




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's version published in: <http://oatao.univ-toulouse.fr/> 25325

To cite this version:

Hivert, Lorette . *Avancées sur l'étude et le contrôle de la maladie tumorale faciale du Diable de Tasmanie : impacts en matière de conservation de l'espèce*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse – ENVT, 2017, 132 p.

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

AVANCEES SUR L'ETUDE ET LE CONTROLE DE LA MALADIE TUMORALE FACIALE DU DIABLE DE TASMANIE : IMPACT EN MATIERE DE CONSERVATION

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

DIPLOME D'ÉTAT

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

par

Lorette HIVERT

Née, le 06 avril 1991 à BORDEAUX (33)

Directeur de thèse : M. Guillaume LE LOC'H

JURY

PRESIDENT :
M. Christophe PASQUIER

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :
M. Guillaume LE LOC'H
Mme Séverine BOULLIER

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

Répartition des Enseignants-Chercheurs par Département.

Mise à jour : 03/11/2017

DIRECTRICE : ISABELLE CHMITELIN

| ELEVAGE ET PRODUITS/SANTÉ PUBLIQUE VÉTÉRINAIRE | SCIENCES BIOLOGIQUES ET FONCTIONNELLES | SCIENCES CLINIQUES DES ANIMAUX DE COMPAGNIE, DE SPORT ET DE LOISIRS |
|---|--|---|
| <p>Responsable : M. SANS</p> <p><u>ALIMENTATION ANIMALE :</u> M. ENJALBERT Francis, PR Mme PRIYMENKO Nathalie, MC Mme MEYNADIER Annabelle, MC</p> <p><u>EPIDEMIOLOGIE :</u> Mathilde PAUL, MC</p> <p><u>PARASITOLOGIE-ZOOLOGIE :</u> M. FRANC Michel, PR M. JACQUIET Philippe, PR M. LIENARD Emmanuel, MC Mme BOUHSIRA Emilie, MC</p> <p><u>HYGIÈNE ET INDUSTRIE DES ALIMENTS :</u> M. BRUGERE Hubert, PR M. BAILLY Jean-Denis, PR Mme BIBBAL Delphine, MC Mme COSTES Laura, AERC Mme DAVID Laure, MCC</p> <p><u>PATHOLOGIE DE LA REPRODUCTION :</u> M. BERTHELOT Xavier, PR M. BERGONIER Dominique, MC Mme CHASTANT-MAILLARD Sylvie, PR Mme HAGEN-PICARD Nicole, PR M. NOUVEL Laurent-Xavier, MC Mme MILA Hanna, MC</p> <p><u>PATHOLOGIE DES RUMINANTS :</u> M. SCHELCHER François, PR M. FOUCRAS Gilles, PR M. CORBIÈRE Fabien, MC M. MAILLARD Renaud, PR M. MEYER Gilles, PR</p> <p><u>PRODUCTION ET PATHOLOGIE AVIAIRE ET PORCINE :</u> Mme WARET-SZKUTA Agnès, MC M. JOUGLAR Jean-Yves, MC M. GUERIN Jean-Luc, PR M. LE LOCH Guillaume, MC</p> <p><u>PRODUCTIONS ANIMALES</u> <u>AMÉLIORATION GÉNÉTIQUE ÉCONOMIE :</u> M. DUCOS Alain, PR M. SANS Pierre, PR M. RABOISSON Dider, MC</p> | <p>Responsable : Mme GAYRARD</p> <p><u>ANATOMIE :</u> M. MOGICATO Giovanni, MC M. LIGNEREUX Yves, PR Mme DEVIERS Alexandra, MC</p> <p><u>ANATOMIE PATHOLOGIQUE - HISTOLOGIE :</u> M. DELVERDIER Maxence, PR Mme LETRON-RAYMOND Isabelle, PR Mme BOURGES-ABELLA Nathalie, PR Mme LACROUX Caroline, PR M. GAIDE Nicolas, AERC</p> <p><u>BIOLOGIE MOLECULAIRE :</u> Mme BOUCLAIN/WILLE-CAMUS Christelle, MC</p> <p><u>MICROBIOLOGIE - IMMUNOLOGIE - MALADIES INFECTIEUSES :</u> M. MILON Alain, PR M. BERTAGNOLI Stéphane, PR M. VOLMER Romain, MC Mme BOULLIER Séverine, MC Mme DANIELS Hélène, MC</p> <p><u>BIOSTATISTIQUES :</u> M. CONCORDET Didier, PR M. LYAZRHI Faouzi, MC</p> <p><u>PHARMACIE-TOXICOLOGIE :</u> M. PETIT Claude, PR Mme CLAUW Martine, PR M. GUERRE Philippe, PR M. JAEG Philippe, MC</p> <p><u>PHYSIOLOGIE - PHARMACOLOGIE THÉRAPEUTIQUE :</u> M. BOUSQUET-MELOU Alain, PR Mme GAYRARD-TROY Véronique, PR Mme FERRAN Aude, MC M. LEFEBVRE Hervé, PR</p> <p><u>BIOCHIMIE :</u> Mme BENNIS-BRET Lydie, MC</p> <p><u>ANGLAIS :</u> M. SEVERAC Benoît, PLPA Mme MICHAUD Françoise, PCEA</p> | <p>Responsable : Mme CADIERGUES</p> <p><u>ANESTHÉSIOLOGIE</u> M. VERWAERDE Patrick, MC</p> <p><u>CHIRURGIE :</u> M. AUTEFAGE André, PR M. ASIMUS Erik, MC M. MATHON Didier, MC Mme MEYNA UD-COLLARD Patricia, MC Mme PALIERNE Sophie, MC</p> <p><u>MÉDECINE INTERNE :</u> Mme DIQUELOU Amélie, MC M. DOSSIN Olivier, MC Mme LAVOUE Rachel, MC Mme GAILLARD-THOMAS Elodie, MCC</p> <p><u>OPHTALMOLOGIE :</u> M. DOUET Jean-Yves, MC</p> <p><u>DERMATOLOGIE :</u> Mme CADIERGUES Marie-Christine, PR</p> <p><u>MAGÉRIE MÉDICALE</u> M. CONCHOU Fabrice, MC</p> <p><u>BIOLOGIE MOLECULAIRE :</u> Mme TRUMEL Catherine, PR</p> <p><u>PATHOLOGIE DES ÉQUIDES :</u> M. CUEVAS RAMOS Gabriel, MC Mme LALLEMAND Elodie, AERC</p> |

A Monsieur le Professeur Christophe PASQUIER,

Professeur des Universités, Doyen de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques de Toulouse

Université Paul Sabatier de Toulouse

Virologie, Bactériologie

Qui nous fait l'honneur d'accepter la présidence du jury de thèse.

Nos hommages respectueux.

A Monsieur le Docteur Guillaume LE LOC'H

Maître de Conférences

Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Médecine zoologique et santé de la faune sauvage

Pour m'avoir fait l'honneur de diriger cette thèse et pour m'avoir épaulée tout au long
de ce travail.

Sincères remerciements.

A Madame le Professeur Séverine BOULLIER

Professeur des Universités

Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Immunologie

Qui a accepté de participer à ce jury de thèse.

Sincères remerciements.

TABLE DES MATIERES

| | |
|---|----|
| TABLE DES ILLUSTRATIONS | 10 |
| LEXIQUE | 12 |
| LISTE DES ABREVIATIONS | 13 |
| INTRODUCTION | 14 |
| | |
| PARTIE 1 : LE DIABLE DE TASMANIE, <i>Sarcophilus harrisii</i> | 15 |
| I. Biologie et physiologie | 15 |
| 1. Taxonomie | 15 |
| 2. Habitat et démographie | 17 |
| a) Habitat | 17 |
| b) Démographie | 18 |
| 3. Comportement | 18 |
| a) Activité | 18 |
| b) Communication | 18 |
| 4. Longévité | 19 |
| a) Espérance de vie | 19 |
| b) Technique d'estimation de l'âge | 20 |
| 5. Anatomie..... | 21 |
| a) Dimensions | 21 |
| b) Peau | 21 |
| c) Appareil musculo-squelettique | 22 |
| d) Denture | 22 |
| e) Appareil digestif..... | 22 |
| f) Dimorphisme sexuel..... | 23 |
| g) Métabolisme et thermorégulation | 23 |
| 6. Régime alimentaire à l'état sauvage..... | 24 |
| 7. Reproduction..... | 25 |
| a) Mode de reproduction | 25 |
| b) Maturité sexuelle | 25 |
| c) Période de reproduction | 25 |
| d) Cycle œstral..... | 26 |
| e) Lactation et développement des jeunes(Vogelnest, Woods 2008) | 27 |

| | |
|--|--------|
| 8. Principales maladies | 29 |
| a) Maladies dermatologiques | 29 |
| b) Maladies gastro-intestinales | 29 |
| c) Maladies cardiopulmonaires..... | 30 |
| d) Maladies uro-génitales | 30 |
| e) Maladies neurologiques et musculo-squelettiques | 31 |
| f) Maladies néoplasiques..... | 31 |
| g) Zoonoses | 32 |
| 9. Transport, manipulation et soins..... | 32 |
| a) Capture et manipulation | 32 |
| b) Contention chimique | 32 |
| c) Relâcher à l'état sauvage..... | 33 |
| II. Menaces et enjeux..... | 33 |
| 1. Histoire..... | 33 |
| 2. Menaces actuelles..... | 34 |
| a) Maladie tumorale faciale du diable de Tasmanie (DFTD) | 34 |
| b) Mortalité sur la route | 34 |
| c) Modification de l'habitat..... | 35 |
| 3. Evolution démographique..... | 36 |
| a) Impact de la DFTD | 36 |
| b) Perspectives | 36 |
| 4. Enjeux écologiques | 37 |
| a) Le diable, charognard et nettoyeur environnemental..... | 37 |
| b) Le diable, un superprédateur..... | 37 |
| c) Le diable, hôte de parasites spécifiques..... | 38 |
| 5. Espèce protégée | 39 |
| PARTIE 2 : LA MALADIE TUMORALE FACIALE DU DIABLE DE TASMANIE | 40 |
| I. La première maladie tumorale faciale | 40 |
| 1. Caractéristiques de la maladie | 40 |
| a) Premières apparitions | 40 |
| b) Un agent pathogène peu commun | 42 |
| c) Transmission..... | 49 |
| d) Epidémiologie | 52 |
| e) Conséquences sur la population | 55 |
| f) Pathologie | 56 |
| 2. Mécanismes immunologiques mis en cause..... | 59 |

| | |
|--|-----|
| a) Théorie du manque de diversité génétique..... | 59 |
| b) Echappement des cellules tumorales au système immunitaire du diable..... | 61 |
| 3. Mécanismes adaptatifs..... | 65 |
| a) Adaptation des diables face à la DFTD | 65 |
| b) Evolution génétique de la DFTD..... | 69 |
| II. La seconde maladie tumorale faciale | 70 |
| 1. Contexte d'apparition | 70 |
| 2. Description lésionnelle | 71 |
| 3. Etudes cytogénétique et génétique | 72 |
| III. Autres cancers transmissibles..... | 74 |
| 1. Tumeur Vénérienne Transmissible Canine..... | 75 |
| 2. Cancers transmissibles de bivalves..... | 79 |
| 3. Les tumeurs transmissibles anthropogéniques du Hamster doré..... | 80 |
| | |
| PARTIE 3 : CONSERVATION DU DIABLE DE TASMANIE, UNE ACTION COORDONNEE MULTIDISCIPLINAIRE | 83 |
| I. Connaître son ennemi pour mieux le combattre : enjeux du suivi annuel | 83 |
| II. Constitution d'une population indemne de DFTD : la Population d'Assurance | 88 |
| 1. Définition et objectifs de la population d'assurance | 88 |
| 2. Les différentes formes de la population d'assurance | 91 |
| 3. Limites de la population d'assurance..... | 97 |
| 4. «Devil Tools and Tech » : une action coordonnée du secteur de la recherche et de la gestion quotidienne de la population captive | 98 |
| 5. Captivité et augmentation du risque d'accident de la voie publique | 100 |
| 6. Hausse de la plombémie chez les diables captifs..... | 101 |
| III. Maintien des populations sauvages | 104 |
| IV. Recherche médicale : élaboration d'un vaccin et d'un marqueur pré-clinique | 107 |
| 1. Recherche vaccinale | 107 |
| 2. Elaboration de biomarqueurs précliniques spécifiques de la DFTD | 114 |
| | |
| CONCLUSION..... | 117 |
| BIBLIOGRAPHIE | 121 |

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Figures

| | |
|---|----|
| Figure 1 : Changement de dentition en fonction de l'âge..... | 20 |
| Figure 2 : Diabes de Tasmanie..... | 22 |
| Figure 3 : Cycle de reproduction et de vie des diables de Tasmanie..... | 27 |
| Figure 4 : Paramètres morphométriques et morphologiques permettant de suivre le développement du nouveau-né et du jeune diable de Tasmanie jusqu'au sevrage..... | 28 |
| Figure 5 : Diable de Tasmanie atteint de DFTD..... | 40 |
| Figure 6 : Distribution des populations de diables sauvages, avec et sans la maladie, à partir de rapports collectés depuis 1964..... | 41 |
| Figure 7 : Caryotypes normal et tumoral du Diable de Tasmanie..... | 42 |
| Figure 8 : Caryotypes représentatifs des lignées tumorales 1 à 4..... | 46 |
| Figure 9 : Résumé des résultats de <i>reverse painting</i> appliqué à la lignée 1 de la DFTD..... | 47 |
| Figure 10 : Analyse immunohistochimique d'une tumeur de la DFTD chez un diable de Tasmanie..... | 49 |
| Figure 11 : Trois diables de Tasmanie adultes, apparemment indemnes de DFTD, en train de se mordiller réciproquement..... | 50 |
| Figure 13 : Carte de distribution de la DFTD en 2017..... | 53 |
| Figure 12 : Carte de l'Australie et de la Tasmanie montrant les principaux sites impliqués dans la gestion des populations de diables en lien avec la DFTD..... | 53 |
| Figure 14 : Diabes présentant des tumeurs histologiquement confirmées DFTD..... | 56 |
| Figure 15 : Devil facial Tumour Disease, coupes histologiques de la peau d'un diable de Tasmanie..... | 57 |
| Figure 16 : Mécanisme d'évasion immunitaire dans le cas de la DFTD..... | 63 |
| Figure 17 : Carte de la Tasmanie montrant la diversité des types de CMH dans les sites étudiés..... | 68 |
| Figure 18 : Localisation géographique et apparence lésionnelle des tumeurs DFT2..... | 71 |
| Figure 19 : Les tumeurs DFT2 sont histologiquement différenciables de celles de la DFT1..... | 72 |
| Figure 20 : Les tumeurs DFT2 sont cytogénétiquement distinctes des tumeurs DFT1..... | 73 |
| Figure 21 : Tumeur Vénérienne Transmissible Canine..... | 76 |
| Figure 22 : Modèle d'évasion immunitaire de la TVTC..... | 77 |
| Figure 23 : Evolution des cancers transmissibles et non-transmissibles..... | 82 |
| Figure 24 : Les huit sites suivis chaque année dans le cadre de l'Annual Monitoring Program, en Tasmanie..... | 85 |

| | |
|---|-----|
| Figure 25: Origine des diables fondateurs de la population d'assurance en 2016 | 90 |
| Figure 26 : Carte des Péninsules de Forestier et de Tasman | 95 |
| Figure 27 : Gestion des mouvements de diables captifs entre les différents sites de captivité. | 97 |
| Figure 28 : Différences entre l'approche traditionnelle de recherche en conservation et l'approche « Devil Tools & Tech » | 99 |
| Figure 29 : Histologie et immunohistochimie de tumeurs de la DFTD après immunothérapie, montrant une régression tumorale et l'infiltration par les cellules immunitaires. | 112 |
| Figure 30 : Carte des voies métaboliques incorporant les modifications liées à la DFTD. | 115 |

Tableaux

| | |
|---|----|
| Tableau 1 : Classification taxonomique de <i>Sarcophilus harrisii</i> | 15 |
| Tableau 2 : Principales similarités et différences entre la DFTD et la TVTC..... | 78 |
| Tableau 3 : Composition de la métapopulation d'assurance en 2016. | 92 |

LEXIQUE

Allogreffe (syn. « Homogreffe ») : transplantation de cellules ou de tissus d'un individu donneur à un individu receveur génétiquement différent du donneur mais appartenant à la même espèce.

Autogreffe : transplantation de cellules ou de tissus où le donneur et le receveur sont le même individu.

Brassage génétique : recombinaisons génétiques au sein d'une population entière et sur plusieurs générations.

Chromotripsis : réarrangement massif du génome après un épisode unique de fragmentation du matériel génétique en milliers de segments.

Conditionnement opérant : concept de comportement développé au XX^{ème} siècle. La théorie s'intéresse à l'apprentissage dont résulte une action en s'appuyant sur le renforcement et la punition, positif ou négatif.

Dispersion natale : mouvement d'un individu depuis son origine jusqu'à l'endroit où il se reproduit, ou se serait reproduit s'il avait survécu et trouvé un partenaire (Greenwood, 1980).

Dispersion de reproduction : mouvement d'un individu qui s'est déjà reproduit, entre deux sites de reproduction (Greenwood, 1980).

Domaine vital : aire géographique utilisée par un individu pour ses activités normales de recherche de nourriture, de reproduction et de soin aux jeunes. (Burt, 1943).

Effet fondateur : en génétique des populations, désigne la diffusion d'une mutation génétique ou d'un

trait génétique au sein d'une population à partir de l'apparition de celle-ci chez un de ces individus. Dans l'étude de l'évolution, il s'agit d'un mode de spéciation.

Génome : ensemble du matériel génétique d'une espèce codé dans son acide désoxyribonucléique (ADN).

Incubation (période de) : délai entre la contamination et l'apparition des premiers symptômes d'une maladie.

Métabolome : ensemble des métabolites (intermédiaires métaboliques, hormones, métabolites secondaires) qui peuvent être trouvés dans un échantillon biologique (Oliver *et al.*, 1998)

Philopatry : tendance des individus à rester ou à revenir au voisinage de leur lieu de naissance.

Superprédateur (syn. « prédateur alpha ») : espèce animale qui se nourrit en tout ou partie d'animaux prédateurs et n'est elle-même la proie d'aucune autre espèce.

Transcriptome : ensemble des acides ribonucléiques (ARN) issus de la transcription du génome.

Xénogreffe (syn. « Hétérogreffe ») : transplantation de cellules ou de tissus à un individu receveur appartenant à une espèce différente de celle de l'individu donneur.

ABREVIATIONS

| | |
|--|---|
| ADN Acide Désoxyribo-Nucléique, molécule contenant l'information génétique du vivant | MEE <i>Managed Environment Enclosures</i> |
| β2m microglobuline bêta 2 | NK Cellule Natural Killer |
| BTN Bivalve Transmissible Neoplasms, néoplasmes transmissibles des bivalves | NNP <i>Narawntapu National Park</i> , parc national de Narawntapu |
| CBSG <i>Conservation Breeding Specialist Group</i> , groupe de spécialistes de reproduction de la conservation | PBR <i>Polymorphic Binding Region</i> |
| CIITA <i>Class II Transactivator</i> | PCR <i>Polymerase Chain Reaction</i> , ou réaction de polymérase en chaîne, technique utilisée en biologie moléculaire pour amplifier des segments d'ADN |
| CMH Complexe Majeur d'Histocompatibilité | PD1 <i>Programmed cell death protein</i> |
| CPA Cellule Présentatrice d'Antigène | PD-L1 <i>Programmed cell Death Ligand 1</i> |
| DFTD <i>Devil Facial Tumour Disease</i> , ou maladie tumorale faciale du Diable de Tasmanie | PHVA <i>Population and Habitat Viability Assessment</i> |
| DPIPWE <i>Department of Primary Industries, Parks, Water and Environment</i> de l'état de Tasmanie | SNP <i>Single Nucleotide Polymorphism</i> , ou polymorphisme nucléotidique |
| FRE <i>Free-Range Enclosure</i> , enclos en conditions de semi-liberté | SRY <i>Sex-determining Region of Y chromosome</i> , gène situé sur le bras court du chromosome Y |
| GnRH <i>Gonadotropin Releasing Hormone</i> | SSC <i>Species Survival Commission</i> , Commission de Survie des Espèces de l'UICN |
| Ig Immunoglobuline | STDP <i>Save the Tasmanian Devil Program</i> |
| IFN- γ Interféron gamma | SV <i>Simian Virus</i> , virus simian |
| IL Inter-Leukine, groupe de cytokines, substances synthétisées par les cellules immunitaires | TAP Transporteur associé à la présentation d'Antigène |
| IUCN ou UICN en français pour Union Internationale pour la Conservation de la Nature | TDAP <i>Tasmanian Devil Ambassador Program</i> |
| LT Lymphocyte T | TGF-β <i>Transforming Growth Factor β</i> , facteur de croissance impliqué dans les processus tumoraux |
| MAC <i>Metapopulation Advisory Committee</i> , comité de conseil à la gestion de la métapopulation d'assurance de diables de Tasmanie | TVTC Tumeur Vénérienne Transmissible Canine |
| | ZAA <i>Zoo and Aquarium Association</i> , association d'établissements zoologiques de la zone Océanie-Pacifique |

INTRODUCTION

« Le chiot de Belzébuth ». Ainsi était surnommé le Diable de Tasmanie (*Sarcophilus harrisi*) par les colons britanniques s'installant en Terre de Van Diemen au XIX^{ème} siècle. Sa mâchoire puissante, sa couleur sombre et son cri effrayant retentissant dans la nuit alimentaient les craintes et superstitions locales. Après plus d'un siècle de persécutions, les habitants de l'île se sont réconciliés avec le plus grand carnivore marsupial existant à l'heure actuelle. Le Diable est aujourd'hui un animal emblématique de la Tasmanie, et contribue à l'activité économique de l'île par le tourisme. En tant que superprédateur et charognard, il rend un service écologique majeur dans son écosystème.

Si la chasse à prime et l'empoisonnement volontaires ont aujourd'hui cessé, le diable de Tasmanie n'en reste pas moins fragile. Depuis le milieu des années 1990, une maladie atypique l'affecte : un cancer de la face, transmissible et mortel. Cette maladie, appelée *Devil Facial Tumour Disease*, est provoquée par une lignée tumorale clonale agissant comme un agent pathogène, transmise par morsure lors des interactions sociales et entraînant la mort de l'individu quelques mois après l'apparition des premiers symptômes. L'apparition de la DFTD a entraîné un déclin majeur des différentes populations de diables à travers la Tasmanie. Le diable n'existant nulle part ailleurs que sur cette île huit fois plus petite que la France, l'extinction de l'espèce est à craindre.

Cette thèse présente une synthèse des travaux de recherche effectués ces 20 dernières années, dans le but de mieux comprendre la maladie, son évolution et l'impact qu'elle a sur les diables de Tasmanie à l'échelle de l'individu et de la population. Sont également abordées les actions de conservation mises en place, afin de sauvegarder l'espèce elle-même mais aussi sa diversité génétique, notamment par la constitution d'une population captive d'assurance et le renforcement des populations sauvages. Enfin, les découvertes les plus récentes dans l'élaboration d'un vaccin, au cœur de la bataille contre la DFTD, sont exposées.

PARTIE 1 : LE DIABLE DE TASMANIE

Sarcophilus harrisii

I. BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

1. Taxonomie

Le diable de Tasmanie a été décrit pour la première fois en 1808 par un naturaliste anglais, George Prideaux Robert Harris, qui avait alors proposé le nom de *Didelphis ursina*, en raison de sa tête ronde similaire à celle d'un ours. D'autres noms ont par la suite été proposés, comme *Diabolus ursinus* (« Diable ours ») ou *Sarcophilus satanicus* (« Mangeur de viande satanique »), en référence aux vocalisations nocturnes terrifiantes entendues par les premiers explorateurs. Le nom scientifique utilisé aujourd'hui, *Sarcophilus harrisii* (« Mangeur de chair de Harris ») a été attribué par le géologue et botaniste français Pierre Boitard en 1841 et traduit le régime carnivore et charognard du diable. (Thomas 1912; Pretyman 1966; Van Dyck, Strahan 2008).

La classification taxonomique est la suivante :

| Catégorie | Nom | Caractéristiques principales |
|--------------|-----------------------------|---|
| Classe | Mammifère | Allaitement des jeunes. Les nouveau-nés nécessitent systématiquement des soins parentaux |
| Infra-classe | <i>Metatheria</i> | |
| Cohorte | <i>Marsupialia</i> | Gestation courte (≤ 1 cycle œstral) Développement dans le marsupium Lactation prolongée |
| Ordre | <i>Dasyuromorphia</i> | Prédateurs marsupiaux |
| Famille | <i>Dasyuridae</i> | Doigts du pied séparés (caractère primitif) Marsupium = repli de peau (caractère primitif) |
| Sous-famille | <i>Dasyurinae</i> | |
| Genre | <i>Sarcophilus</i> | |
| Espèce | <i>Sarcophilus harrisii</i> | |

Tableau 1 : Classification taxonomique de *Sarcophilus harrisii*.

