Kasamatsu, K. Hasegawa, et H. Taniyama. 2011. « Mycobacterium ulcerans Infection in an Indian Flap-Shelled Turtle (*Lissemys punctata punctata*) ». *Journal of Veterinary Medical Science* 73 (9): 1217-20.
- Santoro, M., G. Hernández, M. Caballero, et F. García. 2006. « Aerobic bacterial flora of nesting green turtles (*Chelonia mydas*) from Tortuguero National Park, Costa Rica ». *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 37 (4): 549–552.
- Scheelings, T. F., R. Tesdorpf, C. Hooper, et K. Stalder. 2012. « *Chromobacterium violaceum* Isolation from a Macquarie Turtle (*Emydura macquarii*) ». *Journal of Herpetological Medicine and Surgery* 22 (1-2): 22-24.
- Scheyer, T. M., P. Martin Sander, W. G. Joyce, W. Böhme, et U. Witzel. 2007. « A plywood structure in the shell of fossil and living soft-shelled turtles (Trionychidae) and its evolutionary implications ». *Organisms Diversity & Evolution* 7 (2): 136-44.
- Schilliger, L. 1990. « Les affections parasitaires chez les reptiles : étude bibliographique et expérimentale ; applications prophylactiques et thérapeutiques en terrariophilie ». Cité dans Saint-Raymond Moynat, 2009.

- . 2000. « Alimentation des reptiles et dominantes pathologiques d'origine nutritionnelle ». *Revue de Médecine Vétérinaire* 151 (12): 1107–1118.
- Schneeweiss, N., B. Andreas, et N. Jendretzke. 1998. « Reproductive ecology data of the European pond turtle (*Emys o. orbicularis*) in Brandenburg, Northeast Germany ». *Proceedings of the EMYS Symposium Dresden*, cité dans « Thienpont, 2011 », 96: 227–234.
- Servan, J. 1988. « La cistude d'Europe, *Emys orbicularis*, dans les étangs de Brenne, France ». *Mésogée* 48: 91–95.
- Servan, J., J.-P. Baron, V. Bels, R. Bour, M. Lançon, et G. Renon. 1986. « Le marquage des tortues d'eau douce: application à la Cistude d'Europe. *Emys orbicularis* (Reptilia, Chelonii) ». *Bulletin de la Société herpétologique de France*, cité dans « Thienpont, 2011 », , n° 37: 9-17.
- Servan, J., P. Zaborski, M. Dorizzi, et C. Pieau. 1989. « Female-biased sex ratio in adults of the turtle *Emys orbicularis* at the northern limit of its distribution in France: a probable consequence of interaction of temperature with genotypic sex determination ». *Canadian Journal of Zoology* 67 (5): 1279-84.
- Siddall, M. E., R. B. Budinoff, et E. Borda. 2005. « Phylogenetic Evaluation of Systematics and Biogeography of the Leech Family Glossiphoniidae ». *Invertebrate Systematics* 19 (2): 105.
- Siddall, M. E., et S. S. Desser. 1991. « Merogonic development of *Haemogregarina balli* (Apicomplexa: Adeleina: Haemogregarinidae) in the leech *Placobdella ornata* (Glossiphoniidae), its transmission to a chelonian intermediate host and phylogenetic implications ». *The Journal of parasitology*, 426–436.
- Siddall, M. E., et E. S. Gaffney. 2004. « Observations on the Leech *Placobdella ornata* Feeding From Bony Tissues of Turtles ». *Journal of Parasitology* 90 (5): 1186-88.
- Sillero, N., J. Campos, A. Bonardi, C. Corti, R. Creemers, P.-A. Crochet, J. C. Isailović, et al. 2014. « Updated distribution and biogeography of amphibians and reptiles of Europe ». *Amphibia-Reptilia* 35 (1): 1-31.
- « Site internet de Conservation Nature ». 2016. Site internet. <http://www.conservation-nature.fr/>.
- Slavens, F., et K. Slavens. 2016. « Western Pond Turtle Shell Disease in Washington ». Washington Department of Fish and Wildlife.
- Smith, D.-A., et I.-K. Barker. 1988. « Healing of Cutaneous Wounds in the Common Garter Snake (*Thamnophis sirtalis*) ». *Can J Vet Res* 52: 111–119.
- Soslau, G., J. A. Russell, J. R. Spotila, A. J. Mathew, et P. Bagsiyao. 2011. « *Acinetobacter* Sp. HM746599 Isolated from Leatherback Turtle Blood: *Acinetobacter* Isolated from Turtle Blood ». *FEMS Microbiology Letters* 322 (2): 166-71.
- Soule, M. E. 1979. « Heterozygosity and Developmental Stability: Another Look ». *Evolution* 33 (1): 396.