Marsupialia (marsupiaux) est la seule cohorte ayant encore des représentants vivants de l'infra-classe *Metatheria*, les deux sont par conséquent souvent confondus (**Tableau 1**). Les marsupiaux se distinguent par de nombreuses caractéristiques liées à leur système reproducteur. Chez les marsupiaux, la gestation est courte, de durée inférieure à un cycle œstral (8 à 43 jours selon l'espèce). Le nouveau-né, sous-développé en comparaison avec un nouveau-né placentaire, est dans un état caractérisé de « larvaire ». Les membres thoraciques sont suffisamment développés pour qu'il puisse grimper jusque dans le marsupium. Le cœur, les poumons et les reins sont à peine fonctionnels. Le cerveau est encore à un stade précoce de développement ontogénique. Le reste du développement se passe dans le marsupium, souvent décrit comme une « poche ». La période de lactation est bien plus longue que chez les mammifères placentaires. Par exemple, chez le Wallaby de l'île d'Eugène (*Macropus eugenii*), la lactation peut durer jusqu'à 300 jours (Kuruppath et al. 2012). A gabarit équivalent, soit 4 à 10kg à l'âge adulte (Jackson 2007), on s'attend plutôt chez des mammifères placentaires à une lactation de l'ordre de 7 à 10 semaines, comme c'est le cas chez le Chien (*Canis lupus familiaris*) ou chez le Renard roux (*Vulpes vulpes*) (Fox 2007).

Les *Dasyuromorphia* représentent les prédateurs marsupiaux, qu'ils soient insectivores ou carnivores, chasseurs ou charognards. Cet ordre est composé de trois familles : les *Thylacinidae*, dont le seul représentant, le Tigre de Tasmanie ou Thylacine (*Thylacinus cynocephalus*) est éteint, les *Myrmecobiidae*, dont le seul représentant est le Numbat (*Myrmecobius fasciatus*), et les *Dasyuridae* (Nihranz, Colvin 2013). Ces derniers constituent une famille assez homogène morphologiquement parlant : museau pointu, queue longue et poilue, membres de taille courte à moyenne, plantigrades, membres non syndactyles (Myers 2001). Les *Dasyurinae*, sous-famille établie à partir de critères anatomiques, génétiques et par étude des protéines sériques (Van Dyck, Strahan 2008), comportent les chats marsupiaux (genre *Dasyurus*) et le Diable de Tasmanie (*Sarcophilus harrisi*), seul représentant du genre *Sarcophilus*.

2. Habitat et démographie

a) Habitat

Les diables de Tasmanie évoluent principalement dans des zones moyennement humides à sèches de l'est, du nord et du nord-ouest de la Tasmanie, dans des forêts ouvertes d'eucalyptus, des régions boisées et herbeuses, des côtes buissonneuses, ou encore des mosaïques de pâtures et de buissons secs (Van Dyck, Strahan 2008). Ils sont présents à travers toute l'île mais en densités beaucoup plus faibles dans les forêts humides tempérées denses et les landes herbeuses humides du sud-ouest, qui ne constituent pas leur habitat privilégié.

Chaque individu se déplace sur une surface sur laquelle il chasse, se reproduit et apporte des soins à sa descendance appelée «domaine vital». En moyenne, chaque individu couvre un domaine vital de 13,3 km² (5-27) mais cette valeur peut varier notamment en fonction de la densité de la population et de la disponibilité de la nourriture. A disponibilité en nourriture constante, le domaine vital augmentera si la densité de la population augmente. De même, à densité de population constante, le domaine vital augmentera si la disponibilité en nourriture diminue (Pemberton 1990). Il est possible que les individus sortent occasionnellement de leur domaine vital pour trouver plus de ressources (Guiler 1978; Van Dyck, Strahan 2008).

Cependant, il ne s'agit pas d'une espèce territoriale, dans le sens où les individus ne défendent pas l'espace dans lequel ils vivent. Ainsi, il est très fréquent que les domaines vitaux de plusieurs individus se superposent (Pemberton 1990; Pemberton, Renouf 1993). La confrontation, si elle doit avoir lieu, est en lien avec la nourriture et non avec le territoire.

Chaque individu possède plusieurs tanières sur son domaine vital. Ces tanières peuvent être des terriers, des troncs d'arbres creux, des grottes, des espaces sous des habitations ou dans une végétation basse et dense (Pemberton 1990; Van Dyck, Strahan 2008). Ils procurent un abri physique contre les intempéries et contre les prédateurs (chats sauvages, chiens, renards) qui pourraient manger les jeunes. Les femelles possèdent une tanière primaire où elles laissent leur progéniture à partir du mois d'août. A partir de ce moment et jusqu'au sevrage en janvier, leur domaine vital sera donc plus restreint car elles devront revenir régulièrement dans cette tanière pour nourrir les jeunes (Pemberton 1990).

b) Démographie

A l'échelle individuelle, plusieurs modèles de dispersion sont décrits en fonction de l'âge et du sexe de l'animal. Les femelles tendent à rester dans leur région de naissance (philopatrie), tandis que les mâles tendent à se disperser de façon plus importante. Cette dispersion avant la première période de reproduction est appelée « dispersion natale ». On peut également définir une « dispersion de reproduction » qui renvoie à la dispersion des individus entre deux périodes de reproduction. Ces motifs de dispersion sont observés chez d'autres espèces de mammifères et constitueraient une stratégie évolutive visant à limiter la consanguinité (Shields 1983; Cockburn, Scott, Scotts 1985).

Sur un cycle d'une année, la population de diables est la plus dense en fin d'été (janvier), au moment du sevrage des jeunes. Il s'agit d'une période très favorable pour les diables : la végétation est sèche, par conséquent de nombreux herbivores tels que les macropodes périssent, ce qui augmente la disponibilité en ressources alimentaires (Pemberton 1990).

Il est difficile d'estimer avec précision le nombre d'animaux restant sur l'île à l'état sauvage, particulièrement car le front ouest de la maladie est difficile à surveiller, tout comme l'étude des populations sauvages du sud-ouest de l'île.

3. Comportement

a) Activité

Le Diable de Tasmanie est une espèce nocturne, solitaire, et craintive de l'Homme, ayant des pics d'activité au crépuscule et à l'aube (Pemberton 1990; Jones 1998; Jackson 2007; Owen, Pemberton 2011). La journée, les animaux passent le plus clair de leur temps à dormir dans des terriers ou dans des buissons. La plupart du temps éveillé est passé à chercher la nourriture, jusqu'à 8h par nuit (Van Dyck, Strahan 2008). Les diables parcourent en moyenne 8,6km par nuit à la recherche de nourriture, mais des distances plus importantes ont été rapportées (20 km en une nuit) (Van Dyck, Strahan 2008).

b) Communication

Les diables de Tasmanie vivent de façon solitaire à partir du moment où ils deviennent indépendants de leur mère, vers 8 mois bien que leurs domaines vitaux se superposent fréquemment (Pemberton, Renouf 1993). Les interactions sociales

interviennent principalement entre la mère et sa progéniture, au moment de l'accouplement et au moment des repas, où un ou plusieurs individus se regroupent autour d'une carcasse (Pemberton 1990). A l'occasion de ces rencontres, les diables montrent des comportements agonistiques exprimés par des vocalisations, des postures d'intimidation, et des signaux chimiques (marquages urinaire et ano-génital) (Pemberton 1990). Cependant, il ne s'agit pas d'une espèce vindicative, aussi l'affrontement physique ne représente pas l'issue la plus fréquente des interactions. Cet affrontement peut survenir dans deux cas de figure : soit un nouvel individu arrive autour d'une carcasse, soit un mâle tente de saillir une femelle (Pemberton 1990). La dentition du Diable de Tasmanie étant aiguisée et sa mâchoire puissante, les blessures liées aux morsures peuvent être sévères. Elles se localisent principalement autour du museau et de l'arrière train (Pemberton, Renouf 1993). La dominance semble être ponctuelle et établie par le résultat de l'affrontement, même non physique, plutôt que par une hiérarchie permanente préétablie, par exemple en faveur de l'animal de plus imposant, comme certains auteurs l'avaient postulé auparavant (Buchmann, Guiler 1977).

Comme chez d'autres mammifères, le Diable de Tasmanie communique également par voie olfactive, par marquages urinaire et ano-génital. De plus, on peut observer chez cette espèce des sites distincts et restreints, temporellement et spatialement, où les diables accumulent leurs fèces et les marqueurs olfactifs associés. Ces sites sont appelés « latrines » et contiennent une multitude d'informations qui permettraient à ces animaux solitaires de communiquer indirectement, particulièrement lors de la brève période de reproduction (Pemberton 1990). Cependant, les latrines étant utilisées toute l'année, leurs fonctions sont probablement plus complexes et étendues.

4. Longévité

a) Espérance de vie

L'espérance de vie des diables de Tasmanie dans leur milieu naturel est de 6 à 7 ans. En captivité, la vie peut être prolongée jusqu'à 8 ans (Jackson 2007; Van Dyck, Strahan 2008).

b) Technique d'estimation de l'âge

Comme chez d'autres mammifères, l'âge des diables de Tasmanie peut être estimé à partir d'un ensemble de paramètres morphométriques liés notamment à la taille de l'animal et à sa denture :

- La taille de l'animal et son poids, permettent d'estimer l'âge de l'animal juvénile à l'aide de courbes de croissances, ce jusqu'à 20-25 mois d'âge (Pemberton 1990).

- La largeur du crâne, mesurée à l'aide d'un pied à coulisse placé transversalement à l'axe du crâne au niveau des proéminences des os temporaux.

- La localisation de la jonction dentine-email sur les canines supérieures (**Figure 1**). L'usure des canines n'est pas entièrement fiable pour l'estimation de l'âge car ces dents sont particulièrement susceptibles de se fendre ou de se casser (Pemberton 1990).

- L'éruption des molaires 3 et 4 (respectivement M3 et M4) inférieures. En effet, les molaires 1 et 2 (respectivement M1 et M2) apparaissent généralement avant que les jeunes acquièrent leur indépendance (8-9 mois), et toutes auront poussé à 14 mois (Pemberton 1990). A noter qu'en pratique, les diables attrapés sur le terrain sont indépendants donc âgés de 9 mois au minimum.

- L'usure des molaires inférieures : M1 est bicuspide alors que M2, M3 et M4 sont tricuspides, et toutes sont très pointues lorsque la dent vient de faire irruption. Ainsi, chez un diable de un an, M4 peut ne pas être présente. Chez un diable de deux ans, M1 paraît plus usées que les autres. Chez un diable de 3 ans et plus, M1 et M2 sont complètement épointées, voire usées jusqu'à la gencive (Pemberton 1990).

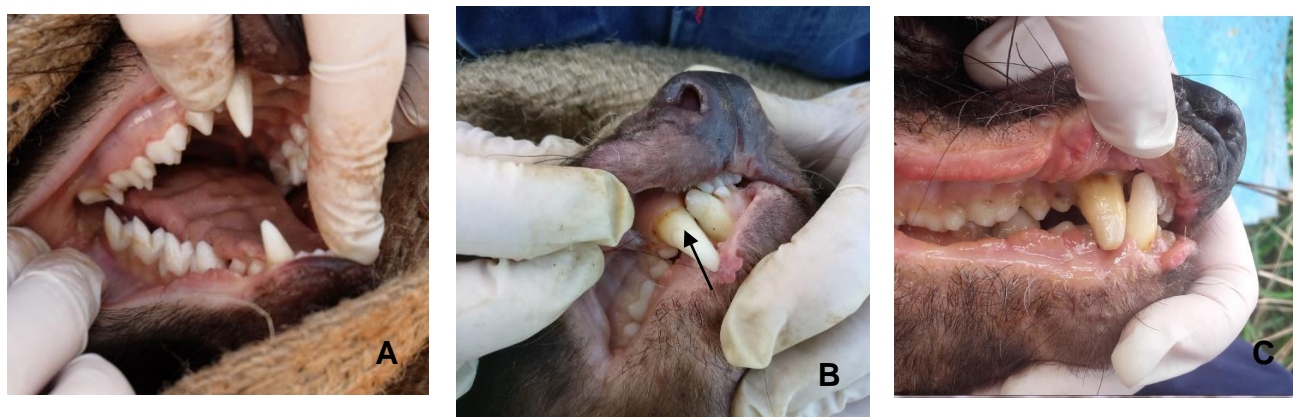


Figure 1: Changement de dentition en fonction de l'âge : les canines. **A)** Diable de 1 an : la jonction émail-dentine n'est pas visible. Les dents sont propres et pointues. **B)** Diable de 3 ans : la jonction émail-dentine est visible. Jusqu'à 3 ans, la position de la jonction permet d'estimer l'âge de l'individu. Au-delà, cette méthode devient moins précise. **C)** Diable de 5 ans. Les canines sont usées et sales. On peut aussi voir que les molaires supérieures sont usées, en contraste avec la photo A. Photographies personnelles.

- Les diables étant amenés à se battre au moment des repas ou de l'accouplement et leur dentition étant aiguisée et puissante, les blessures infligées peuvent être sévères et laisser des marques durables. Ainsi, chaque individu accumule les cicatrices avec l'âge, principalement autour du museau et de la croupe. (Pemberton 1990).

A noter que la reproduction synchronisée et les naissances groupées généralement au mois d'avril aident à l'estimation de l'âge. Si il est aisé d'estimer assez précisément l'âge des individus jusqu'à 2 ans, il devient plus difficile d'être précis au-delà. En effet, une fois la taille adulte atteinte, l'estimation de l'âge ne porte plus que sur l'usure dentaire qui n'est pas linéaire et est souvent biaisée par des traumatismes dentaires ou certaines habitudes alimentaires.

5. Anatomie

a) Dimensions

Les diables de Tasmanie sont des carnivores de taille moyenne, mais ce sont aussi les plus grands carnivores endémiques de Tasmanie. Le mâle est plus imposant que la femelle. La taille du corps (de la tête au sacrum) des mâles adultes est de 65,2cm en moyenne tandis que les femelles font 57,0cm en moyenne. De même, les mâles adultes pèsent entre 8 et 14kg alors que les femelles pèsent 5 à 9kg (Van Dyck, Strahan 2008).

b) Peau

Chez le Diable de Tasmanie, la peau est un organe mis à rude épreuve notamment lors des interactions sociales, qu'il s'agisse du repas ou de l'accouplement. Chez la femelle, la peau de la nuque s'épaissit par accumulation de tissus adipeux avant la période de reproduction en préparation aux morsures qui seront infligées par le mâle. Le pelage est uniformément noir, avec éventuellement des bandes blanches sur le poitrail et sur la croupe (**Figure 2**).

Le marsupium est composé chez cette espèce de replis de peau latéraux présents en permanence. Cette poche abrite les mamelons, au nombre de quatre chez le Diable de Tasmanie.

Ces animaux sont pourvus de nombreuses glandes de marquage, disséminées sur tout le corps : péri-anales, interdigitales, sternales, labiales et auriculaires (Vogelnest, Woods 2008).



Figure 2 : Diablies de Tasmanie. Le pelage est noir et présente, la plupart du temps, une bande blanche à travers le poitrail et la croupe. Photographies : Zoo de San Diego.

c) Appareil musculo-squelettique

Les membres thoraciques possèdent cinq doigts pourvus de griffes. Le doigt I des membres pelviens est absent. Les doigts II et III des membres pelviens ne sont pas fusionnés, comme chez d'autres marsupiaux : le pied est dit « didactyle ». Le marsupium est supporté par deux os épipubiens, qui émergent du bord crânial du pubis. La patelle est ossifiée. La queue est plus courte que le corps (Vogelnest, Woods 2008).

d) Denture

Les diablies de Tasmanie possèdent plusieurs paires d'incisives, 4 sur la mâchoire supérieure et 3 sur la mâchoire inférieure. Ils possèdent une paire de canines développées sur chaque mâchoire, caractéristique de leur régime carnivore (**Figure 1**). Les prémolaires et les molaires sont coupantes, capables de mastiquer les tissus les plus denses tels que les os (Van Dyck, Strahan 2008; Vogelnest, Woods 2008).

e) Appareil digestif

Comme chez de nombreux mammifères carnivores, le tractus digestif est court, composé d'un estomac simple, de l'intestin grêle, du gros intestin. Le cæcum est absent. Dans le duodénum proximal se trouvent les glandes de Brunner, regroupées en lobes formant un anneau à la sortie du pylore (Vogelnest, Woods 2008).

Les marsupiaux possèdent un cloaque ; ainsi, chez les femelles, l'anus et la vulve sont très rapprochés.

f) Dimorphisme sexuel

Comme chez la plupart des espèces de mammifères, les diables de Tasmanie présentent un dimorphisme sexuel définissable par des critères morphologiques.

1. Mâles

Les individus mâles possèdent des testicules externes pendulaires subovoïdes, contenus dans un pseudo-sac scrotal formée par des replis ventro-cruraux latéraux dans l'abdomen, de façon à ce qu'ils soient partiellement protégés (Guiler 1970b). Les mâles sont 30% fois plus grands en taille que les femelles (Van Dyck, Strahan 2008). La prostate a une forme de carotte et est entourée de deux paires de glandes bulbo-urétrales (Vogelnest, Woods 2008).

2. Femelles

Comme chez les autres marsupiaux, la femelle diable de Tasmanie possède deux utérus et deux vagins latéraux. Entre les deux vagins se trouvent une masse de tissu fibreux dans lequel un canal se forme pendant le part, et se referme rapidement après la mise-bas (Vogelnest, Woods 2008).

Le marsupium, présent chez tous les individus même sexuellement immatures, s'ouvre caudalement. Sur le plancher abdominal sont présentes 4 mamelles dont la forme et la taille varient avec l'âge de l'animal et la présence ou non de jeunes dans le marsupium (Guiler 1970b).

g) Métabolisme et thermorégulation

Le métabolisme basal des diables de Tasmanie est égal environ à la moitié de celui des mammifères euthériens carnivores de gabarit comparable (Vogelnest, Woods 2008).

La thermorégulation est lente à se mettre en place. La température interne d'un diable de Tasmanie est de 36-38°C. Ils produisent de la chaleur en frissonnant et les tissus adipeux bruns n'ont jamais été décrits chez les marsupiaux. Les diables de Tasmanie ne transpirent pas et compensent un excès de chaleur en haletant et en se léchant pour augmenter le refroidissement par évaporation (Vogelnest, Woods 2008). Leur rapport surface/volume est faible, aussi sont-ils mieux à même de garder la chaleur que d'autres espèces de plus petit gabarit (Vogelnest, Woods 2008).

6. Régime alimentaire à l'état sauvage

Il s'agit d'animaux carnivores, et les plus jeunes sont insectivores facultatifs (Jackson 2007). Ils sont essentiellement opportunistes, principalement charognards, mais sont capables de chasser des proies faibles si nécessaire : jeunes, malades, blessés ou vieux individus (Vogelnest, Woods 2008).

En tant que charognards, les diables sont capables de manger jusqu'à 90% de la carcasse, ne laissant que la peau et les os les plus denses (vertèbres, bassin, crânes, os longs) (Pemberton, Renouf 1993). La quantité de viande ingérée est proportionnelle au gabarit de l'individu, soit environ 40% du poids vif de l'animal. Ainsi, on comprend que pour les animaux les plus imposants, la quantité de carcasse ingérée et la durée du repas sont plus importantes que pour des individus de gabarit plus modeste. En moyenne, la durée du repas est de 34min mais peut aller jusqu'à 54min pour les mâles les plus imposants (Pemberton 1990). Les diables n'ont pas pour habitude de se nourrir tous les jours, et ne semble s'alimenter que tous les 3 jours à condition de s'être gorgés de nourriture au préalable (Pemberton 1990; Pemberton, Renouf 1993). Le nombre de diables se nourrissant sur une carcasse dépend de la taille de celle-ci : jusqu'à 5 diables sur un macropode de type kangourou, jusqu'à 22 sur une vache (Pemberton 1990; Van Dyck, Strahan 2008).

Il semblerait que le comportement chasseur soit plus marqué en absence de carcasses d'animaux de grande taille comme les macropodes, ou dans des régions où la population animale est composée de marsupiaux de petit gabarit principalement phalangers-renard ou « opossum d'Australie » (*Trichosurus vulpecula*) comme dans les forêts humides du sud-ouest (Ewer 1969; Pemberton 1990). Dans ce cas, les diables attrapent leurs proies par la peau du cou en les secouant, à l'instar des félidés (Ewer 1969; Pemberton 1990). Ils sont en outre capables de chasser des proies de taille moyenne comme des wallabies ou des wombats (Van Dyck, Strahan 2008; Vogelnest, Woods 2008). Ils peuvent aussi manger des proies d'espèces introduites (lapins, moutons) (Vogelnest, Woods 2008). Enfin, les jeunes diables sont capables de grimper aux arbres pour attraper des oiseaux (Van Dyck, Strahan 2008).

7. Reproduction

a) Mode de reproduction

Le mode de reproduction du Diable de Tasmanie pourrait être qualifié de polyœstral saisonnier synchronisé facultatif se comportant comme une espèce monoœstrale (Russel 1984; Pemberton 1990; Jackson 2007). En d'autres termes, les femelles entrent en chaleur de façon synchronisée de fin février à fin mars, et l'accouplement a lieu durant cette période. Cependant, en cas de non accouplement ou si la femelle avorte précocement, il lui est possible d'être à nouveau en chaleur de mai à août, et d'avoir une portée plus tardive. Ainsi, la plupart des femelles ne connaissent qu'un œstrus dans l'année, mais toutes ont le potentiel d'être en chaleur 2 fois par an si besoin est.

De plus, il s'agit d'une espèce polygame puisque les mâles peuvent saillir plusieurs femelles, et les paternités peuvent être multiples (Jackson 2007; Van Dyck, Strahan 2008; Vogelnest, Woods 2008). La femelle a la capacité de stocker du sperme dans l'isthme de l'oviducte dans le cas où l'accouplement surviendrait avant l'ovulation, ce qui est impossible chez les autres groupes de marsupiaux. Dans ce cas, le sperme reprend sa migration au moment de l'ovulation (Vogelnest, Woods 2008).

Le succès reproductif des diables de Tasmanie sauvages est élevé puisqu'en moyenne, les femelles aptes à se reproduire (c'est-à-dire âgée de 2 à 4 ans) produisent et élèvent jusqu'au sevrage 3 jeunes par portée, avec une capacité maximale de 4 jeunes par portée (Pemberton 1990).

b) Maturité sexuelle

Les femelles sont sexuellement matures à l'âge de 2 ans (Guiler 1970b; Pemberton 1990; Van Dyck, Strahan 2008). Cependant, dans une population saine, une fraction (<10%) des jeunes femelles sont capables de se reproduire à l'âge d'un an (Hawkins et al. 2006).

La maturité sexuelle des mâles peut survenir plus tardivement, entre 2 et 3 ans (Russel 1984; Pemberton 1990; Van Dyck, Strahan 2008).

c) Période de reproduction

L'accouplement a lieu de fin février à fin mars, et la mise-bas survient à l'automne, en avril (Pemberton 1990) (**Figure 3**).

L'acte en lui-même dure entre 4 et 8h. Le mâle attrape la femelle par la peau du cou, ce qui a pour effet d'inhiber une éventuelle réponse agressive chez celle-ci, et

l'entraîne dans une tanière où il la surveille, parfois pendant plusieurs jours (Guiler 1970b; Eisenberg, Collins, Wemmer 1975).

d) Cycle œstral

Le cycle œstral dure environ 32 jours (Hesterman, Jones, Schwarzenberger 2008a; Van Dyck, Strahan 2008). Les femelles sont réceptives jusqu'à 5 jours, pendant lesquels le marsupium devient rouge et se revêt d'une couche lipidique, et la peau de leur nuque s'épaissit pour se préparer aux morsures des mâles (Van Dyck, Strahan 2008). L'ovulation est spontanée, et entre 40 et 50 ovules sont libérés (Jackson 2007; Van Dyck, Strahan 2008; Vogelnest, Woods 2008).

Les femelles non fécondées après accouplement retournent en œstrus environ 34 jours plus tard, et la phase lutéale est de même durée chez les femelles gravides ou non gravides (Hesterman, Jones, Schwarzenberger 2008a).

La gestation dure 21 jours en moyenne (Vogelnest, Woods 2008). La femelle met bas de 15 à 20 « larves » (Van Dyck, Strahan 2008). Seules 4 d'entre elles pourront survivre, en s'attachant à un des mamelons contenus dans le marsupium et sur lequel elles resteront attachées pendant plusieurs semaines (Guiler 1970b; Van Dyck, Strahan 2008). L'œstrus post-partum et l'ovulation sont inhibés pendant la lactation (Vogelnest, Woods 2008).

Le marsupium accueille le jeune pendant la plus grande partie de son développement. C'est un indicateur fiable et non invasif du statut reproductif de la femelle (Hesterman, Jones, Schwarzenberger 2008b). Ainsi, une femelle nullipare sexuellement immature a un marsupium sec, de petite taille, avec peu de replis de peau claire. Chez les nullipares sexuellement matures, le marsupium est rosé, également sec. La poche devient de plus en plus rouge à mesure que la phase folliculaire progresse. En phase post-ovulatoire, la poche est humide, profonde et hautement glandulaire, que la femelle soit gravide ou non. Après la mise-bas, les jeunes sont directement visibles dans le marsupium jusqu'à environ 16 semaines, âge auquel ils commencent à le quitter. Plus tard pendant la lactation, le marsupium est de grande taille, les replis de peau sont flaccides, le pelage est peu dense et très colorés, la peau rosé foncé et les mamelons sont très allongés. Enfin, une fois les jeunes sevrés, les mamelons régressent et ne sécrètent qu'un liquide clair jusqu'au tarissement (Jackson 2007; Hesterman, Jones, Schwarzenberger 2008b).

e) Lactation et développement des jeunes(Vogelnest, Woods 2008)

La femelle élève les jeunes seule (Pemberton 1990). Chacun des petits reste solidement accroché à un des 4 mamelons jusqu'à environ 40 jours d'âge. La composition du lait évolue pendant toute la durée de la gestation (Van Dyck, Strahan 2008). A la naissance, les nouveau-nés pèsent 0,18-0,29g (Jackson 2007) pour une taille de 6mm (Van Dyck, Strahan 2008) (**Figure 4**). Les membres thoraciques sont plus longs et plus développés que les membres pelviens. Les doigts sont bien développés et possèdent des griffes qui permettent aux nouveau-nés de se tracter vers le marsupium une fois sortis de l'utérus. Les yeux ne sont que des points. Le corps est rosé, démunie de poils. Les oreilles ne sont pas encore percées et l'oreille externe est absente. Les parties génitales externes sont cependant reconnaissables, en particulier le scrotum (Guiler 1970b). Ainsi, le sexage est possible pratiquement dès que le jeune naît (Phillips, Jackson 2003).

Après environ 16 semaines, soit au mois d'août (en hiver), les jeunes quittent partiellement la poche pour vivre dans une tanière, toujours sous les soins de leur mère qui revient régulièrement les nourrir (Guiler 1970b; Van Dyck, Strahan 2008).

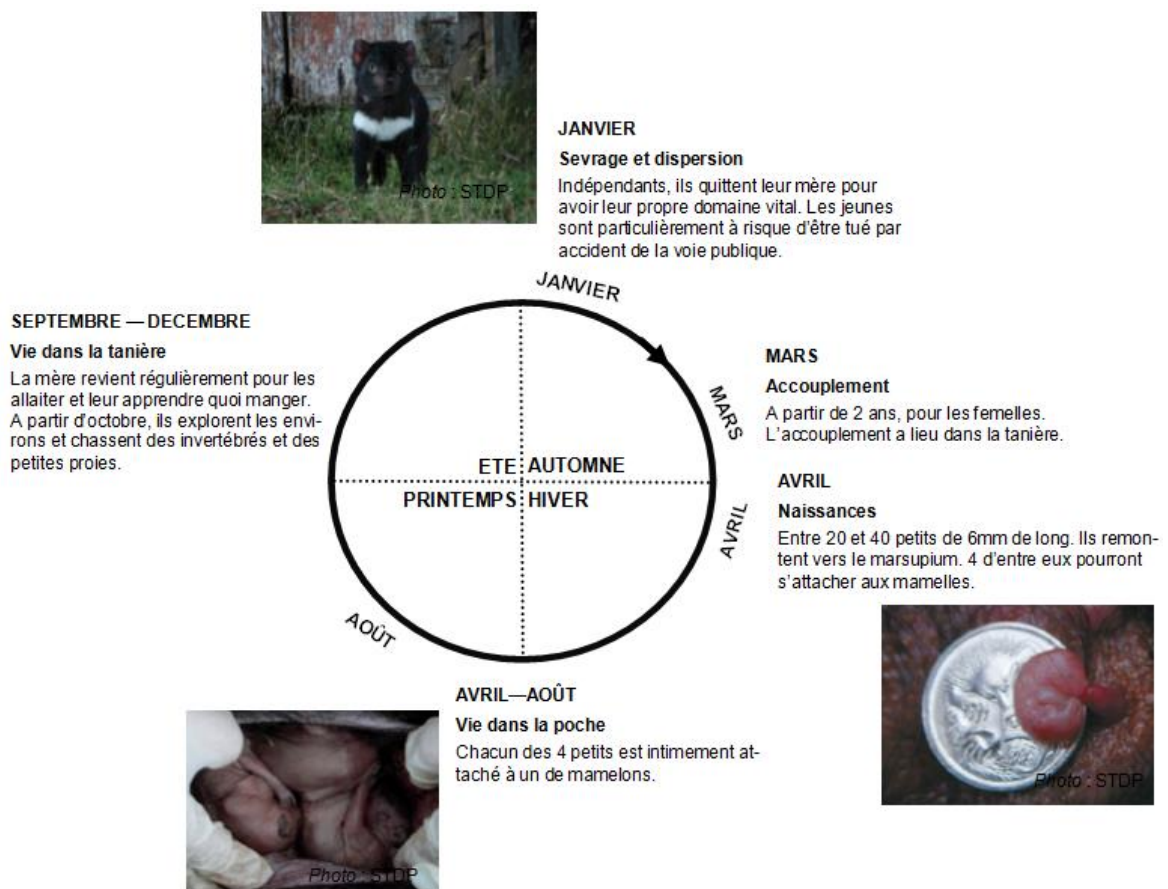


Figure 3 : Cycle de reproduction et de vie des diables de Tasmanie

Les jeunes s'aventurent hors de l'abri dès 130 jours après la naissance. Le sevrage survient à 278 jours, à la mi-janvier, ce qui correspond à la fin de l'été. Il s'agit d'une période bénéfique pour les jeunes tout juste sevrés car beaucoup de ressources alimentaires sont disponibles (Pemberton 1990).

L'âge des jeunes peut être estimé grâce à différents critères comme la taille, l'état du pelage, la formation des yeux (apparition des paupières, des cils, ouverture des yeux), des oreilles (formation du pavillon, posture) et de la bouche (forme, attache permanente au mamelon ou liberté des mâchoires). En comparaison avec d'autres classes de mammifères, il est intéressant de noter que jusqu'à 80 jours, les lèvres sont soudées au mamelon, ce qui assure une attache solide du jeune dans la poche. Il ne peut commencer à ouvrir la bouche qu'à partir de 80 jours et lâcher complètement le mamelon à partir de 100 jours. (Guiler 1970b; Phillips, Jackson 2003).

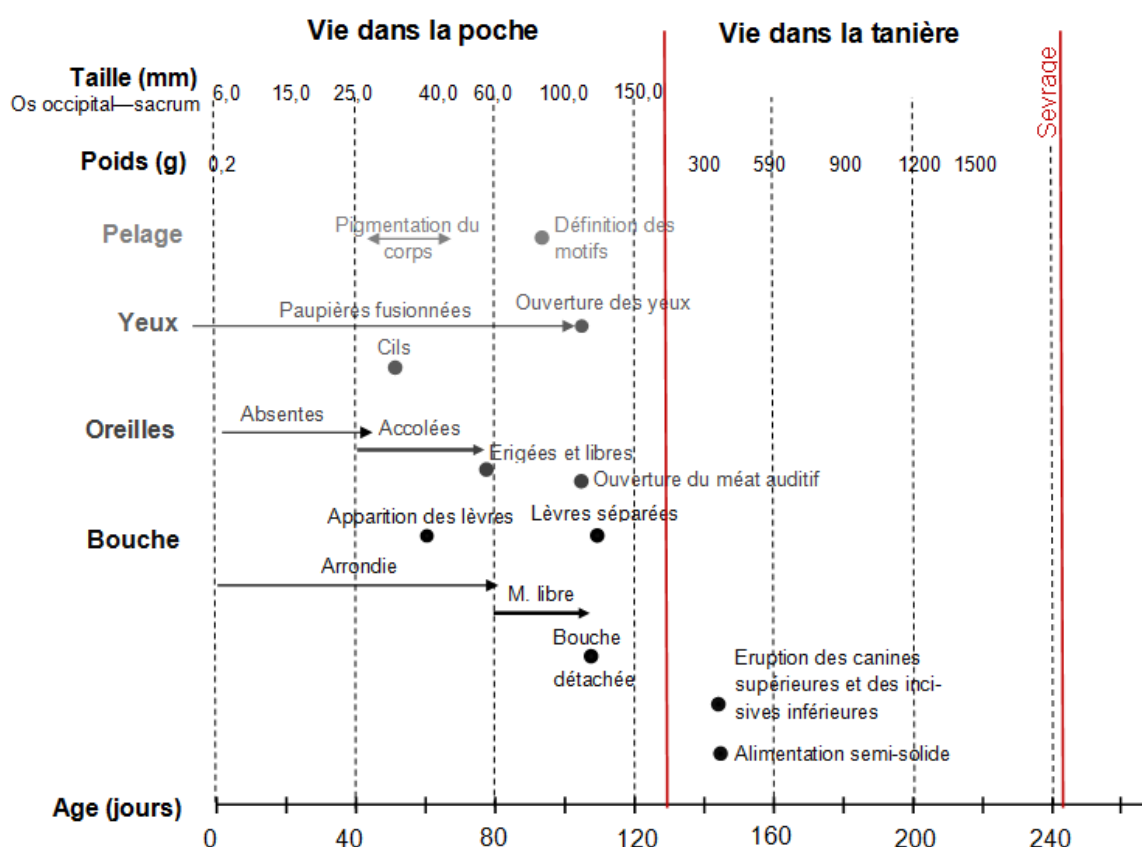


Figure 4 : Paramètres morphométriques et morphologiques permettant de suivre le développement du nouveau-né et du jeune diable de Tasmanie jusqu'au sevrage.

8. Principales maladies

a) Maladies dermatologiques

1. Origine parasitaire

Les diables de Tasmanie portent de nombreux parasites cutanés dont ceux de la gale sarcoptiforme (*Diaboliocptes* spp. et *Satanicocptes* spp.), des tiques (*Ixodes holocyclus* appelée « tique paralytique »), et des puces (notamment *Uropsylla tasmanica*) (Vogelnest, Woods 2008).

2. Mycobactériose cutanée

On retrouve chez les diables de Tasmanie des mycobactéries saprophytes telles que *Mycobacterium chitae*, *M. fortuitum*, *M. ulcerans* et *M. smegmatis*. Elles provoquent des dermatites pyogranulomateuses qui sont souvent secondaires à des blessures par morsure survenant principalement au moment de l'accouplement (Vogelnest, Woods 2008).

b) Maladies gastro-intestinales

1. Origine parasitaire

Les diables de Tasmanie abritent de nombreux parasites intestinaux, dont certains sont communs (comme *Trichinella pseudospiralis* ou trichostrongyloïdes) et d'autres plus spécifiques (comme *Dasyurotaenia robusta* et *Anoploetaenia dasyuri*). La plupart de ces pathogènes ne provoquent pas de signes cliniques et sont des découvertes d'autopsie. Leur présence peut être confirmée par coproscopie avec la méthode de flottaison.

A noter néanmoins que par son spectre d'hôte restreint et le déclin démographique des diables de Tasmanie, *Dasyurotaenia robusta* est en voie d'extinction (Wait et al. 2017).

Des protozoaires des genres *Isospora*, *Eimeria*, et *Cryptosporidium* ont été décrits chez le Diable de Tasmanie (Vogelnest, Woods 2008).

2. Salmonellose

Salmonella spp. est fréquemment isolée à partir des fèces des dasyuridés, notamment *S. mississippi*. Il s'agit néanmoins de découvertes fortuites, généralement sans signes cliniques associés (Vogelnest, Woods 2008).

3. Helicobactériose, campylobactériose

Helicobacter spp. a été détecté par PCR dans l'estomac, l'iléon, le colon et le rectum des diables de Tasmanie, et isolé par culture dans l'estomac et le rectum (Vogelnest, Woods 2008).

4. Maladie de Tyzzer

Il s'agit d'une maladie causée par *Clostridium piliforme* provoquant un abattement, de la diarrhée et la mort subite de l'animal. Le foie contient des foyers blancs correspondant à des zones de nécrose hépatocellulaire. Cette maladie est généralement liée à de mauvaises conditions d'entretien (Vogelnest, Woods 2008).

c) Maladies cardiopulmonaires

1. Pneumonie bactérienne

Il s'agit d'une maladie peu fréquente, provoquant anorexie, dépression, perte de poids, dyspnée et mort soudaine. *Pasteurella multocida* et *Pseudomonas* spp sont communément isolées (Vogelnest, Woods 2008).

2. Mycobactériose

Les agents pathogènes isolés en cas de mycobactériose sont *Mycobacterium avium* et *M. abscessus*. Ils engendrent des pertes de poids, dyspnée, boiterie, signes neurologiques et amaurose. A l'autopsie, des abcès multiples sont observables au niveau des poumons, du foie, de la rate, des reins, de la moelle épinière et autres os, et des nœuds lymphatiques bronchiaux et mésentériques. Histologiquement, on peut voir des foyers de nécrose associés à une réponse cellulaire à prédominance mononuclée avec peu voire pas de minéralisation ou d'encapsulation. Le diagnostic sur animal vivant est difficile, et le test de tuberculination est peu fiable. Le traitement a peu de succès, il est long et difficile. Le contrôle de la maladie est également fastidieux car les animaux asymptomatiques sont difficiles à identifier et ces bactéries sont naturellement présentes dans l'eau et le sol (Vogelnest, Woods 2008).

d) Maladies uro-génitales

Des affections telles que des pyélonéphrites, glomérulonéphrites, glomérulopathies membraneuses, néphrocalcinoses, amyloïdoses rénales, hyperplasies glandulokystites de l'endomètre et endométrites ont été décrites chez des diables de Tasmanie captifs. Les signes cliniques sont alors peu marqués et non spécifiques (Vogelnest, Woods 2008).

e) Maladies neurologiques et musculo-squelettiques

1. Toxoplasmose

Cette maladie est causée par un protozoaire, *Toxoplasma gondii*, dont le Diable de Tasmanie est un hôte intermédiaire. Les marsupiaux sont très sensibles à l'infection. Occasionnellement, on peut constater une cécité, des signes neurologiques, de la léthargie, de l'anorexie et la mort soudaine. L'autopsie ne révèle en général pas de lésions, mais celles qui ont été décrites sont une congestion pulmonaire et une ulcération gastrique. A l'histologie, on peut voir des foyers multiples de nécrose avec des infiltrations lymphoïdes dans les poumons, les muscles squelettiques, les tissus lymphoïdes, le système nerveux central, les glandes surrénales, les intestins, le pancréas, le foie et les reins. Les chats sont les hôtes définitifs et excrètent le parasite dans leurs selles. Les oocystes peuvent survivre 18 mois dans l'environnement. Le traitement a peu de chances de succès et la lutte contre les chats est indispensable (Vogelnest, Woods 2008).

2. Méningo-encéphalite éosinophilique

Cette affection, causée par *Angiostrongylus cantonensis*, provoque de l'ataxie, de la parésie, de l'abatement et la mort de l'animal. Le rat est l'hôte définitif du parasite ; la prévention passera donc par une lutte active contre les rongeurs (Vogelnest, Woods 2008).

3. Maladies dégénératives

La leucomyéloencéphalopathie a été décrite chez les diables de plus de 3 ans et provoque une cécité, puis progressivement des ataxie et parésie. Aucun traitement n'est actuellement disponible. Les diables peuvent également souffrir de hernie discale, particulièrement en région lombo-sacrée, ou de spondylose (Holz, Little 1995; Vogelnest, Woods 2008).

f) Maladies néoplasiques

Les dasyuridés sont particulièrement sujets aux maladies néoplasiques, au moins quatre fois plus que chez les autres mammifères (incidence de 46% contre 2-10%). Vingt-six types de maladies néoplasiques ont été décrites chez les diables de Tasmanie (Ladds 2009). Les principales tumeurs décrites sont le carcinome des cellules squameuses périméales ou buccales, l'hépatome, l'adénocarcinome mammaire, l'hyperplasie ou adénome des glandes sébacées, l'adénome ou adénocarcinome de la thyroïde, le lymphosarcome cutané ou disséminé extensif, le

léiomyome pylorique, et enfin la maladie tumorale faciale du Diable de Tasmanie (*Devil Facial Tumour Disease* ou DFTD). Souvent, plusieurs types de tumeurs sont associées (Vogelnest, Woods 2008; Ladds 2009).

g) Zoonoses

Des mycobactéries atypiques peuvent causer une pneumonie chez les individus immunodéprimés. En outre, beaucoup de dasyuridés sont porteurs asymptomatiques de salmonelles et autres pathogènes entériques pouvant provoquer chez les humains des maladies gastro-intestinales. Enfin, la forte exposition bactérienne en cas d'inhalation ou d'ingurgitation de fèces ou écoulements biologiques peuvent entraîner des troubles généraux chez l'Homme (Vogelnest, Woods 2008).

9. Transport, manipulation et soins

a) Capture et manipulation

La manipulation de *Sarcophilus harrisii* ne doit être effectuée que dans des conditions sécurisées, car il est probable que l'animal, particulièrement s'il est captif, essaie de mordre les opérateurs. Etant donnée la denture du Diable de Tasmanie, les blessures infligées peuvent être sévères. La manipulation et le transport de courte durée peuvent être effectués à l'aide d'un sac en toile de jute. Les individus peuvent être attrapés à l'aide d'un filet, ou saisis par la base de la queue avant d'être placés dans un sac. Il faudra alors surveiller attentivement l'animal, qui est capable de mâchonner le sac pour se libérer. L'utilisation du sac permet en général à l'animal de se calmer, en ôtant les stimuli visuels. (Vogelnest, Woods 2008).

b) Contention chimique

Un jeûne pré-anesthésique de 6 à 8h est recommandé, bien que les diables soient peu susceptibles de régurgiter une fois endormis. Le transport ne nécessite en général pas de sédation mais les animaux les plus nerveux peuvent bénéficier d'une sédation légère au diazepam.

L'induction volatile au masque est la voie privilégiée chez les dasyuridés, avec un circuit non-réinhalatoire et de l'isoflurane. Cependant, une attention particulière doit être apportée au moment de l'induction car l'animal peut essayer de se dégager du masque, voire de mordre l'opérateur. Pour des procédures de durée prolongée, il est possible d'intuber un diable. Si l'anesthésie gazeuse est impossible, des agents

injectables peuvent également être utilisés (tilétamine-zolazépam ou xylazine-kétamine) (Vogelnest, Woods 2008).

c) Relâcher à l'état sauvage

Les diables de Tasmanie captifs sont susceptibles d'être imprégnés, aussi les individus destinés à être relâchés à l'état sauvage doivent être exposés au minimum au contact des humains. Ils doivent être en parfaite santé, avoir un comportement sauvage et être relâchés à la tombée de la nuit. De la nourriture doit leur être fournie pendant un certain temps après le relâcher, jusqu'à ce qu'ils acquièrent une technique de recherche de nourriture voire de chasse développée (Jackson 2007).

II. MENACES ET ENJEUX

1. Histoire

Si le Diable de Tasmanie est aujourd'hui cantonné à la Tasmanie, il n'en a pas toujours été ainsi. En effet, des os de diables vieux de 430 ans ont été identifiés en Australie occidentale dans les années 1970 (Archer, Baynes 1972). Des explications possibles de leur extinction sur le continent australien incluent une modification du climat devenant de plus en plus sec et réduisant par conséquent l'habitat des diables, la compétition alimentaire avec les dingos, chiens sauvages introduits depuis l'Asie du sud-est il y a 3500-12000ans (Savolainen et al. 2004), et la chasse par les tribus aborigènes (Van Dyck, Strahan 2008).

Au moment de l'établissement européen en Tasmanie, au début du XIX^{ème} siècle, les diables étaient tenus responsables de mortalité du bétail. Alors peu appréciés, ils ont été chassés pendant plus d'un siècle, au point de voir leur tête mise à prix dans les années 1930. Des fluctuations notables de la population ont été rapportées, notamment au début du XX^{ème} siècle, mais sans autre précision concernant l'ampleur du phénomène ou sa cause, bien que l'apparition d'une maladie ait rétrospectivement été suspectée (Hawkins et al. 2006; McCallum, Jones 2006).

Par ailleurs, les diables ont fait l'objet d'un empoisonnement à la strychnine d'abord involontaire via la lutte contre les lapins, espèce nuisible en Australie, puis volontaire de la part des paysans. Depuis le remplacement de la strychnine dans les années 1950 par le monofluoroacétate de sodium qui cible plus particulièrement les lapins et les wallabies, l'empoisonnement des diables de Tasmanie a

considérablement diminué. Finalement, ces persécutions menant au déclin de sa population, l'espèce a bénéficié d'une protection légale à partir de 1941 (DPIPWE 2014a; STDP [sans date]).

2. Menaces actuelles

a) Maladie tumorale faciale du diable de Tasmanie (DFTD)

Les premiers cas de la maladie tumorale de la face du diable de Tasmanie (de l'anglais *Devil Facial Tumour Disease*, DFTD dans la suite), ont été décrits dans le Parc National de Mount William, dans le nord-est de la Tasmanie en 1996, où plusieurs individus ont été observés avec des tumeurs sur la face (Hawkins et al. 2006). En 2001, la maladie a également été décrite dans le Parc National de Freycinet, 150km plus au sud, avec une réduction notable de la population locale (McCallum et al. 2007). En 2005, neuf ans après la description du premier cas, la maladie était décrite sur 51% de l'aire de distribution du Diable de Tasmanie (Hawkins et al. 2006; McCallum, Jones, Lunney 2008). Sa distribution et son évolution ont laissé suspecter le caractère infectieux de cette maladie et rapidement une lignée cellulaire cancéreuse transmise par morsure lors des interactions sociales a été suspectée comme étant l'agent étiologique de cette affection (Hawkins et al. 2006). En 2004, une équipe de pathologistes, écologues et biologistes de la conservation s'est formée pour mieux comprendre la maladie, surveiller son évolution et sa propagation, et préserver les diables de Tasmanie de l'extinction : le *Save the Tasmanian Devil Program* (STDP dans la suite).

b) Mortalité sur la route

Parmi les états australiens, la Tasmanie est celui qui connaît la plus grande mortalité animale sur la route (Hobday, Minstrell 2008). Plus d'une cinquantaine de taxons concernés par cette mortalité ont été répertoriés, dont la plupart ne sont pas des espèces menacées d'extinction. Le Diable de Tasmanie fait partie des victimes. Il s'agit de la dixième espèce la plus concernée par la mortalité sur la route (Hobday, Minstrell 2008). Entre 2010 et 2013, le recensement indiquait, pour un site particulièrement sensible, une mortalité annuelle de 8,8% chez les diables (STDP, données non publiées). Entre 2010 et 2016, en moyenne 376 diables accidentés par an ont été signalés au STDP dans la suite (STDP 2017a). Ces chiffres sous-estiment la mortalité réelle des diables, car les diables trouvés morts sur la route ne sont pas

tous signalés. Il s'agit de la deuxième cause de mortalité des diables de Tasmanie après la DFTD.

Le simple comportement du diable peut permettre d'expliquer ces résultats : il se déplace le long des routes et peut voyager sur de longues distances (Owen, Pemberton 2011), il se nourrit de carcasses de mammifères comme les wallabies, les thylogales, ou les opossums d'Australie, autant d'espèces particulièrement concernées par la mortalité sur la route (Hobday, Minstrell 2008). De plus, il s'agit d'un animal nocturne, au pelage principalement noir, difficile à voir sur une route après la tombée de la nuit.

c) Modification de l'habitat

Le changement climatique désigne des modifications lentes mais significatives des caractéristiques climatiques en un endroit donné au cours du temps. Il s'agit d'un phénomène global, dont l'impact peut être mesuré de différentes façons ce qui permet d'en décrire les conséquences dans plusieurs dimensions (économie, agriculture, biodiversité, etc.). Les modèles prévoient une expansion des zones climatiques arides. Ainsi, les contraintes imposées sur les différentes espèces animales peuvent être fortes et impliquent notamment une modification de l'habitat, qui peut par conséquent ne plus être adapté à une espèce (Garcia et al. 2014).