- Soylu, E. N., A. Gönülol, A. Sukatar, D. Ayaz, et C. V. Tok. 2006. « Epizoic Freshwater Algae on *Emys Orbicularis* (Testudinata: Emydidae) from the Central Anatolia Region of Turkey ». *Journal of Freshwater Ecology* 21 (3): 535-38.
- Stahl, S. J. 1998. « Common Medical Problems of Old World Chameleons ». *Proceedings of the North American Veterinary Conference*, 814-17.
- Stancel, C. F., E. S. Dierenfeld, et P. A. Schoknecht. 1998. « Calcium and Phosphorus Supplementation Decreases Growth, but Does Not Induce Pyramiding, in Young Red-Eared Sliders, *Trachemys Scripta Elegans* ». *Zoo Biology* 17 (1): 17-24.
- Stunkard, H. W. 1923. « Studies on North American blood flukes ». *Bull Am Mus Nat Hist* 48: 165–247.
- Swimmer, J. Y. 2000. « Biochemical Responses to Fibropapilloma and Captivity in the Green Turtle ». *Journal of Wildlife Diseases* 36 (1): 102-10. doi:10.7589/0090-3558-36.1.102.
- Sykes, J. M., et J. G. Trupkiewicz. 2006. « Reptile neoplasia at the philadelphia zoological garden, 1901–2002 ». *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 37 (1): 11-19.
- Telfort, S. R. Jr. 1984. « Haemoparasites of Reptiles ». In *Diseases of Amphibians and Reptiles*, édité par G. L. Hoff, F. L. Frye, et E. R. Jacobson, 385-517. Springer US.
- Thienpont, S. 2005. « Habitats et comportements de ponte et d'hivernation chez la Cistude d'Europe (*Emys orbicularis*) en Isère ». *Diplôme de l' Ecole Pratique des Hautes Etudes*, 160.
- . 2011. « Plan National d'Action en faveur de la Cistude d'Europe (2011 - 2015) ». Ministère de l'Ecologie, de l'Energie, du Développement durable et de la Mer.
- Thoen, C. O., W. D. Richards, et J. L. Jarnagin. 1977. « Mycobacteria Isolated from Exotic Animals ». *Journal of the American Veterinary Medical Association*, cité dans « Saint-Raymond Moynas, 2009 », 170 (9): 987-90.
- Toma, B., J.-J. Bénét, B. Dufour, M. Eloit, F. Moutou, et M. Sanaa. 1991. *Glossaire d'épidémiologie animale*.
- Tour du Vallat. 2016. « Tour du Valat : Rapport d'activités 2015 ». Arles (13).
- Tucker, A. D., W. R. Kelly, C. J. Limpus, T. E. Priest, et F. Guarino. 2002. « Prevalence of Ulcerative Disease in Free-Ranging Krefft's Turtle ». *Memoirs of the Queensland Museum* 48 (1): 233-37.
- UICN. 2012. « Catégories et Critères de la Liste rouge de l'UICN : Version 3.1. Deuxième édition ». Gland, Suisse, et Cambridge, Royaume-Uni. Originellement publié en tant que IUCN Red List Categories and Criteria: Version 3.1. Second edition. (Gland, Switzerland and Cambridge, UK: IUCN, 2012).
- UICN France, MNHN, et SHF. 2015. « La Liste rouge des espèces menacées en France - Chapitre Reptiles et Amphibiens de France métropolitaine. » Paris, France.