De plus, tous les paysages présents en Tasmanie ne correspondent pas aux types d'habitat privilégiés des diables. En effet, ils semblent que cette espèce préfère les forêts ouvertes, peu denses et herbeuses aux forêts humides denses et aux paysages sans couverture (Jones, Barmuta 2000; Jones et al. 2004)

Les paysages tasmaniens sont de plus en plus fragmentés, en lien avec le développement urbain et agricole, créant ainsi de grands espaces sans couverture buissonnante ou arborée, qui ne sont pas propices aux diables. Ainsi, ceux-là voient leur habitat modifié mais aussi de plus en plus restreint (Jones 2003a; Jones et al. 2004)

Enfin on peut également citer la prédation directe sur les jeunes et la compétition alimentaire avec les chats sauvages et les renards, même si la présence de ces derniers sur l'île est aujourd'hui controversée.

3. Evolution démographique

a) Impact de la DFTD

Très répandu sur toute l'île de Tasmanie mais absent des plus petites îles au large avant l'apparition de la DFTD, le Diable est présent à toutes les altitudes (0-1617m), dans tous les types majeurs de végétations, mais plus particulièrement dans les régions agricoles où on peut trouver beaucoup de carcasses d'animaux de production ou de macropodes. Dans le sud-ouest, plus sauvage et plus dense, l'espèce semble être présente principalement autour des grands cours d'eau (Rounsevell, Taylor, Hocking 1991).

Au début des années 1990, une étude estimait la population de diables de Tasmanie à 130 000-150 000 individus (Jones, Rose 1996). Suite à l'apparition de la maladie en 1996, la population de diables a diminué significativement. Des suivis annuels par comptages nocturnes menés entre 1992 et 2009 ont indiqué une baisse de 80% des observations de diables de Tasmanie sur l'ensemble de l'Etat (STDP 2011). De même, les populations suivies annuellement par méthode de capture-marquage-recapture avant et après apparition de la maladie ont montré jusqu'à 80% de déclin (Hawkins et al. 2006; Lunney, Jones, McCallum 2008). Dans la partie nord-est de la Tasmanie, là où la maladie a été décrite pour la première fois, la population a diminué de 95% (McCallum et al. 2007). En 2007, la population de diables de Tasmanie à l'état sauvage était estimée entre 20 000 et 50 000 individus (STDP 2011).

b) Perspectives

Les modélisations visant à évaluer la progression de la maladie et à estimer la taille de la population se basent sur différentes hypothèses résultant des observations de terrain : (i) Il est considéré que la maladie se transmet par contact direct (alimentation collective, accouplement), la transmission verticale n'ayant jusque-là pas été décrite ; (ii) la période d'incubation est estimée à 6 mois ; (iii) aucun hôte réservoir n'a pour l'instant été décrit (Hawkins et al. 2006; McCallum et al. 2007).

Sur la base de ces hypothèses, deux modèles épidémiologiques sont possibles. Si la transmission est dépendante de la densité, un agent pathogène ayant un hôte unique ne peut pas mener l'espèce à l'extinction. En effet, en-dessous d'un certain seuil de densité de population, l'agent pathogène ne sera pas en mesure de se répandre efficacement et par conséquent, il ne devrait pas mener l'espèce à

l'extinction. Dans ce cas, les modèles prévoient une population de diables se stabilisant à 15% de sa capacité, et une maladie qui perdurera à une prévalence de 7% (Hawkins et al. 2006; McCallum et al. 2007).

Cependant, si la transmission est fréquence-dépendante, il n'existe pas de seuil en-dessous duquel la maladie perd sa capacité de propagation. En d'autres termes, une maladie dont la transmission dépend de la fréquence peut tout à fait mener une espèce à l'extinction, au moins locale, et ceci même sans l'existence d'une espèce réservoir (Hawkins et al. 2006; McCallum et al. 2007). Bien qu'il soit difficile de caractériser le type de transmission d'une maladie, de nombreux arguments sont en faveur d'une transmission fréquence-dépendante : (i) le fait qu'un diable du sud-ouest, où les densités de diables sont pourtant faibles, ait été trouvé atteint de DFTD (McCallum et al. 2007); (ii) la persistance de la maladie dans le nord-est, où elle est apparue pour la première fois, alors que la population a connu un déclin de plus de 90% (McCallum et al. 2007, 2009) ; le fait que la maladie se transmette par contact lors de l'accouplement (Hamede, McCallum, Jones 2008). Dans ce cas de figure, les modèles prévoient une extinction de l'espèce sur l'ensemble de la Tasmanie d'ici 2032 à 2042, voire plus tôt localement (McCallum et al. 2007).

4. Enjeux écologiques

a) Le diable, charognard et nettoyeur environnemental

Les charognards, qu'il s'agissent d'espèces mammifères ou aviaires, sont aujourd'hui reconnus pour le service écologique qu'ils fournissent en faisant disparaître les carcasses de l'écosystème (Moleon et al. 2014; Inger et al. 2016). En particulier, les carcasses non consommées peuvent jouer un rôle dans la transmission de maladies infectieuses (Markandya et al. 2008; Turner et al. 2014). Le rôle joué par les charognards a longtemps été sous-estimé mais est néanmoins prépondérant dans les systèmes écologiques (Moleon, Sanchez-Zapata 2015).

b) Le diable, un superprédateur

Dans l'écosystème qu'est le sien, le Diable de Tasmanie est un superprédateur, ou prédateur alpha (Hollings et al. 2014). Il s'agit d'un prédateur au sommet de la chaîne alimentaire, se nourrissant d'autres prédateurs mais n'étant la proie d'aucune autre espèce une fois adulte. Les autres prédateurs mammifères de Tasmanie, par ordre décroissant de gabarit, sont le Dasyure tigre (*Dasyurus maculatus*), le Chat

sauvage (*Felis catus*) et le Chat marsupial moucheté (*Dasyurus viverrinus*). Ces espèces sont des mésoprédateurs, c'est-à-dire que ce sont des prédateurs de rang inférieur dans la chaîne alimentaire. Les superprédateurs jouent un rôle majeur dans le maintien des écosystèmes en régulant les populations d'animaux herbivores et de mésoprédateurs (Terborgh et al. 1999). Dans le contexte de la Tasmanie, le diable permet de réguler les populations de chats marsupiaux, mais aussi des chats sauvages, introduits il y a 200 ans lors de l'établissement des européens sur l'île (Hollings et al. 2014). Ainsi, dans les zones les plus touchées par la DFTD, une augmentation de la population de chats sauvages est corrélée au déclin des diables de Tasmanie. Les chats sauvages sont en compétition alimentaire avec les chats marsupiaux et exercent une prédation sur les jeunes de plusieurs espèces. On voit donc que le rôle régulateur des diables de Tasmanie, une fois supprimé, peut avoir un impact écologique plus étendu que la simple extinction de l'espèce.

c) Le diable, hôte de parasites spécifiques

A ce jour, cinq espèces de parasites intestinaux et cutanés ont été décrits exclusivement chez le Diable de Tasmanie : *Dasyurotaenia robusta*, *Satanicoptes armatus*, *Diabolicoptes sarcophilus*, *Neodiplostomum sarcophili* et *Woolleya sarcophili* (Wait et al. 2017). La disparition du diable pourrait par conséquent entraîner le déclin voire l'extinction de ces espèces parasitaires, en particulier *D. robusta* qui figure sur la liste des espèces « Rares » (*Threatened Species Protection Act* 1995). Or, les parasites jouent un rôle important dans la santé des écosystèmes, en préservant la biodiversité (Hudson, Dobson, Lafferty 2006).

La survie du diable de Tasmanie n'a donc pas d'importance uniquement à la simple échelle de sa propre espèce. A cause du rôle qu'il joue dans son milieu, sa disparition aurait un impact important sur l'île de la Tasmanie et pourrait bouleverser l'équilibre écologique en place, menant éventuellement d'autres espèces vers l'extinction, ce qui engendrerait une perte de biodiversité majeure dans ce système.

En outre, le diable de Tasmanie a une valeur culturelle et économique, puisqu'il est emblématique de la Tasmanie, connu internationalement, avec des répercussions économiques indirectes à travers de nombreux produits dérivés à son effigie, et directes à travers l'écotourisme (Hawkins et al. 2006).

5. Espèce protégée

Sarcophilus harrisii est protégé par la loi et fait l'objet de recommandations internationales concernant sa protection et la gestion de sa population.

Cette espèce est déclarée « En Danger » au niveau de l'état de Tasmanie, du Commonwealth et sur la scène internationale.

- « Vulnérable » de 1995 à 2009 dans le *Threatened Species Protection Act* de 1995, acté par le gouverneur de l'état de Tasmanie, puis « En danger » depuis 2009 (*Threatened Species Protection Act* 1995);

- « En Danger » depuis 2008 dans l'*Environment Protection and Biodiversity Conservation Act* de 1999 (*Environment Protection and biodiversity Conservation Act* 1999) ;

- « En Danger » depuis 2008 sur la Liste Rouge de l'*Union Internationale pour la Conservation de la Nature* (Hawkins et al. 2008). Le Diable de Tasmanie n'a pas de statut CITES.

Si les deux premières déclarations font partie de lois permettant d'encadrer la gestion de la population de diables de Tasmanie et de punir toute action qui pourrait porter atteinte à leur préservation, ce n'est pas le cas de l'inscription sur la Liste Rouge de l'UICN, qui permet de définir la gravité de la situation et qui procure aux gouvernements et aux associations de conservation une expertise et des outils pour les aider à mettre en place des mesures de protection et de conservation.

PARTIE 2 : LA MALADIE TUMORALE FACIALE DU DIABLE DE TASMANIE

I. LA PREMIERE MALADIE TUMORALE FACIALE

1. Caractéristiques de la maladie

a) Premières apparitions

Les diables de Tasmanie ont fait l'objet de la curiosité de plusieurs biologistes et écologues pendant la seconde moitié du XX^{ème} siècle. Durant des études de terrain ayant permis d'attraper plus de 2000 diables de Tasmanie entre 1964 et 1995, aucun signe de la maladie tumorale faciale du diable de Tasmanie (DFTD) n'a été rapporté. Cependant, en 1996, des photographies prises au Parc National de Mount William dans le nord-est de la Tasmanie (Australie) montrent plusieurs diables présentant de multiples tumeurs au niveau de la face, comme le montre la **Figure 5** (Hawkins et al. 2006).



Figure 5 : Diable de Tasmanie atteint de DFTD.
Photographie empruntée à McCallum et Jones, 2006.

Dans les années qui ont suivi, des lésions similaires ont été décrites dans d'autres endroits de l'île, à quelques dizaines de kilomètres (**Figure 6**). A partir de 2001, face à une réduction drastique de la population dans différentes zones de la Tasmanie, des biopsies et des tumeurs ont été prélevées sur des diables affectés dans différentes parties de la Tasmanie pour tenter de comprendre la nature de ces tumeurs, et une équipe de chercheurs et de biologistes de la conservation a été

rassemblée pour assurer la préservation de l'espèce dans son milieu naturel (Hawkins et al. 2006).

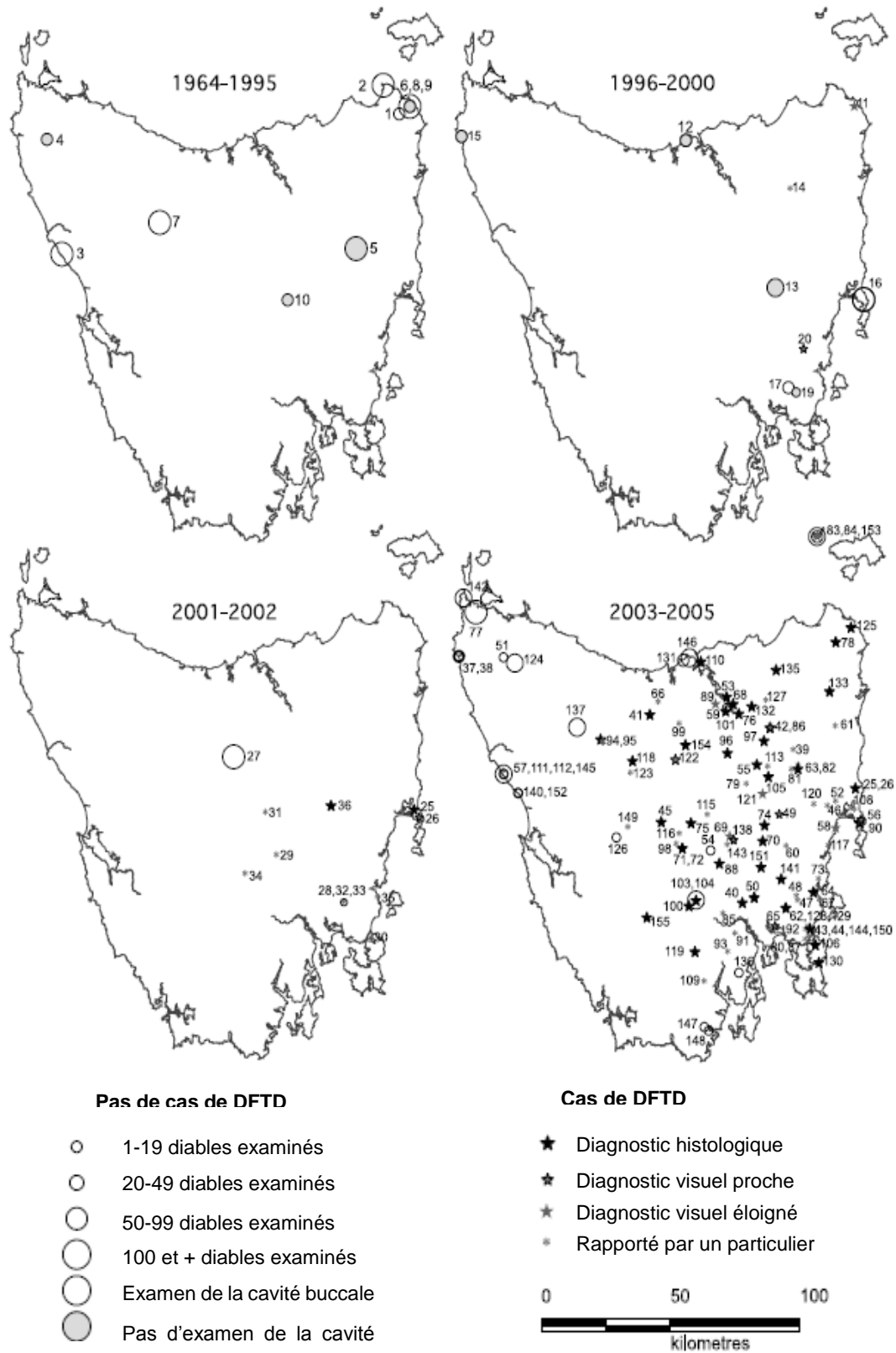


Figure 6 : Distribution des populations de diables sauvages, avec et sans la maladie, à partir de rapports collectés depuis 1964. Traduit de l'anglais à partir de Hawkins *et al.*, 2006.

b) Un agent pathogène peu commun

Très rapidement, les motifs de dispersion spatio-temporels de la maladie et la localisation des lésions (cavité buccale, face et parfois arrière-train) ont laissé supposer aux biologistes et écologues que la DFTD était une maladie infectieuse (McCallum, Jones 2006; McCallum et al. 2007). Concernant l'agent étiologique, les premières hypothèses évoquaient des facteurs environnementaux ou un agent vectorisé (Pye, Woods, Kreiss 2016). Une autre hypothèse longuement retenue était celle d'un lymphosarcome provoqué par un rétrovirus (Jones 2003b; Ladds et al. 2003; Mooney 2003). On craignait alors que le virus soit passé de son espèce hôte d'origine à un nouvel hôte, en l'occurrence le Diable de Tasmanie, naïf vis-à-vis de ce virus (Jones 2003b), mais aucune particule virale n'a jamais pu être isolée (Loh, Bergfeld, et al. 2006).

L'agent pathogène est une lignée cellulaire clonale

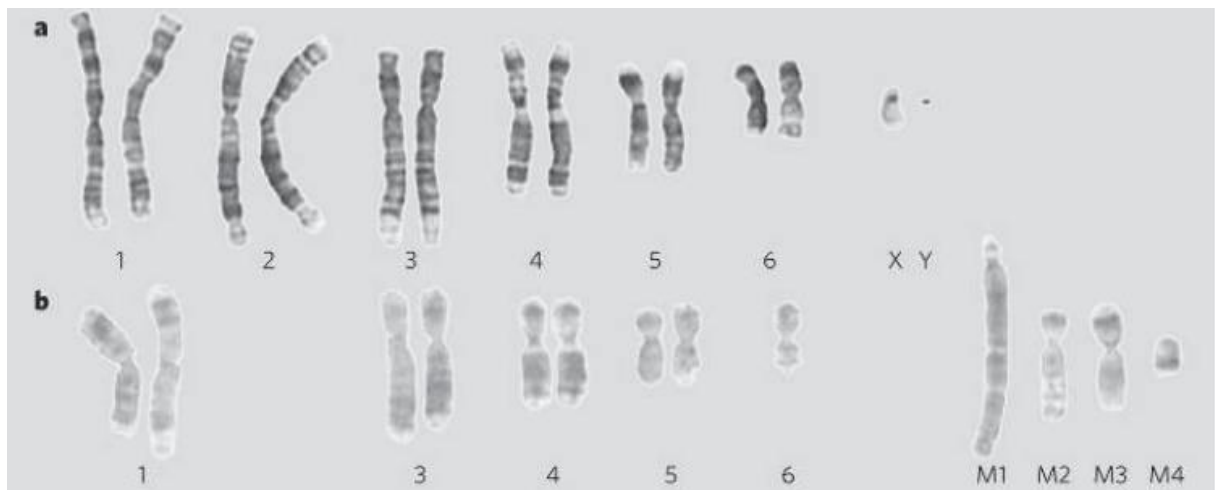


Figure 7 : Caryotypes normal et tumoral du Diable de Tasmanie. **a)** Caryotype normal d'un diable mâle. **b)** Caryotype tumoral anormal trouvé dans chacune des tumeurs étudiées, chez les 11 individus prélevés. Traduit de l'anglais à partir de Pearse et Swift, 2006.

Une étude du caryotype des diables de Tasmanie et de leurs tumeurs associées, conduite par Pearse, Swift (2006), a alors soulevé l'hypothèse que l'agent pathogène serait une lignée cellulaire tumorale agissant comme une allogreffe. En effet, le caryotype normal d'un diable présente 14 chromosomes (7 paires), dont les chromosomes sexuels XX ou XY (**Figure 7**). Le caryotype des cellules tumorales, en revanche, ne présente que 13 chromosomes, et ceux-ci ont subi des réarrangements chromosomiques complexes. Les deux chromosomes 2 et sexuels, et un des deux

chromosomes 6 ont totalement disparus. On peut également remarquer des délétions partielles sur le bras long du chromosome 1, et la présence de chromosomes marqueurs surnuméraires constitués de fragments de chromosomes 1, 5 et X (**Figure 7**) (Deakin et al. 2012). Ces chromosomes marqueurs sont caractéristiques de la maladie, en particulier le marqueur 1 dont la présence est pathognomonique de la DFTD (Caldwell, Siddle 2017).

A noter que le même réarrangement était observable dans toutes les tumeurs alors étudiées, provenant de différents animaux et de différentes régions. De plus, aucune étape intermédiaire de ces réarrangements complexes n'a été observée (Pearse, Swift 2006). L'hypothèse de mutations spontanées chez chacun des diables dans des régions géographiques différentes engendrant des réarrangements identiques dans toutes les tumeurs observées a donc été écartée, considérant sa faible vraisemblance, au profit de la théorie de l'allogreffe selon laquelle les cellules tumorales seraient inoculées telles quelles et se développeraient de façon clonale sur le nouvel hôte (Loh, Bergfeld, et al. 2006; Pearse, Swift 2006). Un autre constat venant soutenir cette hypothèse est l'observation d'une inversion péricentrique du chromosome 5 dans le caryotype constitutionnel d'un des individus. Ce réarrangement, observé dans les cellules de plusieurs tissus sains de cet individu, était absent de ses cellules tumorales. Si la tumeur avait émergé de ses propres cellules, ce réarrangement aurait dû être observé (Pearse, Swift 2006).

D'autres études génétiques des diables et de leurs tumeurs ont permis de venir renforcer ces conclusions, par génotypage conjoint des cellules de l'hôte et tumorales au niveau de loci microsatellites et des gènes codant pour le Complexe Majeur d'Histocompatibilité (Siddle et al. 2007), ainsi que par analyse du génome mitochondrial, et par un séquençage poussé du transcriptome et des microARN (Murchison et al. 2010). La régularité des anomalies génétiques observées sur le caryotype tumoral et lors du génotypage des cellules tumorales prélevées sur des individus différents provenant de régions différentes, suggère une apparition récente de cette lignée cellulaire et renforce la théorie de transmission par allogreffe (Murchison et al. 2010).

La plupart des cancers sont des lignées cellulaires clonales, apparues par des modifications somatiques du génome d'un individu, favorisant la prolifération cellulaire. Généralement, malgré une malignité qui peut permettre de coloniser des tissus

distants de la tumeur primaire et une infinie capacité de clonage, le cancer s'éteint avec son hôte. Dans le cas du Diable de Tasmanie, la transmission de la lignée cellulaire tumorale d'un individu à un autre fait de la DFTD un cancer atypique (Murchison et al. 2012). Bien que les chromosomes sexuels soient non-identifiables voire absents dans les cellules tumorales, Murchison et al. (2012) ont identifié l'individu source, chez qui la lignée clonale a émergé pour la première fois, grâce à l'amplification du gène SRY constitutionnellement présent sur le chromosome Y et à la technique de *reverse painting* associée à l'étude du nombre de copies du chromosome X. Il s'agit d'une technique de biologie moléculaire consistant à marquer différents chromosomes ou fragments chromosomiques *in situ* en les hybridant avec des amorces connues et révélées par fluorescence. Elle permet entre autres de mettre en évidence des aberrations chromosomiques et des réarrangements chromosomiques complexes (Pedersen et al. 1994). Cette technique a permis aux chercheurs de découvrir que l'individu chez qui la DFTD a émergé était un individu femelle, vraisemblablement sauvage et morte avant 1996 (Deakin et al. 2012; Murchison et al. 2012).

Plusieurs lignées tumorales avec des caractéristiques pathologiques différentes

Bien que cette lignée tumorale soit relativement stable depuis l'apparition de la maladie (Deakin et al. 2012; Pearse et al. 2012), elle subit néanmoins un certain nombre de modifications épigénétiques (Ujvari et al. 2012) et chromosomiques (Pearse et al. 2012) au cours du temps. Ainsi, au bout de quelques années et dans différentes régions géographiques, on a pu compter quatre lignées clonales avec chacune des caractéristiques génétiques et phénotypiques différentes (Pearse et al. 2012), comme le montre la Figure 8. La lignée 1 (L1) est la lignée la plus simple, telle que décrite dans la Figure 7. La lignée 2 (L2) est la plus représentée géographiquement. Il est possible que L2 ait donné naissance à L1 par délétion du chromosome marqueur Mar5, mais il est difficile de déterminer avec certitude laquelle est à l'origine de l'autre (Pearse et al. 2012). L3 pourrait émaner de L2, lui étant identique à l'exception d'une délétion partielle sur un des chromosomes 3. L4 semblerait également émaner de L2 : on peut observer une translocation entre un des chromosomes 6 et un des chromosomes marqueurs, une délétion partielle sur un des

bras courts du chromosome 5, et on peut compter un nouveau chromosome marqueur, Mar6. L3 et L4 sont très localisées.

La DFTD ne peut donc plus être considérée comme une unique entité, mais comme une maladie génétiquement dynamique.

Quelle que soit la lignée, la tétraploïdie est fréquente, tout particulièrement pour L1 et L2 (Pearse et al. 2012). De plus, hormis des différences structurelles, les différentes lignées ont des caractéristiques différentes, comme la croissance tumorale : en effet, on constate que L2 est la lignée la plus lente à se multiplier ($13,5 \cdot 10^6$ cellules en 14 jours), alors que L4 est la lignée connaissant la croissance la plus rapide ($53 \cdot 10^6$ cellules en 12 jours) (Pearse et al. 2012). Ainsi, ces différences de croissance pourraient à la fois influencer la période d'incubation, mais aussi la transmissibilité et la létalité. Ceci expliquerait la répartition étendue de L2 sur le territoire tasmanien : une vitesse de croissance moins élevée permet une plus longue survie de l'hôte, ce qui accroît les occasions de dissémination des cellules tumorales (Pearse et al. 2012). En revanche, la répartition géographique restreinte de L4, qui se trouve uniquement sur la péninsule de Freycinet pourrait être expliquée par la croissance rapide de la tumeur, portant rapidement atteinte à la vie de l'hôte qui n'a pas autant d'occasions de disséminer les cellules tumorales (Pearse et al. 2012).