- Van Ingen, L. 2014. « La Cistude d'Europe - Plan d'Action 2012- 2016 en région Centre - Bilan de l'année 2014 ». Réserve Naturelle de Chérine.
- Van Ingen, L., J. Trotignon, V. Lagny, C. Therville, E. Trotignon, et J. Vèque. 2013. « Réserve Naturelle de Chérine : Plan de gestion (2013-2017) - Section A : Diagnostic et enjeux ». Saint-Michel-en-Brenne (36).
- Velo-Antón, G., C. G. Becker, et A. Cordero-Rivera. 2011. « Turtle Carapace Anomalies: The Roles of Genetic Diversity and Environment ». *PLOS ONE* 6 (4): 11.
- Véron, F., et J.-L. Marandon. 2011. « Plan Régional d'Actions pour la Cistude d'Europe en Auvergne (2011 - 2015) ». DREAL Auvergne ; CEN Allier.
- Volonterio, O. 2010. « Two New Species of Temnocephala (Platyhelminthes, Temnocephalida) from the South American Snake-Necked Turtle *Hydromedusa tectifera* (Testudines, Chelidae) ». *Zoological Science* 27 (12): 965-70.
- Wallach, J. D. 1971. « Environmental and Nutritional Diseases of Captive Reptiles ». *Journal of the American Veterinary Medical Association*, cité dans « Saint-Raymond Moynas, 2009 », 159 (11): 1632-43.
- . 1975. « The pathogenesis and etiology of ulcerative shell disease in turtles ». *Journal of Zoo Animal Medicine* 6 (11).
- Wallach, J.-D. 1975. « The pathogenesis and etiology of ulcerative shell disease in turtles ». *Journal of Zoo Animal Medicine* 6 (11).
- . 1977. « Ulcerative Shell Disease in Turtles: Identification, Prophylaxis and Treatment ». *International Zoo Yearbook* 17 (1): 170-71.
- Warwick, C., F. L. Frye, et J. B. Murphy. 2001. *Health and Welfare of Captive Reptiles*. Springer Science & Business Media.
- Wolke, R. E., D. R. Brooks, et A. George. 1982. « Spirorchidiasis in loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*): pathology ». *Journal of Wildlife Diseases* 18 (2): 175-85.
- Work, T. M., G. H. Balazs, R. A. Rameyer, et R. A. Morris. 2004. « Retrospective Pathology Survey of Green Turtles *Chelonia Mydas* with Fibropapillomatosis in the Hawaiian Islands, 1993--2003 ». *Diseases of Aquatic Organisms* 62 (1-2): 163-76.
- Zaborski, P., M. Dorizzi, et C. Pieau. 1982. « H-Y Antigen Expression in Temperature Sex-Reversed Turtles (*Emys orbicularis*) ». *Differentiation* 22 (1-3): 73–78.
- Zuffi, M. A. L. 2000. « Conservation biology of the European pond turtle *Emys orbicularis* (L.) in Italy ». *Stapfia* 69: 219–228.
- Zuffi, M. A. L., F. Odetti, et P. Meozzi. 1999. « Body Size and Clutch Size in the European Pond Turtle (*Emys Orbicularis*) from Central Italy ». *Journal of Zoology* 247 (2): 139-43.

ANNEXES

ANNEXE I : QUESTIONNAIRE EN LIGNE

Un questionnaire préliminaire a été conçu en ligne sur le site www.surveymonkey.fr, puis envoyé à nos potentiels partenaires soit par une diffusion directe par mail à des structures naturalistes, soit via la liste de diffusion de l'AFVPZ.

Ce questionnaire préliminaire avait pour but de trier les structures intéressées par notre étude en différentes catégories :

- Structure n'hébergeant pas de cistudes d'Europe mais tout de même intéressées par notre étude ;
- Structure hébergeant des cistudes d'Europe ne présentant pas de lésion caractéristique du SUC, mais tout de même intéressées par notre étude ;
- Structure possédant des cistudes d'Europe présentant des lésions caractéristiques du SUC, intéressée pour participer soit à l'étude épidémiologique, soit à l'étude étiologique, soit les deux.

Voici la liste des questions qui leur ont été posées :

- 1) Hébergez-vous des cistudes d'Europe dans votre structure ?
- 2) Si oui, combien d'individus compte votre structure ?
- 3) Si vous hébergez des cistudes d'Europe, certaines d'entre elles présentent-elles des lésions caractéristiques du SUC ? (une photographie de lésion caractéristique était jointe)
- 4) Si c'est le cas, accepteriez-vous de remplir un tableau afin de caractériser l'épidémiologie du SUC ?
- 5) Si vous hébergez des tortues touchées, accepteriez-vous de réaliser des analyses sur leurs lésions ?
- 6) Si oui, avez-vous les moyens de débloquent une aide financière pour la réalisation de ces prélèvements ?

7) Dans tous les cas, voulez-vous être informé des résultats de cette étude et/ou apporter des conseils pour la mener à bien ?

Ce sondage a permis de collecter 21 réponses, parmi lesquelles

- 13 structures n'hébergeant pas de cistude d'Europe
- 5 structures hébergeant des cistudes d'Europe saines
- 3 structures hébergeant des cistudes d'Europe présentant des lésions caractéristiques du SUC et ayant participé à l'étude épidémiologique (Centre d'Elevage A Cupulatta, Parc Zoologique de Sainte-Croix et Domaine de la Tour du Valat).

Les cinq structures possédant des cistudes d'Europe saines regroupent 676 tortues qui ont été comptabilisées pour déterminer la prévalence globale du SUC en France.

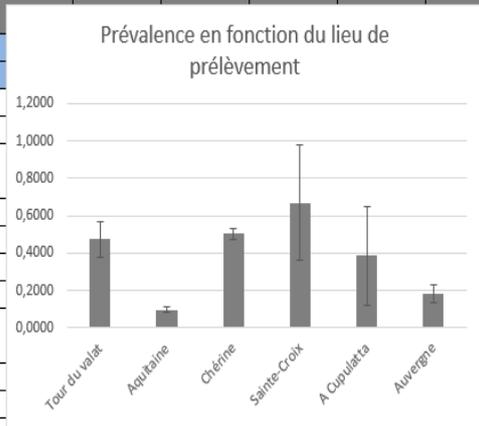
ANNEXE II : TESTS BIOSTATISTIQUES UTILISES

A. Test du khi-deux

Le test du Khi-deux est un test d'indépendance de variables. Il sert à déterminer si un facteur a un impact sur une variable (par exemple, le lieu de prélèvement influe-t-il sur la prévalence du SUC ?).

Voici le tableau utilisé sous Microsoft Excel[®] pour effectuer un test du khi-deux :

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N
1	Observations	Tour du valat	Aquitaine	Chérine	Sainte-Croix	A Cupulatta	Auvergne							
2	Touchées	51	151	503	6	5	49							
3	Saines	57	1407	499	3	8	221							
4	Total	108	1558	1002	9	13	270							
5														
6	Théorique	Tour du valat	Aquitaine	Chérine	Sainte-Croix	A Cupulatta	Auvergne							
7	Touchées	27,9121622	402,658784	258,962838	2,32601351	3,3597973	69,7804054							0
8	Saines	80,0878378	1155,34122	743,037162	6,67398649	9,6402027	200,219595							
9	Total	108	1558	1002	9	13	270							
10														
11	Différence	Tour du valat	Aquitaine	Chérine	Sainte-Croix	A Cupulatta	Auvergne							
12	Touchées	19,0973473	157,284892	229,971748	5,8031377	0,80072239	6,18834537							0
13	Saines	6,65579532	54,8168304	80,149607	2,02250585	0,27906726	2,15675818							
14	Total	25,7531427	212,101723	310,121355	7,82564355	1,07978964	8,34510355							
15														
16	p-value	6,577E-120	p-value < 0,05, il existe une différence significative					CONCLUSION						
17								Différence significative						
18	MODE D'EMPLOI :				Test du Khi-deux									
19	- Entrer les matrices et leur nom													
20	- Entrer le degrés de liberté (dl) du test dans la case													
21	(dl = nombre de matrices - 1)													
22														
23	Lieu	Tour du valat	Aquitaine	Chérine	Sainte-Croix	A Cupulatta	Auvergne							
24	Taux	0,4722	0,0969	0,5020	0,6667	0,3846	0,1815							
25	IC	0,0942	0,0147	0,0310	0,3080	0,2645	0,0460							
26														
27														
28														
29														
30														



Ce test compare la valeur observée (tableau « observations ») à une valeur théorique calculée si les variables étaient strictement indépendantes (tableau « Théorique »). La différence (tableau « Différence ») entre les valeurs théorique et calculée suit une loi normale.

On pose comme hypothèse : $H_0 =$ « le facteur n'a pas d'impact sur la variable étudiée ». La *p-value* calculée correspond à la valeur de la probabilité de survenue de H_0 .

La formule de la *p-value* dans le tableur est entrée comme suit :

B16 ← « =LOI.KHIDEUX.DROITE(SOMME(B14:G14);NB(2:2)-1) »

Le deuxième paramètre de cette formule (NB(2 :2)-1) désigne le degré de liberté du test. Ce degré de liberté correspond au nombre de niveaux de la variable moins un (dans notre cas, le nombre de lieux moins un, soit cinq).

B. Test de Fischer / Student / Aspin-Welch : comparaison de deux moyennes

Les tests de Student et d'Aspin-Welch servent à comparer deux moyennes.