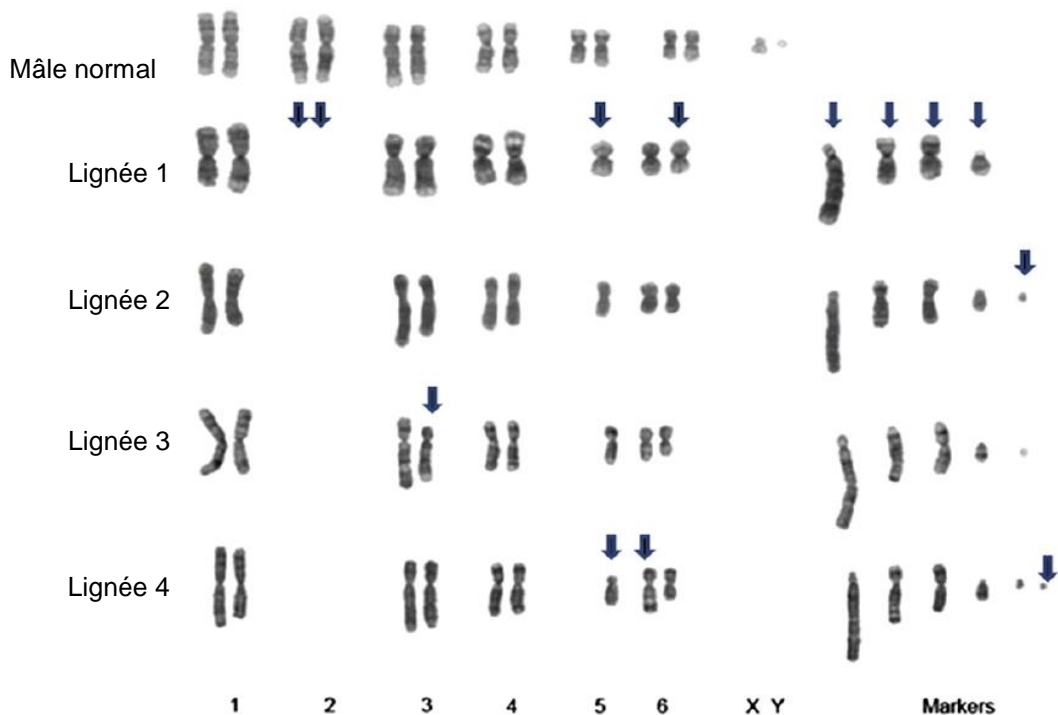


Figure 8 : Caryotypes représentatifs des lignées tumorales 1 à 4. Les modifications chromosomiques sont indiquées par des flèches. Markers = Chromosomes marqueurs (Mar1-5) rangés par ordre de taille décroissante. Traduit de l'anglais à partir de Pearse et al., 2012.

Un sarcome des cellules de Schwann

Bien que la cause d'une modification génétique de cette ampleur soit difficile à déterminer, la possibilité d'un phénomène appelé « chromothripsis » a été évoqué : il s'agit d'une restructuration massive du génome lors d'un événement unique, en partie liée à une perte des télomères et à des cycles de rupture-fusion-pontage (aussi appelé *breakage-fusion-bridge cycles*) à l'origine d'une fragmentation importante du matériel génétique, réparé par la suite avec des erreurs (Deakin et al. 2012). Une telle modification du génome aurait pu entraîner des changements chromosomiques sur des oncogènes ou sur des gènes suppresseurs de tumeurs, permettant ainsi l'émergence d'une lignée tumorale (Deakin et al. 2012). Cette théorie est supportée par la cartographie du génome de *Sarcophilus harrisii*, montrant que beaucoup de gènes liés au développement tumoral sont situés sur le chromosome 1, chromosome ayant subi des modifications structurelles majeures : on trouve en effet des fragments du chromosome 1 sur les chromosomes marqueurs Mar1, Mar2, Mar3, et le chromosome 2 (Deakin et al. 2012).

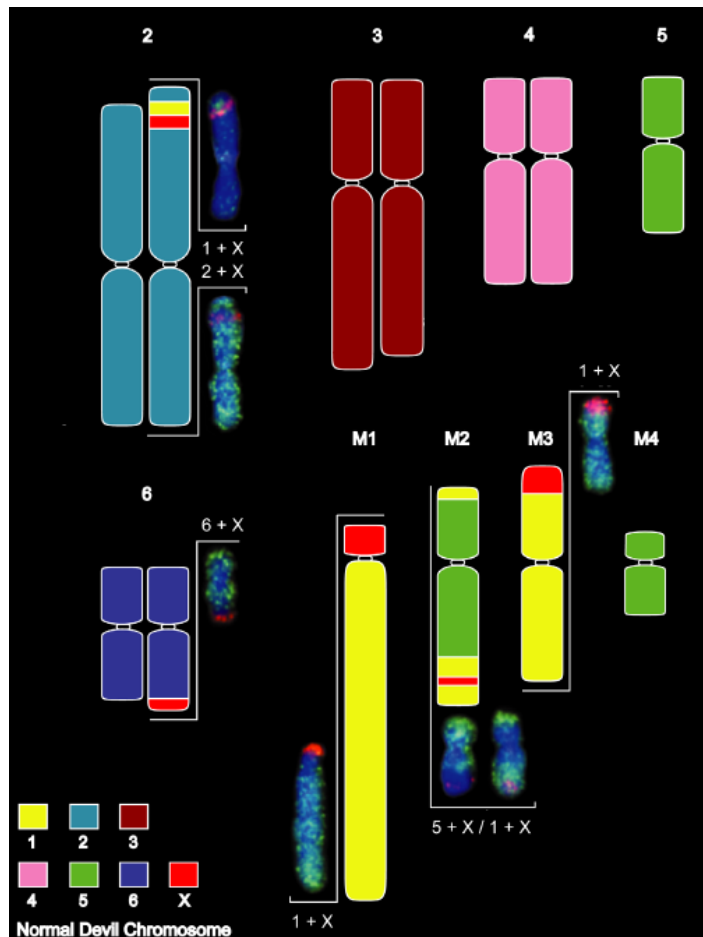


Figure 9 : Résumé des résultats de *reverse painting* appliqué à la lignée 1 de la DFTD. Les fragments chromosomiques ont été colorés en fonction de leur homologie par rapport aux chromosomes constitutionnels d'un diable de Tasmanie. Traduit de l'anglais à partir de Deakin *et al.*, 2012).

Dans un premier temps, il a été supposé que la DFTD était un lymphosarcome (Ladds et al. 2003) mais les analyses histologiques montrant des structures desmosome-*like* (Loh, Bergfeld, et al. 2006) et les analyses immunohistochimiques montrant une faible prise de coloration avec des marqueurs spécifiques des leucocytes (Loh, Hayes, et al. 2006), cette hypothèse a été rapidement écartée. Les tumeurs de la DFTD sont composées de cellules pléomorphes, anaplasiques, sans caractéristiques ultrastructurelles spécifiques ; en d'autres termes, il s'agit de cellules dédifférenciées (Loh, Hayes, et al. 2006). Dans le cadre d'analyses immunohistochimiques, l'utilisation de filaments intermédiaires spécifiques de tissus donnés a permis de montrer qu'il s'agissait d'un sarcome de cellules provenant de la crête neurale (Loh, Hayes, et al. 2006). En outre, les cellules provenant de la crête neurale embryonnaire ne forment pas par la suite des organes bien délimités, mais sont répartis dans tout l'organisme, particulièrement au bout des doigts, dans les

lèvres et à la base des moustaches. Ces deux derniers sites sont justement des points de morsures privilégiés lors des interactions entre les individus (Loh, Hayes, et al. 2006).

Dans leur étude du génome tumoral de la DFTD, Murchison et al. (2010) ont remarqué que le gène le plus exprimé dans les cellules tumorales était le gène MBP codant pour la protéine basique de la myéline. De plus, près de la moitié des gènes exprimés par les tumeurs sont impliqués dans la voie de la myélinisation. En général, une forte expression de ces gènes signe une différenciation des oligodendrocytes (dans le système nerveux central, SNC dans la suite) et des cellules de Schwann (dans le système nerveux périphérique, SNP dans la suite), qui produisent la myéline, une protéine qui entoure les cellules nerveuses en formant une gaine permettant la transmission des influx nerveux. Enfin, les auteurs ont également eu recours à l'immunohistochimie pour colorer les cellules produisant un type de myéline spécifique des cellules de Schwann, la périaxine. Toutes les cellules provenant de tumeurs liées à la DFTD ont ainsi été colorées, ce qui confirme que la DFTD exprime des gènes exprimés spécifiquement par les cellules de Schwann. Ainsi, même s'il reste possible que les tumeurs aient commencé à surexprimer ces gènes après la carcinogénèse, il est plus vraisemblable que la DFTD soit une tumeur émanant de la gaine myélinique des cellules de Schwann, ou d'une cellule précurseur (Murchison et al. 2010). Une hypothèse alternative, mais proche, est que la DFTD ait émergé de cellules neuroendocrines. En effet, ces cellules dérivent de la crête neurale, tout comme les cellules de Schwann, et montrent une expression génique similaire (Murchison et al. 2010; Ujvari et al. 2012).

Caractère transmissible favorisé par l'origine cellulaire de la tumeur ?

Les cellules de Schwann sont impliquées dans la réparation nerveuse après un traumatisme, et sont capables de moduler les réactions immunitaires locales au niveau du SNP. Il est donc possible que ces facultés particulières des cellules de Schwann aient contribué à la transmissibilité des cellules tumorales, faisant ainsi de la DFTD un cancer transmissible (Murchison et al. 2010).

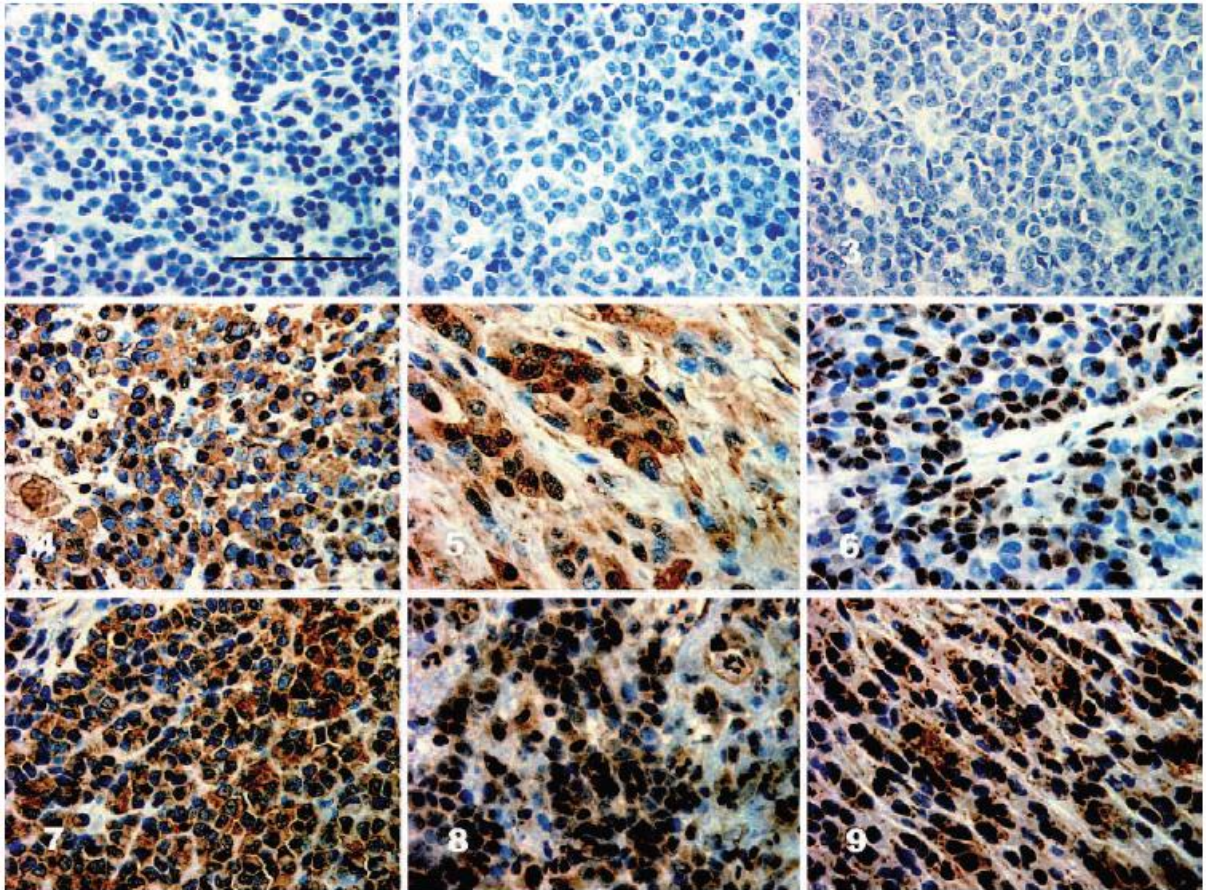


Figure 10: Analyse immunohistochimique d'une tumeur de la DFTD chez un diable de Tasmanie. Barre = 50 μ m. **1)** Coloration négative pour la cytokératine (spécifique des cellules épithéliales). **2)** Coloration négative pour la desmine (spécifique des muscles striés squelettiques et cardiaques, ainsi que des muscles lisses de la couche musculuse de certains vaisseaux sanguins). **3)** Coloration négative pour la protéine acide fibrillaire gliale (GFAP, spécifique des astrocytes, des cellules de Schwann et des cellules gliales entériques). **4)** Coloration cytoplasmique homogène d'intensité modérée à haute pour la vimentine (spécifique des cellules mésenchymateuses et du mésothélium). **5)** Coloration cytoplasmique homogène modérée en plaque pour la S-100 (spécifique des cellules du SNC). **6)** 28% des tumeurs présentaient une coloration positive pour la Melan A (spécifique des mélanocytes). **7)** Expression homogène diffuse de l'Enolase Spécifique des Neurones (NSE, spécifique des neurones et des cellules neuroendocrines). **8)** Coloration cytoplasmique positive de faible densité pour la chromogranine A (spécifiques des cellules endocrines à granulations cytoplasmiques, des cellules nerveux centrales et périphériques, et des cellules neuroendocrines). **9)** Coloration positive granulaire de haute densité pour la synaptophysine (spécifique des cellules neuroendocrines, des cellules nerveuses centrales et périphériques participant à la transmission synaptique). Traduit de l'anglais et adapté à partir de Loh *et al.*, 2006b.

c) Transmission

Il est rapidement apparu aux biologistes et écologues étudiant la maladie que les tumeurs n'apparaissent pas spontanément, mais qu'il s'agissait d'une maladie transmissible (Hawkins et al. 2006; McCallum, Jones 2006; McCallum et al. 2007). De plus, la maladie ne touche pas les animaux captifs, bien que des contacts vectorisés, aéroportés, ou non rapprochés soient possibles. Ainsi, seuls des contacts directs et proches sont susceptibles de transmettre de la lignée tumorale (McCallum, Jones 2006). La transmission virale a été rayée de la liste des hypothèses à différentes

occasions, notamment après recherches de virus par PCR (Loh, Bergfeld, et al. 2006; Murchison et al. 2012). L'hypothèse de la transmission par contact direct est appuyée par la localisation des lésions tumorales : celles-ci sont en effet principalement regroupées dans la cavité buccale et autour de la bouche. Or, les diables de Tasmanie, lors de leurs interactions sociales, se mordent fréquemment autour de la bouche (Loh, Bergfeld, et al. 2006). De ces observations est née la théorie de l'allogreffe, postulant que la lignée cellulaire infectieuse est transmise par contact direct entre les individus qui se mordent les uns les autres lors des interactions sociales (Pearse, Swift 2006; Siddle et al. 2007). Cette théorie a été confirmée expérimentalement en implantant des cellules tumorales à des animaux naïfs, qui ont par la suite développé des tumeurs similaires à celles observées sur le terrain (Pycroft et al. 2007) et lors de l'inoculation sous-cutanée de cellules cancéreuses suivie de croissance tumorale dans le cadre de développement d'un vaccin (Kreiss et al. 2015).

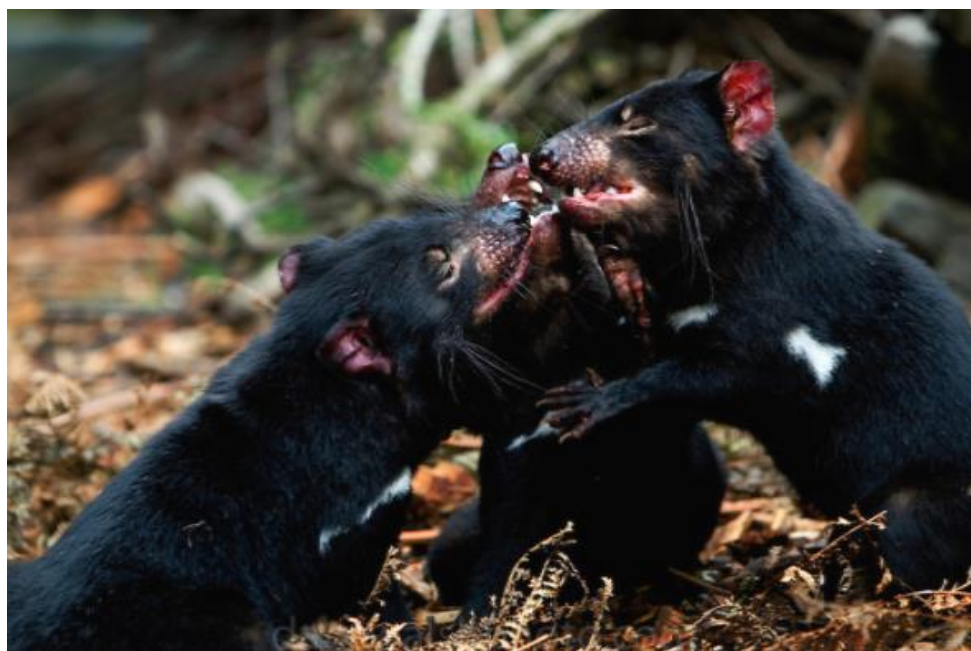


Figure 11 : Trois diables de Tasmanie adultes, apparemment indemnes de DFTD, en train de se mordiller réciproquement. Photographie par David Walsh.

Les diables de Tasmanie sont des animaux solitaires, ce qui n'empêche pas les interactions sociales, principalement pendant deux événements : le repas, souvent partagé autour d'une carcasse, et l'accouplement. Durant ces moments, des liens de dominance ponctuelle sont établis selon le résultat d'interactions impliquant un affrontement allant parfois jusqu'à des morsures (Hamede, McCallum, Jones 2008). En essayant de décrypter ces interactions plus en détails avec leur potentielle implication dans la transmission de la maladie, Hamede, McCallum et Jones (2008)

ont mis en évidence que la transmission par morsure est plus vraisemblable d'arriver pendant la saison de reproduction plutôt que pendant les interactions liées à la prise alimentaire (**Figure 11**). Sur la période d'étude, les auteurs ont en effet trouvé que les adultes qui se reproduisent présentent plus de signes de morsures sur la face que les subadultes. De plus, les morsures chez les adultes sont plus fréquentes à la saison de reproduction. Enfin, pour que la lignée tumorale puisse se développer, il faut une morsure profonde, capable d'inoculer des cellules dans ou sous le derme. Or, ce type de blessures est infligé en grande partie lors des affrontements liés à la reproduction. Il semblerait de plus que la transmission se fasse du mordu au mordeur : en effet, étant donné la localisation des lésions et le comportement naturel des diables, la scénario de transmission le plus vraisemblable est qu'un animal dominant présentant des microlésions sur la face et dans la bouche morde un animal dominé présentant des tumeurs sur la face (Hamede, McCallum, Jones 2013).

Cette découverte est cruciale sur de nombreux plans : elle permet d'identifier les individus particulièrement à même de propager la maladie, appelés « superpropagateurs » (Hamede, McCallum, Jones 2008), mais aussi d'anticiper la dynamique de la maladie et de savoir si elle a le potentiel ou non de mener l'espèce vers l'extinction. En effet, lorsqu'une maladie est dépendante de la densité, il existe un seuil de taille de population en-dessous duquel la maladie ne peut plus être transmise, ce qui implique que la maladie seule n'est pas à même d'engendrer l'extinction, même locale, d'une espèce. En revanche, lorsque la maladie est dépendante de la fréquence, il n'existe pas de tel seuil et la maladie peut potentiellement mener l'espèce vers une extinction, au moins locale. Dans leur étude, Hamede, McCallum et Jones (2008) ont montré que les interactions liées à la prise alimentaire sont dépendantes de la densité de population. En revanche, une transmission liée à l'accouplement est dépendante de la fréquence et non de la densité. Ainsi, comme la transmission de la DFTD est principalement liée aux interactions établies pendant la saison de reproduction, il est vraisemblable qu'elle soit dépendante de la fréquence et non de la densité de la population, ce qui implique que la DFTD est potentiellement capable de conduire le diable de Tasmanie vers l'extinction, même lorsque les densités de population sont très faibles (Hamede, McCallum, Jones 2008; McCallum et al. 2009). Cette hypothèse est soutenue par des observations sur le terrain : en effet, dans certaines zones affectées par la maladie, la population a drastiquement chuté en quelques années, parfois jusqu'à 90%. Néanmoins, la maladie est toujours en circulation dans ces zones,

à une prévalence stable (Hawkins et al. 2006; McCallum et al. 2007). Une transmission verticale de la mère aux jeunes n'a encore jamais été mise en évidence (Hamede, McCallum, Jones 2008).

Dans cette hypothèse différentes techniques permettent de prédire l'issue de la maladie. En utilisant un modèle déterministe, McCallum et al. (2009) ont prédit une extinction possible de l'espèce 15 à 25 ans après l'apparition de la maladie. D'autres auteurs (Hamede et al. 2012) ont utilisé une technique plus complexe permettant d'intégrer les réseaux de contacts afin d'identifier les potentiels superpropagateurs d'une part, et de confirmer que la transmission avait principalement lieu durant les interactions sexuelles d'autre part. Selon la période d'incubation de la maladie et sa transmissibilité, trois scénarios ont été produits : l'extinction de l'hôte, l'extinction de la lignée tumorale, et la coexistence hôte-tumeur. Ainsi, une courte période d'incubation pourrait être à l'origine d'une extinction de l'espèce (car chaque individu a moins d'occasions de se reproduire), ou d'une extinction du pathogène (car il a moins d'occasions d'être dispersé). La coexistence hôte-pathogène semblerait être possible pour une période d'incubation longue, permettant à la fois au pathogène d'être disséminé, mais aussi à l'hôte de pouvoir se reproduire et ainsi de perpétuer l'espèce.

La période d'incubation est estimée aujourd'hui à 6 mois en moyenne mais il existe une forte variabilité (entre 3 mois et 12 mois) probablement liée à des variations génotypiques et phénotypiques interindividuelles comme la susceptibilité et le statut immunitaire, mais aussi à des facteurs extérieurs comme la taille de l'inoculum initial et la lignée clonale mise en jeu (McCallum et al. 2009; Hamede et al. 2012). Cette variabilité de la période d'incubation pourrait expliquer l'absence de saisonnalité apparente de la maladie, bien que la transmission en elle-même survienne à une période bien déterminée qu'est la période de reproduction, synchrone dans cette espèce (Hamede, McCallum et Jones 2013). L'absence de marqueur préclinique est aujourd'hui un frein à l'estimation précise de la période d'incubation (Hamede et al. 2012).

d) Epidémiologie

La maladie est à ce jour spécifique du Diable de Tasmanie : elle n'a encore jamais été décrite chez d'autres espèces, même chez ses proches cousins du genre *Dasyurus* qui partagent son habitat et ses pratiques alimentaires (McCallum et al. 2009) ; et aucun test de transmission n'a à ce jour été effectué chez ces espèces (Pye,

Woods, Kreiss 2016). De la même manière, la preuve de l'existence d'une espèce réservoir reste à démontrer (Hawkins et al. 2006).