Le test de Student nécessite trois conditions :

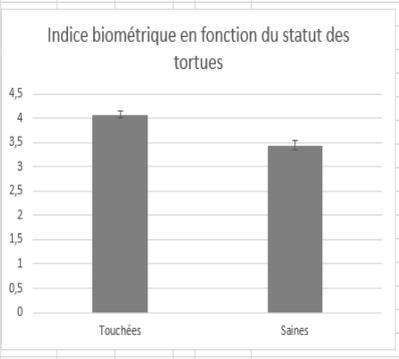
- L'indépendance des variables entre elles ;
- La normalité des variables ;
- L'égalité des variances entre les deux variables.

Les deux premières conditions sont quasiment toujours supposées. Cependant, la troisième doit être vérifiée par un test de Fischer (test d'égalité des variances). Notre hypothèse de départ est : $H_0 =$ « les variances sont égales ». La *p-value* correspond à la probabilité de rejeter H_0 à tort. Si la valeur de la *p-value* est supérieure à 0,05, on accepte H_0 (les variances sont égales) et on utilise le test de Student ; sinon, on utilise le test d'Aspin-Welch.

On pose notre hypothèse de départ : $H_0 =$ « les moyennes sont égales ». Les tests de Student et d'Aspin-Welch déterminent alors la probabilité que la différence entre les deux moyennes (qui suit une loi normale) soit induite par une simple variabilité expérimentale. Si c'est le cas, la valeur de la *p-value* est supérieure à 0,05, et on considère qu'il n'y a pas de différence entre les moyennes. Si elle est inférieure à 0,05, il existe une différence significative entre les moyennes.

Voici le tableau utilisé sous Microsoft Excel[®] pour effectuer une comparaison de moyennes :

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
1	Touchées	Saines		Touchées	Saines		p-value F		8,81568E-14	Si p-value > 0,05, alors les variances sont égales : on peut utiliser le test de student (2). Sinon on utilise Aspin-Welch (3)
2	1,446281	0,138889		Moyenne	4,079709	3,437551				
3	1,57097	0,144144		ET	0,915135	1,250869		p-value T	4,24126E-24	Si p-value < 0,05, alors la différence est significative
4	1,641441	0,147826		Variance	0,837472	1,564674				
5	2,081526	0,151786		N	524	694				
6	2,3766	0,153846		IC	0,079956	0,094965				
7	2,713488	0,155738								Conditions :
8	2,880355	0,156863								- Les deux variables suivent une loi normale ==> vérifié
9	2,882206	0,158333								- Indépendance des deux variables ==> vérifié
10	2,929635	0,160338								- Les variances sont identiques (vérifié si p-value F > 0,05) ==> non vérifié
11	2,943455	0,163636								On utilise le test de Fischer pour déterminer si les deux variances sont égales (H0 : égalité des variances)
12	2,962042	0,165939								Si elles sont égales, on utilise le test de Student pour savoir si les deux moyennes sont différentes (H0 : égalité des moyennes)
13	3,034483	0,166667								Sinon, on utilise le test d'Aspin-Welch (H0 : égalité des moyennes)
14	3,074671	0,167401								
15	3,09944	0,168582								
16	3,108108	0,171674								
17	3,135268	0,176245								
18	3,195051	0,177419								
19	3,214804	0,179688								
20	3,223594	0,179688								
21	3,333333	0,181102								
22	3,342274	0,184615								
23	3,343284	0,185185								
24	3,351531	0,186567								
25	3,374432	0,190141								
26	3,380282	0,191571								
27	3,388704	0,192308								
28	3,404844	0,192593								
29	3,412969	0,19305								
30	3,426667	0,195313								
31	3,450479	0,195489								
32	3,459223	0,195652								
33	3,468354	0,20155								



Conditions :

- Les deux variables suivent une loi normale ==> vérifié
- Indépendance des deux variables ==> vérifié
- Les variances sont identiques (vérifié si p-value F > 0,05) ==> non vérifié

On utilise le test de Fischer pour déterminer si les deux variances sont égales (H0 : égalité des variances)
 Si elles sont égales, on utilise le test de Student pour savoir si les deux moyennes sont différentes (H0 : égalité des moyennes)
 Sinon, on utilise le test d'Aspin-Welch (H0 : égalité des moyennes)

CONCLUSION
 Différence significative

MODE D'EMPLOI :

- Entrer les deux matrices
- Calculer les moyennes et les écarts-types
- Mettre "=" devant les deux test et remplir leurs paramètres avec les matrices
- Entrer la conclusion

La *p-value* du test de Fischer dans la cellule I1 est entrée comme suit :

I1 ← « =TEST.F(A2:A1000;B2:B1000) ».

Du résultat de cette cellule dépend le test utilisé pour calculer la *p-value* finale en I3. Nous avons donc utilisé un test « SI » dans la cellule I3, entré comme suit :

I3 ← « =SI(I1<0,05;T.TEST(A2:A1000;B2:B1000;2;3);T.TEST(A2:A1000;B2:B1000;2;2)) »

Le troisième paramètre du « T.TEST » correspond au résultat du test de Fischer : s'il y a égalité des variances (variances homoscédastiques), il vaut « 2 », sinon (variances hétéroscédastiques) il vaut « 3 ».

C. Analyse de variance (ANOVA)

L'analyse de variance, ou ANOVA, permet de comparer plus de deux moyennes à la fois. Ici, nous avons réalisé des ANOVA à un facteur de variabilité : nous avons étudié l'impact d'un seul facteur à la fois (lieu de capture, année de capture ...) sur une variable (en générale, il s'agissait dans notre cas de la gravité du SUC).

Notre hypothèse nulle est : $H_0 =$ « toutes les moyennes sont égales ». La *p-value* est la probabilité de rejeter H_0 à tort. Donc si *p-value* est plus faible que 0,05, il existe une différence significative entre au moins deux moyennes. Le test ne nous indique pas lesquelles : cette analyse est effectuée par lecture graphique.

Voici le tableau utilisé sous Microsoft Excel® pour effectuer une ANOVA :

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
1	A Cupulatta	Auvergne	Chérine	Sainte-Croix	Tour du Valat								
2	2	1	1	2	1								
3	3	1	1	9	1								
4	3	1	1	11	1								
5	4	1	1	20	1								
6	10	1	1	26	1								
7		1	1	30	1								
8		1	1		1								
9		1	1		1								
10		1	1		1								
11		1	1		1								
12		1	1		1								
13		1	1		1								
14		1	1		2								
15		1	1		2								
16		1	1		2								
17		2	1		2								
18		2	1		2								
19		2	1		2								
20		2	1		2								
21		2	1		2								
22		2	1		2								
23		2	1		2								
24		2	1		2								
25		2	1		3								
26		2	1		3								
27		2	1		3								
28		2	1		3								
29		2	1		3								
30		2	1		3								
31		2	1		3								
32		2	1		4								

Gravité moyenne des lésions en fonction du lieu de capture des tortues touchées
A Cupulatta
Auvergne
Chérine
Sainte-Croix
Tour du Valat

RAPPORT DÉTAILLÉ						
Groupes	Nombre d'échantillons	Somme	Moyenne	Variance	Ecart-type	IC
A Cupulatta	5	22	4,4	10,3	3,209361307	2,870540019
Auvergne	49	202	4,12244898	67,98469388	8,245283129	2,35579518
Chérine	503	3514	6,986083499	45,71096132	6,760988191	0,602915127
Sainte-Croix	6	98	16,33333333	116,2666667	10,7827022	8,804039477
Tour du Valat	51	185	3,62745098	7,958431373	2,82106919	0,7900574

ANALYSE DE VARIANCE						
Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Entre Groupes	1417,411409	4	354,3528523	7,924933951	3,13008E-06	2,386563906
A l'intérieur des groupes	27230,62279	609	44,71366633			
Total	28648,0342	613				