Géographiquement, la maladie a d'abord été repérée dans le nord-est de la Tasmanie, au Parc National de Mont William (wukalina sur la **Figure 12**) puis s'est étendue vers le sud pour atteindre le Parc National de Freycinet en 2001, la péninsule de Forestier en 2004, et vers l'ouest pour atteindre le Parc National de Narawntapu en 2007, entraînant des réductions rapides de la population (Murchison et al. 2012). Au Parc National de Freycinet, la population a chuté de 60% entre l'apparition de la maladie en 2001 et 2007 (McCallum et al. 2007).

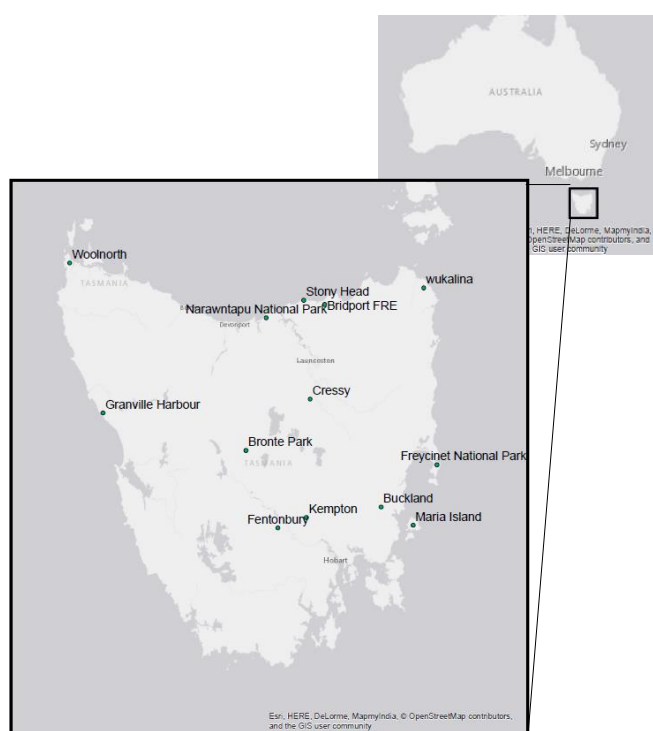


Figure 132 : Carte de l'Australie (en haut à droite) et de la Tasmanie (en bas à gauche) montrant les principaux sites impliqués dans la gestion des populations de diables en lien avec la DFTD. Par Clare Lawrence, STDP.

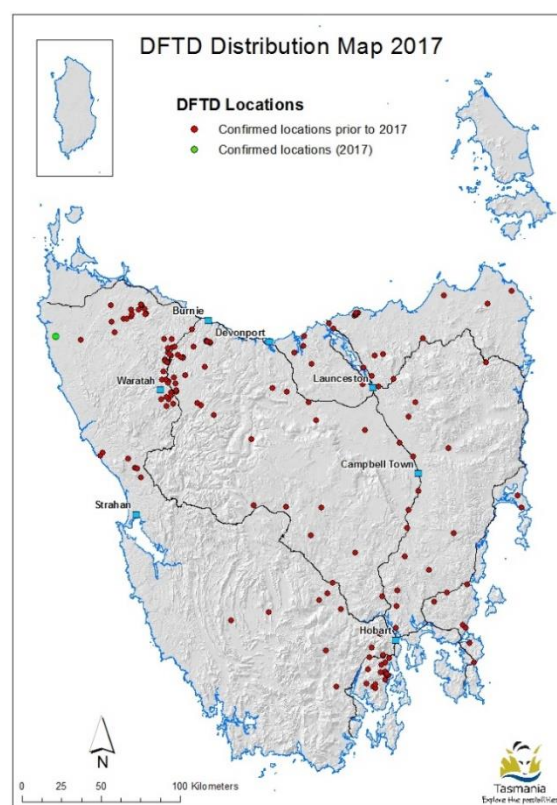


Figure 13 : Carte de distribution de la DFTD en 2017. Par STDP.

A Mont William, la population aurait chuté de 90% dans les huit ans suivant l'apparition de la maladie (Hawkins et al. 2006; McCallum et al. 2007). En effet, après l'apparition de la maladie la prévalence atteint rapidement 50% et la mort de l'animal survient dans les six mois après l'apparition des signes cliniques (McCallum et al. 2009). Enfin, le déclin de la population de diables aurait chuté de 53% sur l'ensemble de la Tasmanie entre le début des années 1990 et le milieu des années 2000 (McCallum et al. 2007).

Aujourd'hui, la maladie est présente sur la grande majorité du territoire tasmanien, même si sa prévalence exacte et ses impacts sont méconnus dans le sud-ouest pour des raisons techniques de faible accessibilité. Seules les îles au large de la Tasmanie (comme Maria Island), la péninsule de Forestier (après dépopulation-repopulation) et Woolnorth (densité de population élevées impliquant une forte émigration) au nord-ouest sont aujourd'hui indemnes avec certitude (**Figure 13**).

Concernant les individus atteints, il n'existe à ce jour aucune preuve indiquant un biais de genre : les mâles et les femelles sont atteints de la même façon (Hamede, McCallum, Jones 2008). En revanche, les observations de terrain montrent clairement que la maladie atteint principalement les adultes, c'est-à-dire les individus ayant au minimum 2 ans (Hawkins et al. 2006; McCallum, Jones 2006; Lachish, Jones, McCallum 2007; McCallum et al. 2007, 2009), même si l'affection de certains subadultes a déjà été décrite dans les zones où la mortalité des adultes est très élevée (Lachish, Jones, McCallum 2007). Cette disparité épidémiologique entre les deux groupes d'âge trouve plusieurs explications : d'une part, les adultes sont plus susceptibles d'avoir des interactions agressives, notamment pour se reproduire, augmentant ainsi les chances de morsures et donc de transmission, et d'autre part ils pourraient être soumis à de plus hauts niveaux de cortisol à cause du stress engendré par la reproduction, ce qui les rendraient plus susceptibles aux maladies infectieuses (Lachish, Jones, McCallum 2007), comme c'est le cas pour d'autres *dasyuridés* proches des diables de Tasmanie, souffrent de dysfonctions immunologiques liés à de hauts niveaux de cortisol suivant la période de reproduction (Boonstra 2005). Cependant, il n'existe pas de preuves allant dans ce sens et les enquêtes épidémiologiques ne montrent pas de biais de genre en ce qui concerne la DFTD (Lachish, Jones, McCallum 2007).

Récemment, Wells et al. (2017) ont établi un lien entre la dominance sociale (qui est le reflet d'une aptitude marquée à la reproduction et à la survie) et les chances d'infection. Ainsi, alors que dans le modèle traditionnel on s'attendrait à ce que les individus les moins aptes à survivre et à se reproduire soient les premiers infectés par la maladie et donc constituent une fraction de la population plus à risque de contracter le DFTD, les résultats prouvent le contraire. Ceci pourrait être expliqué par le fait que les individus dominants, en investissant beaucoup d'énergie dans la reproduction investissent moins dans leurs défenses immunitaires. En outre, cette augmentation des chances d'infection chez les individus dominants est cohérente avec l'hypothèse

selon laquelle la transmission de la maladie se fait plutôt de l'individu mordu vers l'individu mordeur (Hamede, McCallum, Jones 2013). A long terme, la disparition des individus dominants, aptes à la survie et à la reproduction, pourrait poser problème dans la structure sociale des diables, mais aussi restreindre leur capacité d'adaptation à des maladies (Wells et al. 2017).

Des populations de diables géographiquement séparées et présentant des profils génétiques différents, notamment concernant les gènes codant pour les molécules du Complexe Majeur d'Histocompatibilité (CMH dans la suite), semble être affectées de façons différentes, la maladie ayant un impact plus ou moins fort et rapide sur la structure de la population (Siddle et al. 2010; Hamede, Lachish, et al. 2012).

e) Conséquences sur la population

Les études de terrain ont montré, de façon cohérente à travers les différents sites et au fil des années, que la maladie touche avant tout les adultes (McCallum, Jones 2006). Or, l'apparition des tumeurs signant la mort inéluctable de l'animal en environ 6 mois (Hawkins et al. 2006), les classes d'âge les plus élevées de la population disparaissent en quelques années seulement. Dans les sites affectés, il est rare d'attraper des diables ayant 3 ans ou plus (Hawkins et al. 2006; McCallum et al. 2007). Par conséquent, les populations affectées sont des populations très jeunes comparées à ce qu'elles étaient avant l'apparition de la DFTD (McCallum, Jones 2006; Lachish, McCallum, Jones 2009). De plus, les femelles se reproduisant dans les conditions normales à 2 ans, la maladie ne leur laisse plus qu'une opportunité de se reproduire, alors qu'elles peuvent se reproduire jusqu'à 3 à 4 fois dans leur vie en temps normal, soit une fois par an jusqu'à 5 ou 6 ans d'âge (Hawkins et al. 2006; McCallum, Jones 2006). Pour résumer, la maladie tumorale faciale réduit donc la taille de la population par action directe en faisant disparaître les adultes, par action indirecte en ne permettant pas aux individus de contribuer autant qu'avant à renouveler la population, mais également affecte la structure de la population (McCallum et al. 2009).

En conséquence de cette réduction rapide et massive de la population, le taux de consanguinité a augmenté dans plusieurs sites affectés par la maladie, en seulement 2 ou 3 générations après son apparition (Lachish et al. 2011). Par ailleurs, il est fréquent qu'une réduction de la population engendre également une perte de diversité génétique, à la fois par réduction de la diversité allélique mais aussi par une

diminution de l'hétérozygotie, et c'est également ce qui semble arriver aux diables de Tasmanie suite à l'apparition de la DFTD (Lachish et al. 2011) .

f) Pathologie

Les données récoltées sur le terrain montrent une maladie inéluctablement fatale après plusieurs mois de développement tumoral. Cette période est variable, estimée à environ 6 mois (Hawkins et al. 2006). Les cas de survie au-delà d'un an sont extrêmement rares, bien qu'une femelle capturée à Fentonbury pendant le suivi annuel de 2016 présentant une tumeur liée à la DFTD après confirmation histologique ait été recapturée à la même période en 2017, en bon état général, avec une tumeur ayant à peine doublé de volume (STDP, données non publiées).

Actuellement, aucune preuve formelle de résistance n'a été démontrée (Hawkins et al. 2006), et il est encore trop tôt pour savoir si la survie au-delà d'un an de la femelle recapturée à Fentonbury est liée à une quelconque capacité de résistance à la maladie ou à la simple variabilité interindividuelle mentionnée précédemment.



Figure 14: Diables présentant des tumeurs histologiquement confirmées DFTD. **A)** Tumeur cutanée à un stade précoce de développement avec ulcération et sans surinfection. Photographie personnelle. **B** et **C)** Stade de développement tumoral avancé, présence probable de tumeurs cutanées et mucoales, avec ulcération et surinfection secondaire associées. Adaptées à partir de Murchison *et al.*, 2012.

Les tumeurs se développent principalement dans la cavité buccale et sur la face (Hawkins et al. 2006; Pearse, Swift 2006) ; de façon plus ponctuelle, elles peuvent se développer sur l'arrière-train, car il s'agit également d'une zone de morsures assez commune. S'agissant de tissus exogènes non innervés, les tumeurs sont apparemment peu sensibles. D'ailleurs, la biopsie d'une tumeur liée à la DFTD ne provoque pas de réaction chez un diable vigile, alors que la biopsie d'un autre type de tumeur entraîne une réaction rapide et intense chez un diable n'ayant pas reçu au préalable d'analgésie et de sédation adéquates (communication personnelle). Cependant, les tumeurs peuvent grossir rapidement, s'ulcérer et devenir friables

(Pearse, Swift 2006). Etant donnée leur situation, elles peuvent empêcher l'individu de se nourrir, tout en lui dérobant de l'énergie. Ainsi, l'animal meurt le plus souvent de faim et d'épuisement, mais d'autres scénarios comme une septicémie secondaire à l'ulcération des tumeurs et les complications métastatiques sont possibles (Hawkins et al. 2006; Pearse, Swift 2006; Pyecroft et al. 2007).

A l'autopsie, les lésions sont des masses fermes des tissus mous, la plupart du temps bien délimitées, avec un centre aplati à ulcéré et des surfaces exsudatives (**Figure 14**). A la coupe, les masses sont fermes, pâles, multinodulaires avec des septa fibreux visibles et parfois un centre nécrotique. Les masses affectent majoritairement la muqueuse buccale ou la peau de la face, et sont généralement multicentriques.

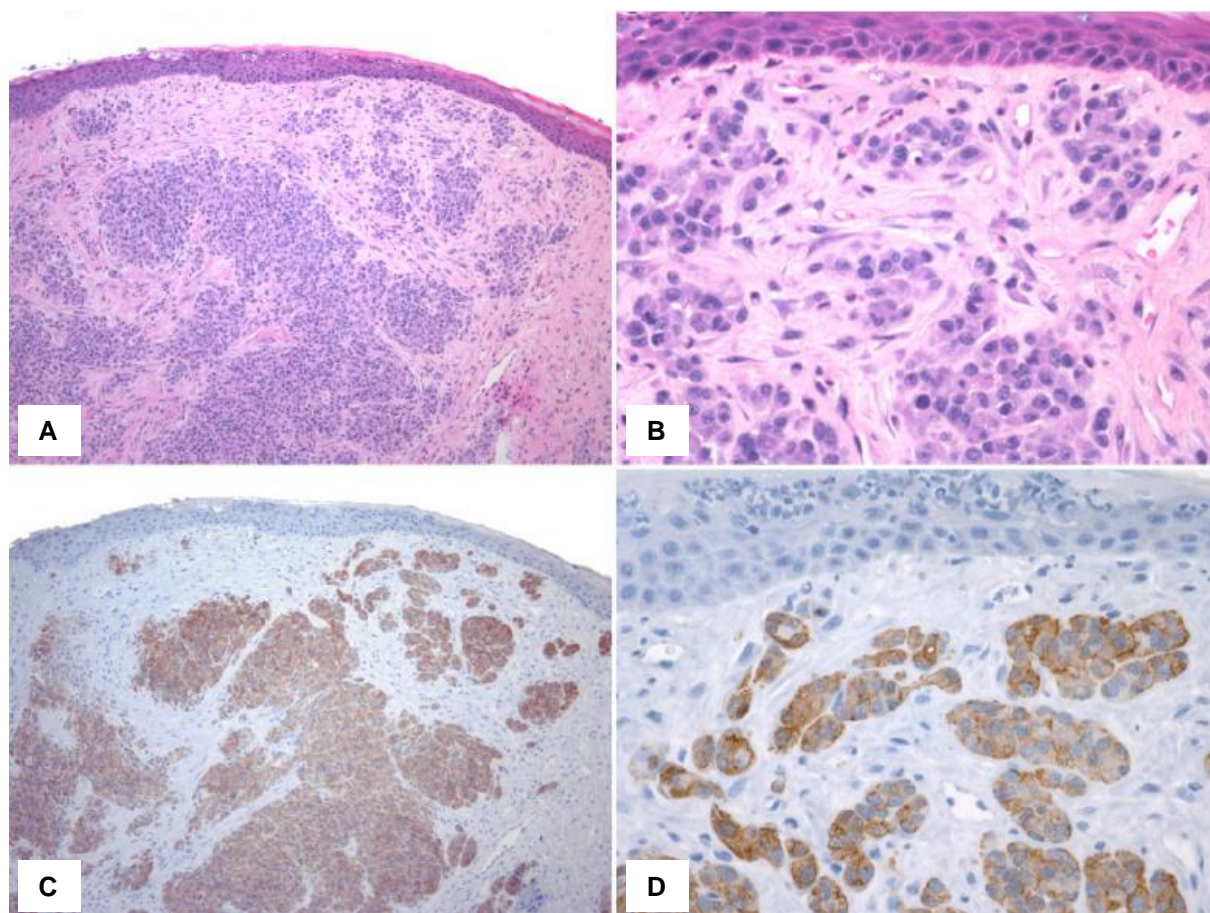


Figure 15 : Devil facial Tumour Disease, coupes histologiques de la peau d'un diable de Tasmanie. **A** et **B** = coloration hémalum-éosine. **C** et **D** = Immunohistochimie marquant la périaxine. **A)** les cellules tumorales sont distribuées dans le tissu sous-cutané en formant des nodules dans le derme et le tissu sous-cutané. **B)** Les cellules néoplasiques sont rondes, plus ou moins agrégées, avec un noyau central et un cytoplasme peu abondant. **C)** Les cellules tumorales sont positives lors de l'immunomarquage pour la périaxine. **D)** Marquage cytoplasmique fortement positif pour la périaxine. Traduit et adapté à partir de Pye *et al.* 2016.

Leur taille peut être importante, les tumeurs atteignant rapidement une taille supérieure à 3cm. Des métastases sont observées dans environ deux-tiers des cas, par ordre décroissant de fréquence dans les nœuds lymphatiques régionaux, dans les poumons, dans la rate et dans le cœur (Loh, Bergfeld, et al. 2006).

A l'histologie, toutes les tumeurs liées à la DFTD ont la même structure microscopique. Elles sont localisées dans le derme ou le tissu conjonctif submucosal de la cavité buccale (**Figure 15**). On peut observer des proliférations multinodulaires de cellules rondes pléomorphes avec un rapport nucléo-cytoplasmique élevé. Les néoplasmes se regroupent en agrégats nodulaires de grande taille, vascularisés, généralement bien circonscrits dans une fine pseudocapsule fibreuse. La nécrose est fréquente. L'infiltration leucocytaire est mineure quand elle est présente (Loh, Bergfeld, et al. 2006; Loh, Hayes, et al. 2006).

A la cytologie, les cellules néoplasiques sont rondes, anaplasiques, mesurant approximativement 8µm de diamètre et contiennent un noyau rond unique basophile, en général bien centré et sans nucléole apparent (Loh, Bergfeld, et al. 2006). Elles forment des agrégats de 6 à 8 cellules. Le cytoplasme, souvent mal délimité, est éosinophile. Peu d'organites sont présents mais on peut distinguer un réticulum endoplasmique rugueux, des ribosomes libres et des polyribosomes. Des filaments du cytosquelette sont présents mais non dominants. Sont également observables des grandes mitochondries, des granules sécrétoires, des vésicules d'endocytose, un appareil de Golgi bien développé, des centrioles et des corps de myéline. Quelques éléments ressemblant à des desmosomes sont apposés à la membrane plasmique. Enfin, les figures de mitose sont présentes mais en faible quantité (Loh, Bergfeld, et al. 2006).

Les similarités microscopiques observées dans des tumeurs prélevées sur des individus différents et parfois géographiquement éloignés laissent suspecter que tous les néoplasmes proviennent du même type cellulaire. Cependant, les cellules sont trop indifférenciées pour pouvoir conclure de leur origine sur la base de critères microscopiques sans préparation particulière (Loh, Bergfeld, et al. 2006; Loh, Hayes, et al. 2006).

A ce stade, le diagnostic différentiel incluait un lymphosarcome non-épithéiotropique, un histiocytome cutané, un sarcome d'Ewing, et un néoplasme

similaire à la tumeur vénérienne transmissible canine (TVTC dans la suite) (Loh, Hayes, et al. 2006).

L'utilisation de techniques d'immunohistochimie impliquant le marquage des filaments intermédiaires et de la périaxine, un type de myéline produit uniquement par certaines cellules nerveuses, a par la suite permis de définir que les cellules tumorales étaient initialement des cellules de Schwann (Loh, Hayes, et al. 2006; Pyecroft et al. 2007). L'analyse du génome des cellules tumorales soutient cette hypothèse : en effet, certains gènes impliqués dans la voie de la myélination sont surexprimés dans les cellules tumorales en comparaison avec des tissus sains (Murchison et al. 2010). Grâce à sa sensibilité élevée, le marquage immunohistochimique de la périaxine pourrait constituer un moyen diagnostique complémentaire (Murchison et al. 2010), mais à ce jour l'examen histologique de routine reste l'examen de choix pour la confirmation des cas de DFTD, par sa fiabilité, sa simplicité et son moindre coût.

2. Mécanismes immunologiques mis en cause

a) Théorie du manque de diversité génétique

Il est fréquent que des populations insulaires présentent moins de diversité génétique que des populations de la même espèce sur un territoire plus grand, comme un continent. Ces populations sont génétiquement plus fragiles, car le brassage génétique est restreint par les contraintes physiques liées à leur isolement. Ainsi, à l'occasion d'une épidémie dévastatrice, de persécutions, de modifications de l'habitat ou de quelque autre cause provoquant une réduction importante et brève de la population, on peut observer un goulot d'étranglement génétique menant à une perte immédiate de diversité génétique. qui peut réduire les capacités d'adaptation à un environnement changeant ou à l'apparition d'un nouveau pathogène (Jones et al. 2004; Frankham 2010).

Les études sur le génome des diables de Tasmanie ont montré que l'hétérozygotie et la diversité allélique sur des loci microsatellites étaient faibles, comparé à d'autres marsupiaux Australiens évoluant sur des territoires d'étendues similaires, comme les chats marsupiaux, carnivores occupant le même habitat que le diable de Tasmanie (Jones et al. 2004). Cette faible diversité génétique pourrait être liée à l'isolement physiquement des diables de Tasmanie après la dérive de l'île au large du continent Australien il y a 10 000 à 12 000 ans, réduisant les opportunités de

flux génétique (Morris, Austin, Belov 2012), et même à des évènements plus anciens comme un changement environnemental important lors de la dernière glaciation (Bruniche-Olsen et al. 2014). Il est également suspecté que la population fondatrice à l'origine de la population actuelle ait été restreinte quantitativement, ce qui serait la cause d'un « effet fondateur », expliquant que les mutations de la population fondatrices sont transmises à leur descendance (Jones et al. 2004). De plus, de fortes variations de la population de diables de Tasmanie ont été détectées depuis l'implantation des colons sur l'île au début du XIX^{ème} siècle, consécutivement à cause de persécution, l'empoisonnement et de probables épizooties de nature indéterminée (Bradshaw, Brook 2005). Tous ces évènements combinés pourraient être à l'origine de la faible diversité génétique observée dans la population actuelle (Morris, Austin, Belov 2012).

En médecine humaine, les transferts de cellules tumorales ont également été décrits, en particulier dans le cadre de greffe d'organe infecté. Par ailleurs, les greffes sont moins susceptibles d'être rejetées si le donneur et le receveur sont génétiquement proches. Dans le cas du Diable de Tasmanie et de la DFTD, une explication alors proposée par la communauté scientifique était que la faible diversité génétique remarquée au sein de cette espèce pouvait être la cause d'une baisse voire d'une absence de réaction immunitaire lors d'implantation de cellules tumorales (Pearse, Swift 2006).

La diversité allélique concernant les molécules du CMH est particulièrement intéressante à déterminer dans le cadre de ce cancer transmissible. Les antigènes du CMH sont codés par un ensemble de gènes qui sont les plus polymorphes du génome des vertébrés. Les molécules appartenant à la classe I sont composées d'une chaîne lourde α associée à une microglobuline $\beta 2$ et sont exprimées à la surface de toutes les cellules de l'organisme. Les molécules du CMH-I présentent les antigènes endogènes aux lymphocytes T CD8+ qui se différencient en lymphocytes T cytotoxiques (Siddle et al. 2007). Ainsi, un polymorphisme important dans cette région procure à l'individu de meilleures chances de pouvoir former une réponse immunitaire face à un nouveau pathogène. Dans le cadre des greffes de tissus, les mécanismes de rejet mettent en jeu les lymphocytes T CD4+ et CD8+ et ont souvent pour origine une incompatibilité des molécules du CMH.

Les deux premières hypothèses de travail concernant l'absence de réaction immunitaire face à ce cancer transmissible étaient que par manque de diversité génétique dans les gènes codant pour les molécules du CMH, la tumeur n'était pas reconnue comme du non-soi, ou bien que la tumeur échappait au système immunitaire en sécrétant des substances capables de moduler l'expression des gènes codant pour les molécules du CMH-I (Siddle et al. 2007). Dans un premier temps, la première hypothèse a été retenue après génotypage des tumeurs et de leur hôte sur différents sites à travers la Tasmanie (Siddle et al. 2007).

Cependant, malgré une diversité allélique modeste, cette diversité existe bel et bien (Miller et al. 2011) et des études plus approfondies ont montré que malgré un répertoire relativement limité, le système immunitaire devrait tout de même être capable de reconnaître les antigènes tumoraux (Siddle et al. 2010).

En outre, le système immunitaire des diables de Tasmanie est compétent (présence de structures lymphoïdes fonctionnelles, production de leucocytes, production d'anticorps après stimulation à l'aide de cellules xénogéniques leucémiques, hémagglutination sur lame (Woods et al. 2007, 2015; Kreiss, Wells, Woods 2009; Brown et al. 2011). A noter que la réaction lymphocytaire mixte, souvent utilisée dans le cadre des greffes de tissus ou d'organes pour vérifier si la transplantation de tissus engendre la production de lymphocytes, ce qui est un signe de rejet et donc d'incompatibilité entre donneur et receveur, est également positive entre deux diables sains (Woods et al. 2007; Alexandre Kreiss et al. 2011). Cette théorie a définitivement été invalidée par les rejets de greffes de peau entre des individus sains pratiquées par Kreiss et al. (2011). Ceci démontre que mêmes de petites incompatibilités génétiques peuvent être reconnues par le système immunitaire du diable receveur (Kreiss et al. 2015; Woods et al. 2015).