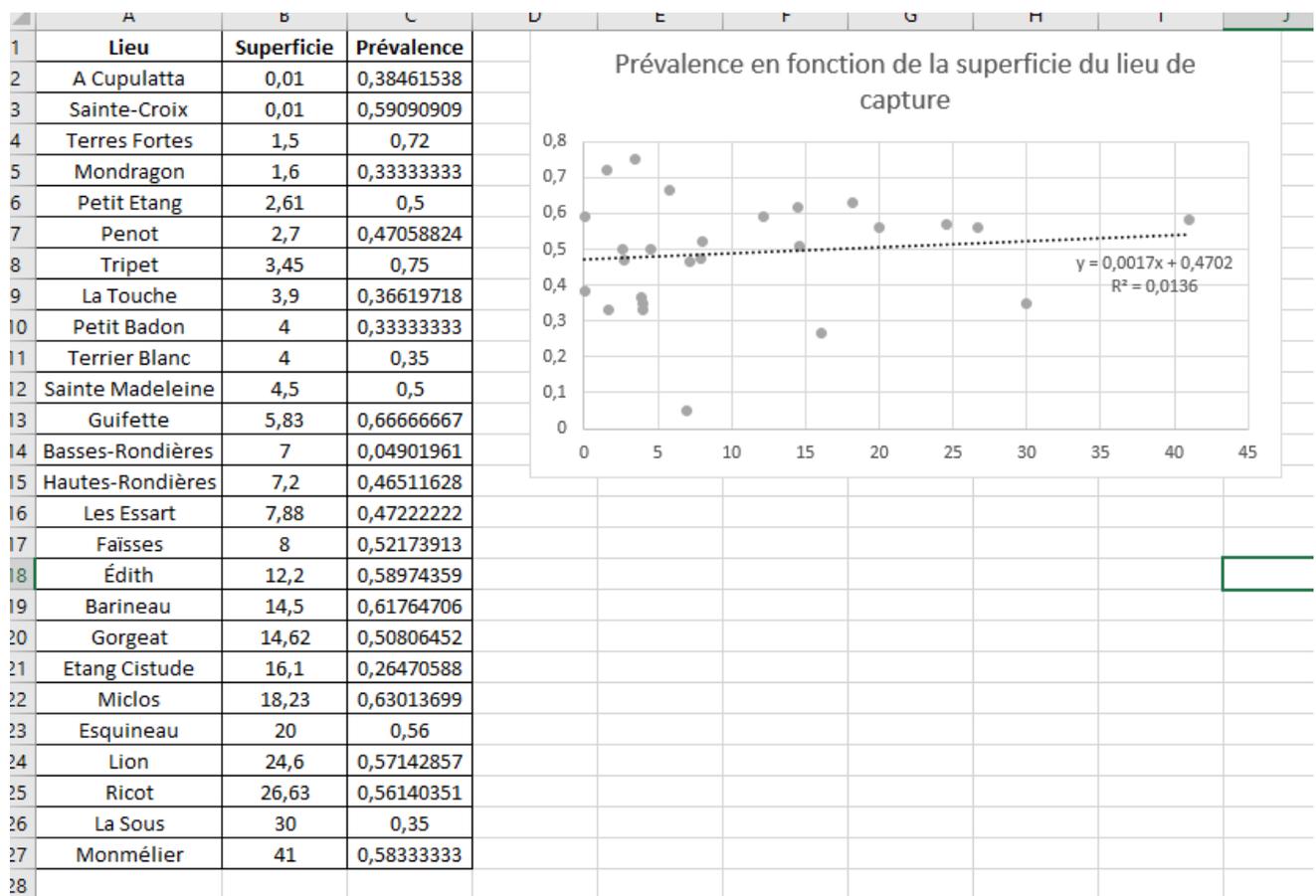
L'ANOVA est effectuée grâce à l'utilitaire d'analyse inclus dans le logiciel Microsoft Excel®. La *p-value* est donnée par le cellule L26. Le tableau en bleu regroupe les données (correspondant dans ce cas aux TSDS des tortues touchées dans chaque lieu étudié).

D. Régression linéaire

La régression linéaire permet de vérifier l'existence d'une corrélation linéaire entre deux variables continues. Par exemple, dans notre cas, nous avons voulu vérifier si la prévalence variait avec la superficie des étangs de captures.

L'analyse de la régression linéaire est effectuée à chaque fois par analyse graphique, et insertion de l'équation de la courbe de tendance et du coefficient de corrélation (r^2). Ce coefficient mesure la dispersion des valeurs autour de la courbe de tendance : plus il est élevé, plus les valeurs sont proches de la courbe de tendance, et plus la corrélation entre les deux variables est grande. Nous considérons que la corrélation est significative à partir d'un seuil de coefficient de 0,95.

Voici le tableau utilisé sous Microsoft Excel® pour effectuer une régression linéaire :



E. Intervalles de confiances

Les intervalles de confiance (IC) sont des formes graphiques utilisées pour mesure la dispersion des valeurs autour d'un pourcentage ou d'une moyenne. Ils regroupent dans notre cas 95 % des valeurs. Plus les valeurs seront dispersées, plus l'intervalle de confiance sera élevé.

La formule pour calculer leur étendu varie en fonction du type de valeur étudié :

- Quand c'est un pourcentage ou un taux, la formule est la suivante :

$$IC = 1,96 * \sqrt{t * \frac{1-t}{n}}$$

avec :

- n = population caractérisée (ex : mâles, femelles, individus sains, individus touchés) et non population totale
 - t = taux
 - 1,96 correspond à la valeur des centiles (négatif et positif) encadrant 95 % des valeurs de la variable autour de la moyenne dans une loi normale
- Quand c'est une moyenne, la formule est la suivante :

$$IC = \frac{2\sigma}{\sqrt{n}}$$

avec :

- σ = Ecart-type de la variable
- n = population caractérisée (ex : mâles, femelles, individus sains, individus touchés) et non population totale