Il apparaît donc que le manque de diversité génétique, particulièrement au niveau des gènes codant pour les molécules du CMH, n'est pas une raison suffisante pour expliquer le manque de réaction immunitaire face aux cellules tumorales, même s'il s'agit d'un facteur aggravant.

b) Echappement des cellules tumorales au système immunitaire du diable

L'évasion immunitaire est un processus décrit dans de nombreux types tumoraux. Dans un premier temps s'est posée la question de l'immunogénicité des cellules tumorales de la DFTD. La xénogreffe de ces cellules tumorales chez des

souris immunocompétentes a entraîné une réaction immunitaire, traduite par la production d'anticorps, de cytokines et la mise en place d'une cytotoxicité. Seules les souris dont l'immunocompétence était préalablement compromise n'ont pas développé de réaction. Les auteurs en ont conclu que les cellules tumorales de la DFTD sont bien immunogènes (Kreiss et al. 2011).

Une seconde piste a consisté à investiguer l'efficacité de la réponse antitumorale, faisant intervenir les lymphocytes T-cytotoxique et les cellules Natural Killer (cellules NK). A la différence des autres cellules immunitaires, les cellules NK ont la particularité de pouvoir reconnaître des cellules ne présentant pas les molécules du CMH-I à leur surface. Dans le contexte de la DFTD, où il est suspecté que ces molécules soient sous-exprimées par les cellules tumorales, on pourrait s'attendre à ce que les cellules NK entrent en jeu et reconnaissent ces cellules. Cette piste, investiguée par Brown et al. (2011) a montré que les diables de Tasmanie possèdent des cellules NK compétentes et des réponses cytotoxiques appropriées. Cependant, dans le cas de la DFTD, les cellules NK ne semblent pas être en mesure de reconnaître les cellules tumorales (Brown et al. 2011). Une « ignorance immunologique » semble donc être responsable de la non-reconnaissances des cellules tumorales, à la fois par le système immunitaire inné et par le système immunitaire acquis (Woods et al. 2015).

Siddle et al. (2007) ont montré que le transcriptome des cellules tumorales comporte des transcrits de gènes codant pour les molécules du CMH-I, et qu'elles étaient donc potentiellement capables de les exprimer à leur surface. Plus récemment, il a été découvert que le mécanisme à l'origine de cette sous-expression par les cellules tumorales était une modification épigénétique réversible, liée à une augmentation du taux de désacétylation de l'ADN au niveau des histones, plutôt qu'une modification structurale de l'ADN empêchant ainsi la lecture du matériel génétique, tout particulièrement concernant les gènes en rapport avec la présentation des antigènes, comme la microglobuline $\beta 2$ ($\beta 2m$), les transporteurs associés à la présentation d'antigène TAP1 et TAP2, et CIITA (Siddle et al. 2013; Siddle et Kaufman 2013). Sans les TAP, les molécules du CMH-I sont instables et séquestrées dans le réticulum endoplasmique (**Figure 16**). Ainsi, les cellules tumorales possèdent l'équipement adéquat à la l'expression des molécules du CMH-I, mais seraient capables de ne pas les présenter leur surface, se rendant par conséquent invisibles aux yeux du système immunitaire.

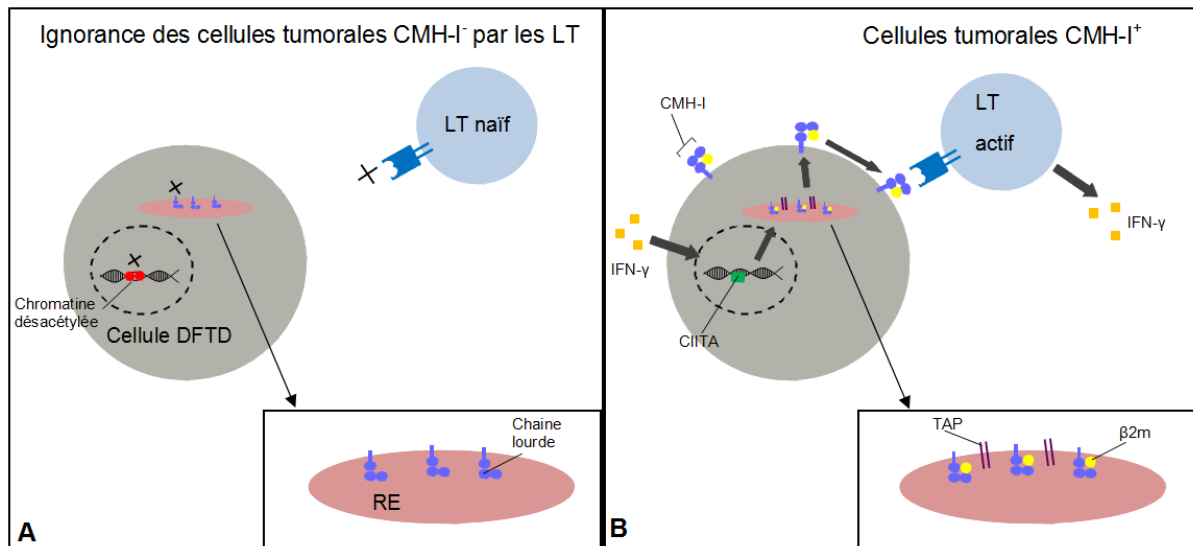


Figure 16 : Mécanisme d'évasion immunitaire dans le cas de la DFTD. **A)** Les lymphocytes T du diable ne reconnaissent pas les cellules tumorales car celles-ci ne présentent pas les molécules du CMH-I à leur surface. Ce phénomène est vraisemblablement lié à une répression de la transcription des gènes codant pour la $\beta 2m$, TAP1 et TAP2. Les chaînes lourdes des molécules du CMH-I sont synthétisées et séquestrées dans le réticulum endoplasmique (RE). **B)** Après le traitement des cellules tumorales aux IFN- γ , $\beta 2m$, TAP1, TAP2 et CIITA sont surexprimées, ce qui permet aux molécules du CMH-I d'être présentes à la surface de la cellule tumorale, ce qui pourrait permettre aux lymphocytes T de les reconnaître et à une réaction immunitaire appropriée de se mettre en place. Traduit et modifié à partir de Sidde & Kaufman (2013).

Le traitement des cellules tumorales aux interférons gamma (IFN- γ) permet de rétablir l'expression de la microglobuline $\beta 2$ et des TAP, permettant ainsi d'avoir des molécules du CMH-I fonctionnelles présentes à la surface des cellules tumorales, mais augmente également l'expression du transcription factor Class II transactivator (CIITA), qui se fixe sur le site promoteur des gènes évoqués ci-dessus, augmentant leur expression (Sidde et al. 2013). En contrepartie, le traitement des cellules tumorales avec les IFN- γ est corrélé à la production de Programmed-Death-Ligand-1 (PD-L1), une protéine transmembranaire capable d'envoyer un signal d'inhibition, entraînant entre autres une diminution de la prolifération lymphocytaire. Cette molécule est exprimée lors d'évènements comme la gestation, les allogreffes de tissus, certaines maladies auto-immunes, mais aussi dans certains types de cancers par de nombreuses cellules (cellules épithéliales et endothéliales, macrophages associés aux tumeurs par exemple) (Flies et al. 2016). Il s'agit d'une voie d'évasion immunitaire majeure, dans la ligne de mire de certaines thérapies antitumorales en médecine humaine, et pourrait être partiellement responsable des échecs vaccinaux constatés jusqu'alors dans le cadre de la DFTD.

Bien que la régulation épigénétique de l'expression génique soit une explication cohérente, elle ne permet pas de lever complètement le voile sur le mystère du mécanisme d'évasion immunitaire des cellules tumorales de la DFTD. En effet, des mécanismes similaires sont observables dans des types tumoraux non contagieux, par conséquent ces répressions réversibles de l'expression génique ne sont probablement pas les seules responsables du caractère transmissible de ce cancer (Siddle 2017).

Le fait que les cellules tumorales ne soient pas reconnues et détruites par les cellules NK, bien que ne présentant pas à leur surface les molécules du CMH-I, soulève la question de l'éventuelle présence d'agents immunosuppresseurs dans le microenvironnement des cellules tumorales, comme des cytokines. En effet, des études concernant les tumeurs des cellules de Schwann ont montré qu'elles étaient capables de sécréter des cytokines immunosuppressives afin d'échapper au système immunitaire. Ce constat pourrait potentiellement être en rapport avec leur origine, les cellules de Schwann étant physiologiquement capables de sécréter les cytokines, probablement pour éviter toute réaction d'hypersensibilité locale du système nerveux (Watanabe et al. 2001). Or, dans le cadre de la DFTD, les cellules tumorales sont, à l'origine, des cellules de Schwann. Howson et al. (2014) ont montré que les cellules tumorales de la DFTD possèdent des transcrits d'interleukines 10 et 6 (IL-10, IL-6) et le Transforming Growth Factor β (TGF β). Or, il est suspecté que les IL-10 jouent un rôle dans l'évasion immunitaire en inhibant la prolifération des lymphocytes T, en stimulant la production d'autres interleukines et le facteur de nécrose tissulaire, et en empêchant la maturation des Cellules Présentatrices d'Antigène (CPA). De son côté, TGF β est capable de réguler négativement le développement des cellules dendritiques, des macrophages, et des lymphocytes T (Woods et al. 2015). Cependant, des analyses par PCR quantitative (qPCR) n'ont pas montré de surexpression des cytokines dans les cellules tumorales par rapport aux cellules saines (Morris, Belov 2013). Par conséquent, même si la surproduction de cytokines par les cellules tumorales est une hypothèse séduisante, elle n'a pour le moment pas été formellement démontrée (Siddle 2017).

Enfin, Cheng et al. (2017) ont récemment démontré une orientation à dominance humorale de l'immunité à partir de la puberté qui survient pendant la deuxième année de vie, avec une augmentation du rapport neutrophiles/lymphocytes et une diminution du rapport IFN- γ /IL-4, ce qui signe une diminution de l'immunité anti-tumorale à cette

période. Cette baisse de l'immunité anti-tumorale à la puberté pourrait expliquer le motif de distribution de la DFTD, qui n'affecte que les adultes. La cause de cette modification de l'immunité n'est pas encore formellement expliquée, bien que des modifications dans les taux d'hormones sexuelles, ayant un pouvoir immunomodulateur, soient suspectées comme étant le mécanisme principal.

Une baisse similaire de l'immunité anti-tumorale a été démontrée par Ujvari et al. (2016). En effet, des études récentes montrent que, outre les taux absolus d'IgG et IgM circulants, l'augmentation du rapport IgM/IgG est associée à un meilleur niveau de protection dans certaines maladies tumorales. Or, dans leur étude, les auteurs n'ont pas trouvé de corrélation statistique entre l'âge et le statut DFTD, mais une corrélation négative entre le ratio IgM/IgG et le statut DFTD. De plus, contrairement à d'autres espèces de vertébrés, les diables voient leur taux d'IgM décroître avec l'âge. La modification de ce ratio pourrait expliquer la susceptibilité croissante des diables à la DFTD avec l'âge. Ainsi, dans le cadre de la recherche d'un vaccin, des formulations menant à la production d'IgM devraient être privilégiées par rapport des celles menant à la production d'IgG par l'hôte.

Malgré tout, des signes de réponse immunitaire sont observés, particulièrement dans les contextes de réponse vaccinale.

3. Mécanismes adaptatifs

a) Adaptation des diables face à la DFTD

Suite à l'apparition de la maladie et la réduction des effectifs d'individus sexuellement matures, des mécanismes de compensation semblent se mettre en place petit à petit en réponse à la chute rapide des densités de population à travers la Tasmanie.

Reproduction précoce

Avant l'apparition de la maladie, les mâles et les femelles atteignaient la maturité sexuelle pendant leur deuxième année de vie et seule une fraction des femelles (<10%) se reproduisaient pendant leur première année (Hawkins et al. 2006). Par conséquent, la maladie affectant les individus en général à partir de 3 ans (mais parfois aussi les individus de 2 ans), les femelles survivaient assez longtemps pour assurer

au mieux une saison de reproduction. Cependant, au fil des années, de plus en plus de femelles se reproduisent dès l'âge d'un an (McCallum et al. 2007; Jones et al. 2008). Ces femelles sont appelées des « reproductrices précoces » (*precocial breeders*) (Lachish, McCallum, Jones 2009).

Une des explications possibles de ce phénomène est une augmentation de la disponibilité en nourriture. En effet, suite à l'établissement de la maladie au sein d'une population, la densité décroît. Par conséquent, chaque individu a plus de nourriture disponible. Ainsi, les subadultes se développent plus rapidement, ce qui leur permet également de se reproduire plus tôt une fois qu'ils atteignent un certain gabarit (Lachish, McCallum, Jones 2009).

Biais de genre dans la portée

Le sexage des jeunes en développement dans le marsupium dans les sites touchés par la maladie a permis de mettre en évidence une évolution dans la composition de la portée. En effet, avant la DFTD, il n'y avait pas de biais de genre, c'est-à-dire que les mères produisaient autant de mâles que de femelles. Depuis l'apparition de la maladie, les mères produisent plus de femelles que de mâles (Lachish, McCallum, Jones 2009). Selon la théorie de l'allocation sexuelle décrite par Trivers et Willard en 1973, dans des conditions environnementales négatives ou en cas de mauvais état corporel, on peut s'attendre à ce que les femelles en reproduction investissent plus dans la production de femelles que de mâles, car il est plus coûteux de produire un mâle qu'une femelle. Ce processus conférerait un avantage dans la sélection naturelle, mais le mécanisme est encore mal connu. Cet ajustement à grande échelle pourrait, à terme, permettre d'augmenter la taille de la population, puisque *Sarcophilus harrisii* est une espèce polygame, à condition que les femelles vivent assez longtemps pour élever les jeunes jusqu'à leur indépendance (Lachish, McCallum, Jones 2009). Pour rappel, la gestation dure 21 jours et l'allaitement 8 à 9 mois.

D'autres paramètres comme la taille de la portée ou le nombre de femelles adultes aptes à la reproduction ne semblent pour l'instant pas être affectés. Dans le premier cas, les diables donnant naissance à plus de 20 petits et n'ayant que 4 mamelles, il est difficile d'envisager une quelconque évolution de la taille de la portée, qui semble déjà optimisée (Lachish, McCallum, Jones 2009). Dans le second cas,

presque toutes les femelles adultes se reproduisent à l'exception des femelles les plus vieilles (5-6 ans d'âge) (Guiler 1978).

Pression de sélection génétique à l'échelle de la population

L'analyse du génome des diables dans des populations affectées par la DFTD permet de mettre en évidence des processus de sélection génétique, comme le balayage sélectif : certains allèles autrefois fréquents, semblent disparaître du génome à l'échelle de la population. De plus, la nourriture étant plus abondante, les individus n'ont pas besoin de se disperser autant, ce qui réduit le flux génétique. Ainsi, le déclin démographique conduit à une subdivision génétique de la population (Lachish et al. 2011). Il est encore difficile de déterminer si ces modifications génétiques confèrent une capacité de résistance à la maladie (Hamede, Lachish, et al. 2012). Cependant une étude portant sur les variations alléliques sur des gènes codant pour les molécules du CMH-I semble montrer que certaines populations de l'ouest sont désormais capables d'instaurer une réaction immunitaire (mais non protectrice) lors de DFTD (Kreiss et al. 2011). Ces résultats sont supportés par Epstein et al. (2016) qui ont mis en évidence une sélection positive importante au niveau de gènes liés à l'immunité, ce qui laisse penser que le système immunitaire des diables s'adapte génétiquement à la forte pression de sélection imposée par la DFTD, et ce en 4 à 6 générations après établissement de la maladie dans les sites d'études ; ce qui est très rapide.

Etablissement de populations résistantes ?

Les premières années d'observation ont mené à la conclusion que la DFTD est une maladie létale dans 100% des cas. Cependant, le suivi régulier de populations réparties sur l'ensemble du territoire a permis de mettre en évidence une population moins fortement affectée par la maladie à West Pencil Pine, dans le nord-ouest de la Tasmanie, dans laquelle certains cas de tumeurs régressent spontanément (Pye et al. 2016). Les individus concernés avaient produit des anticorps dirigés contre les cellules tumorales de la DFTD. Ces cellules étaient atypiques car elles possédaient, à leur surface, les molécules du CMH-I. Le mécanisme de régression tumoral observé à West Pencil Pine est donc peut-être un mécanisme immunitaire de cytotoxicité anticorps-dépendante. Le rétablissement de l'expression des molécules du CMH-I à

la surface des cellules tumorales est vraisemblablement lié à la production d'IFN- γ par des lymphocytes T ayant infiltré le tissu tumoral. Le mécanisme permettant cette infiltration primaire de la tumeur par les lymphocytes est encore inexpliqué (Pye et al. 2016).

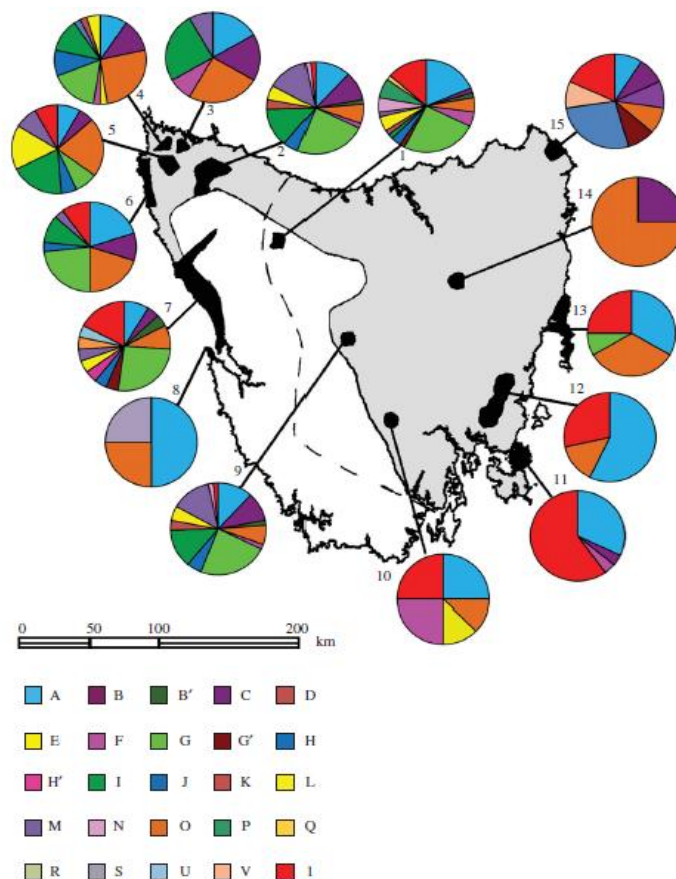


Figure 17 : Carte de la Tasmanie montrant la diversité des types de CMH dans les sites étudiés. 1 : West Pencil Pine ; 4 : Gunns Woolnorth ; 9 : Bronte Park ; 10 : Fentonbury ; 11 : Péninsule de Forestier ; 12 : de Buckland à Nugent ; 13 : Parc National de Freycinet ; 15 : Parc National de Mont William. Il apparaît qu'il y a plus de types de CMH dans le nord-ouest qu'à l'est. La surface grisée représente l'aire de d'habitat principale des diables. Traduit et adapté à partir de Siddle *et al.* 2010

Face à cette découverte, la question de l'héritabilité de la capacité à monter une réponse immunitaire efficace contre la DFTD s'est posée. Lane et al. (2012) n'ont pas mis en évidence de différence significative dans les profils génétiques de gènes codant pour les molécules du CHM entre cette population de diables à West Pencil Pine et d'autres populations à travers la Tasmanie. Wright et al. (2017) ont mis en évidence une expression différente de certains gènes liés à l'angiogenèse, notamment PAX3, entre les diables malades et les témoins. Ainsi, un des mécanismes proposés par les auteurs est une vascularisation diminuée de la tumeur dans cette population

présentant des signes de résistance (ou tout au moins de meilleure tolérance). Cette baisse de la vascularisation tumorale freinerait sa croissance, ce qui laisserait plus de temps au système immunitaire de l'individu pour monter une réponse protectrice. Les modalités d'activation ou d'inhibition de ces gènes par les cellules tumorales sont encore inconnues.

Ces découvertes de prémices de réponses immunitaires d'apparition spontanée chez certaines populations de diables de Tasmanie sont autant de pistes intéressantes dans le cadre de la fabrication d'un vaccin.

b) Evolution génétique de la DFTD

L'étude génétique des tumeurs au cours du temps et en divers endroits de la Tasmanie semble indiquer que plusieurs lignées tumorales se différencient graduellement et qu'elles n'ont pas la même répartition sur le territoire. De façon réciproque, une population de diables dans une région donnée de la Tasmanie verra circuler en son sein certaines lignées dans des proportions différentes d'une population située dans une autre région (Murchison et al. 2012). Ces lignées sont décrites dans la **Figure 8**. Chaque lignée a des caractéristiques qui lui sont propres, en particulier en ce qui concerne la vitesse de croissance, liée à la virulence de la souche (Pearse et al. 2012). Ainsi, une lignée plus virulente comme L4 avec une capacité de croissance très élevée peut mal se propager sur le territoire en raison de la mort rapide de ses hôtes. Au contraire, la distribution large de la lignée 2 peut être la conséquence de sa moindre virulence ; la survie de l'hôte étant plus longue, celui-ci a plus d'occasions de transmettre la maladie. Quelle que soit la souche, la tétraploïdie est fréquente.

Bien qu'une évolution du génome tumoral soit constatée, celui-ci reste étonnamment stable par rapport à d'autres processus tumoraux (Murchison et al. 2012). Cette stabilité relative peut être expliquée par des mécanismes de rétrocontrôle permettant d'atteindre un équilibre entre l'aneuploïdie, qui déstabilise le génome, et la sélection génétique, qui tend à le stabiliser (Pearse et al. 2012). Ainsi, il est envisageable que la DFTD subisse un processus de sélection génétique : les lignées les plus virulentes, du fait de la mort rapide de l'hôte, seraient plus enclines à mener l'espèce vers l'extinction et donc provoquer leur propre disparition, alors que les lignées les moins virulentes pourraient, à terme, devenir non létales, ce qui permettrait une coexistence avec les diables (Hamede, Lachish, et al. 2012; Pearse et al. 2012;

Siddle et al. 2013). Un autre scénario possible est la sélection de lignées capables d'échapper au système immunitaire. Ainsi, les régions les plus conservées dans le caryotype des différentes lignées cellulaires pourraient correspondre à des gènes importants dans la survie de la lignée (développement tumoral, capacité à échapper au système immunitaire de l'hôte, virulence, etc.), alors que les parties les plus instables et sujettes à variation pourraient jouer un rôle mineur dans la survie de la lignée tumorale (Deakin et al. 2012).

Ainsi, la DFTD n'est plus une entité unique, figée dans le temps et dans l'espace, mais un processus dynamique complexe (Pearse et al. 2012; Ujvari et al. 2012), exerçant une pression de sélection sur les populations de diables, et subissant en retour une pression de sélection de leur part (Hamede et al. 2012).

II. LA SECONDE MALADIE Tumorale FACIALE

Jusqu'en 2014, le terme DFTD ne se référait qu'à une famille de lignées cellulaires clonales transmissibles, bien spécifique. Lors de suivi de terrain, des diables possédant des tumeurs macroscopiquement similaires à la DFTD (désormais renommée DFT1) ont présenté une lignée tumorale transmissible distincte : la seconde maladie tumorale faciale du diable de Tasmanie, aussi appelée DFT2.

1. Contexte d'apparition

En 2012, la DFTD est apparue au niveau du canal d'Entrecasteaux, un bras de la mer de Tasman situé entre le littoral sud-est de la Tasmanie et la côte ouest de l'île de Bruny (**Figure 18**). Suite à la détection de la maladie, la région a été régulièrement suivie par capture-marquage-recapture et examen physique des diables. De façon routinière, les tumeurs faciales ont été biopsiées et le diagnostic de DFTD confirmé histologiquement. En 2014 et 2015, des tumeurs macroscopiquement similaires à la DFT1 ont présenté une structure histologique différente (Pye et al. 2016).