ANNEXE III : FICHE ACTION N°2 DU PNA CISTUDE D'EUROPE

ACTION N°2	Etude des mycoses	PRIORITE 1 2 3
OBJECTIF	Acquisition de connaissances	
DOMAINE	Etude	
CALENDRIER	2010 à 2014	
CONTEXTE	<p>Sur plusieurs sites d'étude (Aquitaine, Brenne, Midi-Pyrénées), des interrogations se posent quant à l'observation d'individus présentant des pathologies non déterminées (mycoses, algues incrustantes) et invitent fortement à prévoir des études permettant de déterminer et comprendre ces pathologies afin de mieux les contrôler.</p> <p>De plus, les projets de réintroduction de l'espèce nécessitent un approvisionnement en animaux sains et pour ce faire une bonne connaissance permettant une meilleure détection de ces pathologies affectant l'espèce.</p>	
DESCRIPTION	Il apparaît nécessaire de confier à des personnes compétentes une activité de recherche sur ces pathologies (mycoses, algues incrustantes) observées chez la cistude au niveau national.	
REGIONS CONCERNEES	Principalement Centre, Aquitaine et Midi-Pyrénées, mais potentiellement toutes les régions abritant l'espèce	
INDICATEURS DE SUIVIS ET D'EVALUATION	Communications et publications scientifiques	
PILOTE DE L'ACTION	Contact avec Christophe Arvy, docteur vétérinaire à Bordeaux, spécialiste des pathologies des tortues	
PARTENAIRES POTENTIELS	Réserves naturelles, conservatoires d'espaces naturels, associations de protection de la nature	
EVALUATION FINANCIERE	Devis en cours d'élaboration	
FINANCEMENT MOBILISABLE	A définir au cours de la mise en œuvre du plan d'actions	
LIENS AVEC D'AUTRES PLANS	Aucun	
REFERENCES	Arvy C. et Fertard, B. ; 2002. Pathologie des tortues, SHF. 162p.	

Toulouse, 2017

NOM : BIOT

Prénoms : Lilian, Gilbert, Raymond

TITRE : SYNTHÈSE DES CONNAISSANCES ACTUELLES SUR LA CISTUDE D'EUROPE (*EMYS ORBICULARIS*) ET ÉTUDE D'UNE PATHOLOGIE DE SA CARAPACE.

RESUME : La cistude d'Europe (*Emys orbicularis*, Linnaeus 1758) est une tortue dulçaquicole sauvage de France métropolitaine faisant l'objet de mesures de protection définies par un Plan National d'Actions qui prévoit en particulier la mise en place d'études sur les pathologies de sa carapace. L'une de ces pathologies se présente sous la forme de pertes de substance au niveau de la carapace. Après avoir exposé une synthèse des données scientifiques sur l'espèce, nous présenterons les résultats de deux études distinctes de cette pathologie. La première, dont le but est de caractériser l'épidémiologie de cette pathologie en France, a permis de mettre en évidence le rôle important de l'environnement dans sa pathogénie. La seconde étude, ayant pour but d'identifier l'étiologie de cette pathologie, a démontré la présence d'une multitude de germes différents au niveau des lésions. L'hypothèse principale reste à ce jour une surinfection d'une lésion primaire de la carapace par des germes opportunistes.

MOTS-CLES : Cistude d'Europe (*Emys orbicularis*) – Carapace – Lésion – Perte de substance – Syndrome ulcératif de la carapace.

TITLE : CURRENT STATE-OF-THE-ART KNOWLEDGE ABOUT THE EUROPEAN POND TURTLE (*EMYS ORBICULARIS*) AND STUDY OF A DISEASE OF ITS SHELL

SUMMARY : The European Pond Turtle (*Emys orbicularis*, Linnaeus 1758) is a wild freshwater turtle native to France and protected by a *Plan National d'Action* entailing the implementation of studies on shell diseases. Among these diseases, one causes signs such as substance depletion in the shell. After a synthetic review of scientific data about this species, the results of two different studies we carried out on this pathology are presented. The first one, whose aim was to study the epidemiology of this pathology in France, highlighted the importance of environmental factors in its pathogenesis. The second one, whose aim was to identify the agent in question, demonstrated the presence of many different pathogens in the wounds. To date, the main hypothesis is superinfection of a primary lesion by opportunistic pathogens.

KEY WORDS : European Pond Turtle (*Emys orbicularis*) – Shell – Lesion – Substance depletion – Shell ulcerativ syndrome.