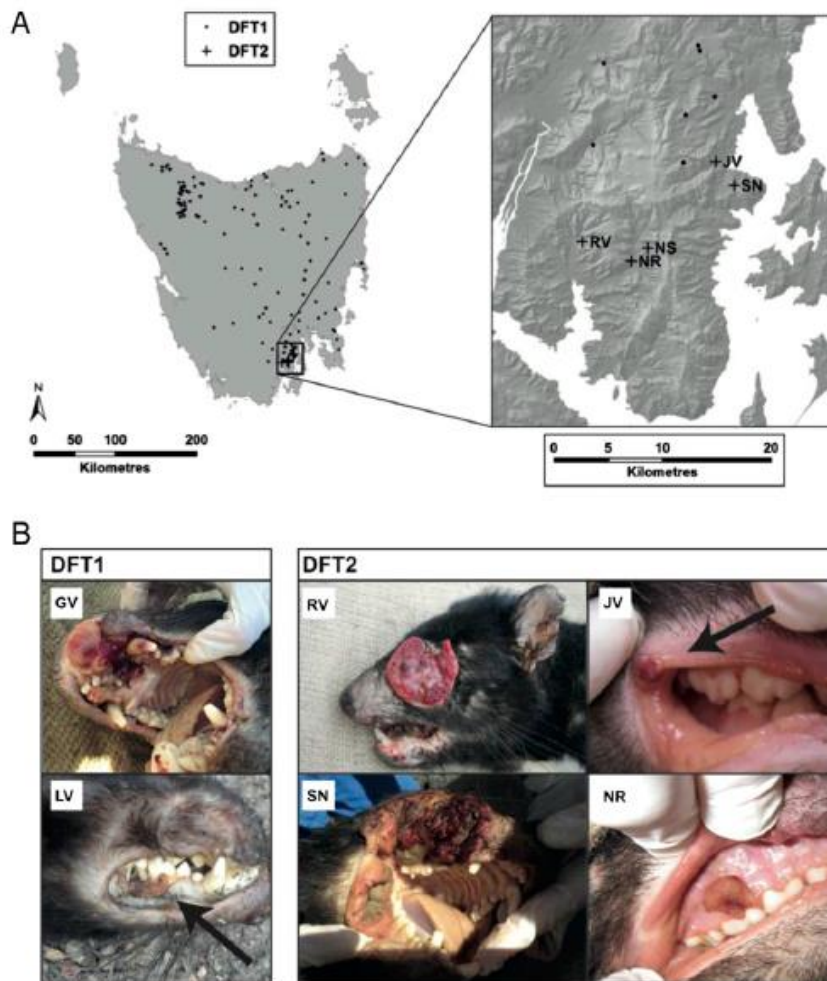


Figure 18 : Localisation géographique et apparence lésionnelle des tumeurs DFT2. **A)** Localisation des cas confirmés de DFT1 et DFT2 en Tasmanie (à gauche) et sur la péninsule du Canal (à droite). Les cas de DFT1 sont représentés par des points, indépendamment du nombre de tumeurs identifiées dans ces endroits. Les croix représentent les tumeurs DFT2. Le diagnostic tumoral est histologique, cytogénétique, et par analyse génétique. **B)** Apparence lésionnelle de tumeurs DFT1 (à gauche) et DFTD2 (à droite). Ces tumeurs ont été identifiées chez des diables de Tasmanie dans la région du Canal entre 2012 et 2015. Traduit à partir de Pye *et al.*, 2016b.

2. Description lésionnelle

Les tumeurs observées dans ce nouveau cadre sont variables en apparence. Il peut s'agir de foyers de petites tailles au niveau de la muqueuse buccale et/ou de la peau, ou bien de masses extensives disséminées entraînant la déformation des structures faciales, comme en témoigne la **Figure 18**. Tout comme la DFT1, la DFT2 est capable de métastaser. Des tumeurs secondaires ont été observées dans des nœuds lymphatiques sous-mandibulaires, les poumons et les reins (Pye et al. 2016).

Macroscopiquement aucune différence avec la DFT1 n'est décelable mais l'étude histologique des tumeurs de la DFT2 a montré des caractéristiques atypiques, différentes de la DFT1. Ainsi, les cellules tumorales de la DFT1 sont de grandes

cellules rondes pléomorphiques, souvent en agrégats alors que ces nouvelles tumeurs sont organisées en feuillets de cellules. Par ailleurs, le marquage immunohistochimique dirigé vers la périaxine ne permettent pas d'identifier ces cellules (contrairement à celles de la DFT1 (**Figure 19**) (Pye et al. 2016).

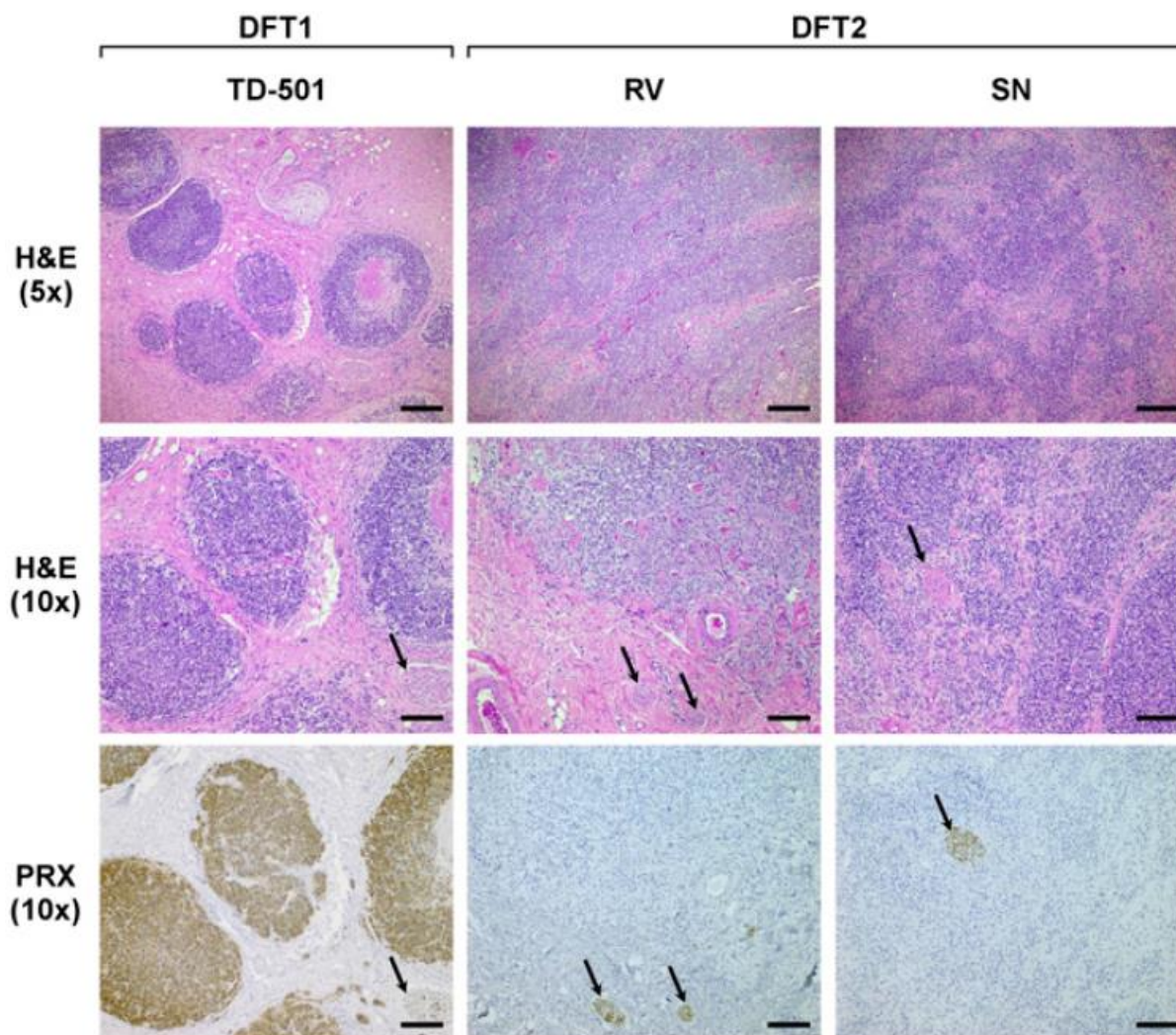


Figure 19 : Les tumeurs DFT2 sont histologiquement différenciables de celles de la DFT1. Les rangs du haut et du milieu montrent des coupes représentatives colorées à l'hémalum-éosine (H&E) de tumeurs DFT1 et DFT2. En bas, les sections histologiques sont marquées à la périaxine (PRX), marqueur diagnostique de la DFT1. Rang du haut, 1 barre = 200 μ m; rangs du milieu et du bas, 1 barre = 100 μ m. Les flèches montrent les faisceaux nerveux périphériques. Traduit à partir de Pye *et al.*, 2016b.

3. Etudes cytogénétique et génétique

Comme démontré précédemment, le caryotype tumoral de la DFT1 est caractérisé par un certain nombre de modifications par rapport au caryotype de l'hôte, et ce quel que soit l'hôte et de façon homogène à travers le territoire, bien que la tumeur connaisse des évolutions avec le temps. De plus, il a été démontré que l'hôte

fondateur de la lignée tumorale était un individu femelle, probablement disparue avant 1996. Dans le cas de la DFT2, des anomalies chromosomiques complexes sont également observables, mais bien différentes de celles observées dans le cas de la DFT1. En l'occurrence, du matériel génétique supplémentaire est présent sur les chromosomes 1, 2 et 4, le chromosome 5 a subi une délétion, le chromosome 6 est monosomique et les deux chromosomes sexuels X et Y sont présents (Pye et al. 2016). Ces caractéristiques caryotypiques montrent que cette lignée clonale est différente de la DFT1 (**Figure 20**).

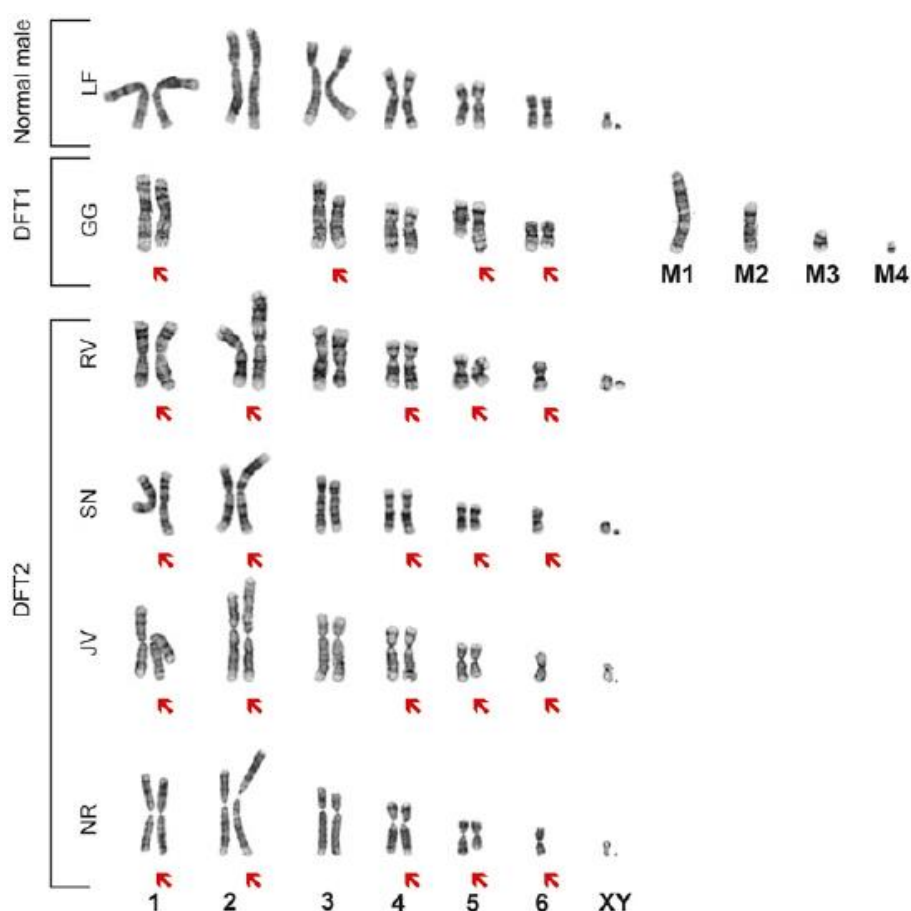


Figure 20 : Les tumeurs DFT2 sont cytogénétiquement distinctes des tumeurs DFT1. En haut figure le caryotypique typique d'un diable mâle. La deuxième ligne montre le caryotype d'une tumeur DFT1. Les lignes suivantes montrent les caryotypes de 4 tumeurs DFT2. Les flèches rouges indiquent des chromosomes présentant des anomalies cytogénétiques. Les marqueurs chromosomiques trouvés dans la DFT1 sont marqués M1 à M4. Traduit à partir de Pye *et al*, 2016b.

Par analyse génétique, Pye et al. (2016) ont redémontré que les cellules tumorales de la DFT1 avaient deux chromosomes X dans leur ADN, ce qui confirme que le diable chez qui cette lignée est apparue pour la première fois était un individu femelle. Cependant, les cellules tumorales de la DFT2 possèdent un chromosome Y,

comme le montre le caryotype (**Figure 20**). Une origine commune de ces deux lignées clonales n'est donc pas envisageable. Cette hypothèse est confirmée par l'étude génotypique de différents loci microsatellites, qui révèle un génotype différent. Le génotype est également différent en ce qui concerne les gènes codant pour les molécules du CMH-I (Pye et al. 2016).

Par conséquent, l'hypothèse la plus vraisemblable est que la DFT2 est apparue spontanément chez un individu mâle très récemment, que cette lignée clonale a également la capacité d'être transmise d'un individu à l'autre sans que le système immunitaire ne puisse le reconnaître et qu'elle est indépendante de la DFT1. Ceci suggère que soit que les cancers transmissibles sont d'une façon générale sous-estimés dans la nature, soit qu'ils sont généralement rares et que les diables de Tasmanie y sont particulièrement sensibles, auquel cas d'autres cancers ont pu émerger dans le passé et disparaître, ou être encore en circulation aujourd'hui sans avoir été détectés (Pye et al. 2016).

Même si deux ans après son émergence ce nouveau cancer semble encore être très localisé à la péninsule du Canal, il est difficile d'anticiper son éventuelle propagation, sa virulence et sa prévalence, et donc son impact sur les populations de diables.

Il reste encore des inconnues concernant cette nouvelle lignée clonale transmissible. Son type cellulaire est pour le moment indéterminé, ainsi que les mécanismes permettant sa transmission (Siddle 2017). Les conséquences biologiques semblent jusque-là être similaires à la DFT1, mais le nombre peu élevé de cas limite son étude.

L'émergence de ce nouveau cancer représente une nouvelle menace pour le Diable de Tasmanie, déjà fragilisé par une chute démographique drastique observée depuis 20 ans.

III. AUTRES CANCERS TRANSMISSIBLES

Qu'il s'agisse d'un phénomène rare ou que leur incidence soit sous-estimée, peu de cancers transmissibles sont connus à ce jour. On en répertorie aujourd'hui huit dans la nature, dont deux chez le Diable de Tasmanie (DFT1 et DFT2). Chez l'espèce *Canis lupus familiaris*, le chien domestique, la Tumeur Vénérienne Transmissible Canine

(TVTC dans la suite) est un cancer sexuellement transmissible apparu il y a plusieurs milliers d'années et présent sur l'ensemble de la planète (Murchison et al. 2014). Les quatre autres cancers concernent des bivalves et ont été décrits pour la première fois en 2015 (Metzger et al. 2015, 2016). A noter qu'il existe également des tumeurs transmissibles d'origine anthropomorphique, apparue chez une lignée de laboratoire de hamsters dorés (*Mesocricetus auratus*).

1. Tumeur Vénérienne Transmissible Canine

La TVTC est une lignée tumorale ancienne et pandémique (**Tableau 2**), décrite pour la première fois au XIX^{ème} siècle. Elle serait apparue il y a plus de 10 000 ans, chez des espèces primitives de chiens (basenji, husky, malamute, etc.) ou des loups possiblement au moment de leur domestication. Elle affecte toutes les races de chiens et s'est répandue sur tout le globe, en particulier dans les pays où les chiens errants sont très présents et la stérilisation n'est pas habituelle (Murchison et al. 2014; Siddle 2017). Contrairement à la DFTD qui montre une spécificité d'espèce, la TVTC peut affecter les chiens, les loups, les coyotes et les renards (Siddle, Kaufman 2015)

La lignée clonale possède de nombreux sous-types du fait de sa longue évolution, et forme aujourd'hui une maladie relativement stable, qui co-évolue avec son hôte (Siddle 2017).

La TVTC est transmise d'un individu à un autre durant le coït, le reniflement ou le léchage des parties génitales affectées (Murchison 2008). Il s'agit là-encore d'une lignée clonale transmissible ; aucun virus n'a à ce jour été détecté dans les tumeurs (Ostrander, Davis, Ostrander 2016). Elle se manifeste par l'apparition de petites tumeurs nodulaires fermes, localisées à la base du pénis chez le mâle et au niveau du vestibule chez la femelle, dans les 2 mois après le rapport infectant, comme le montre la **Figure 21** (Murchison 2008; Hannah V. Siddle, Kaufman 2013). Il s'agit d'un cancer bénin, ne produisant pas de métastases et rarement létal sauf en cas d'immunodéficience et chez les chiots infectés.

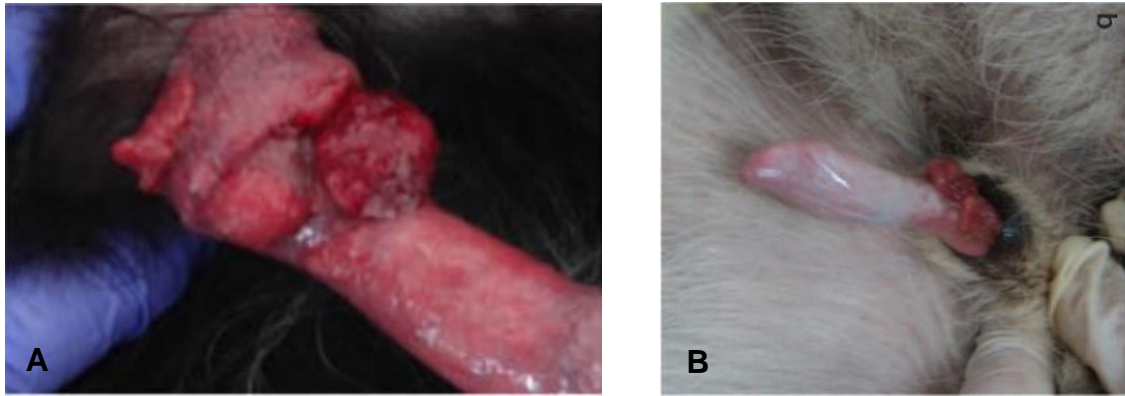


Figure 21 : Tumeur Vénérienne Transmissible Canine. **A)** issu de Caldwell et Siddle, 2017 et **B)** issu de Murchison, 2008.

Histologiquement, les masses sont de grande taille, diffuses. Les cellules tumorales sont compactes, rondes à polyédriques.

La maladie connaît d'abord une phase de croissance aussi appelée « phase progressive » (phase P), puis une phase stationnaire, et enfin une phase de régression. La phase stationnaire peut survenir 3 à 9 mois après apparition des tumeurs, et durer de quelques mois à plusieurs années, ce qui laisse de multiples occasions à l'individu de transmettre la tumeur. La tumeur régresse finalement spontanément, et l'individu garde une immunité mémoire à vie.

A l'instar de la DFTD, les cellules tumorales de la TVTC arrivent à échapper au système immunitaire du nouvel hôte en diminuant (voire en supprimant) l'expression des molécules du CMH-I et II à leur surface pendant la phase P. Ainsi l'infiltration lymphocytaire de la tumeur n'a pas lieu comme le montre **Figure 22** (Hannah V. Siddle, Kaufman 2013). La phase de régression est caractérisée par l'expression accrue des molécules du CMH-I et II à la surface des cellules tumorales, l'infiltration de la tumeur par les lymphocytes et enfin la production d'IFN- γ (Murchison 2008; Hannah V. Siddle, Kaufman 2013; Caldwell, Siddle 2017). Cette réponse immunitaire est similaire à celle observée lors de rejet de greffe (Siddle, Kaufman 2015).

De plus, là encore il semble que des individus proches génétiquement au niveau des loci codant pour les molécules du CMH soient plus susceptibles de développer et de transmettre ces tumeurs. L'origine myéloïde de cette lignée clonale a pu, elle aussi, faciliter sa transmission d'un individu à un autre (Murchison 2008).

Contrairement à la DFTD, la TVTC répond à la radiothérapie et à la chimiothérapie. La molécule de choix dans ce cas est la vincristine (Siddle, Kaufman 2015).

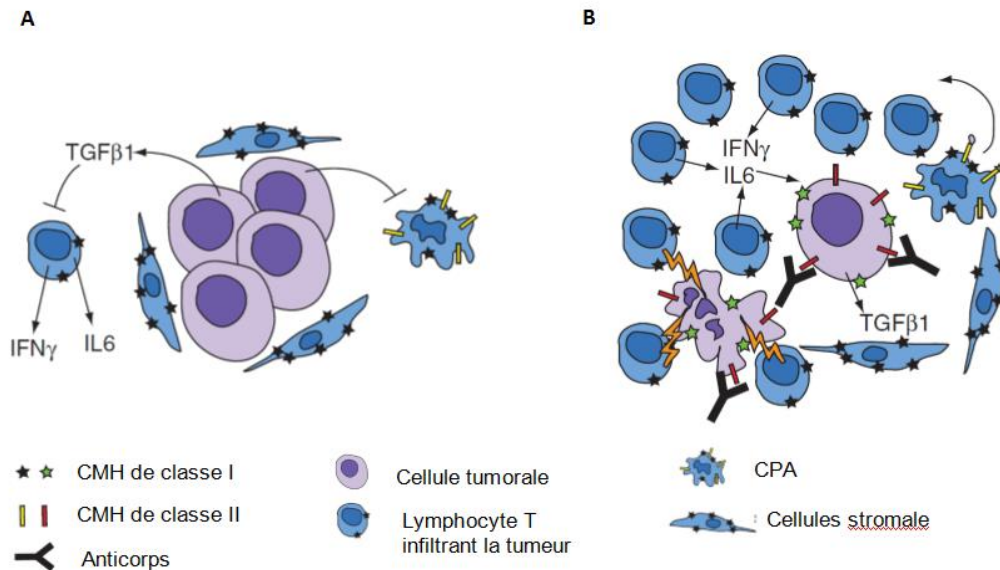


Figure 22 : Modèle d'évasion immunitaire de la TVTC. **A)** Phase progressive. Les cellules tumorales n'expriment pas les molécules du CMH-I et II et sécrètent le Transforming Growth Factor β 1 (TGF- β 1), une cytokine capable d'inhiber les cellules cytotoxiques infiltrant la tumeur (y compris les cellules NK). Elles peuvent également inhiber les Cellules Présentatrices d'Antigènes (CPA). Les lymphocytes infiltrant la tumeur sont présents en faible quantité. **B)** Phase régressive. La quantité de lymphocytes infiltrant la tumeur augmente et ils sécrètent de l'IFN- γ et des IL-6, qui permettent de contrecarrer les effets du TGF- β 1, induisant ainsi l'expression des molécules du CMH-I et II à la surface des cellules tumorales. Traduit et adapté à partir de Murchison, 2008.

La maladie tumorale faciale du Diable de Tasmanie n'étant apparue que récemment, il est aujourd'hui difficile de savoir comment elle va évoluer, mais le cas de la TVTC montre que les processus évolutifs semblent favoriser les lignées tumorales laissant à l'hôte l'opportunité de développer une réponse immunitaire suffisamment forte pour éviter la mort de l'hôte, et suffisamment restreinte pour permettre à la tumeur de se développer et d'être transmise (Belov 2012). Certaines ressemblances avec la TVTC, notamment le comportement des espèces hôtes et les étranglements génétiques connus par ces espèces dans le passé, permettent d'espérer une évolution similaire de la DFTD dans l'avenir. Les fortes contagiosité et létalité de la DFTD exercent une forte pression de sélection à la fois sur les diables, mais aussi sur la lignée tumorale elle-même puisqu'elle pourrait être la cause de sa propre disparition. Il est donc vraisemblable, même si l'issue est imprévisible, que les processus de sélection favorisent les lignées moins virulentes et génétiquement stables. De plus, différents profils génétiques de CMH ont montré des sous-populations de diables ayant des capacités de tolérance accrue. Une sélection en faveur des individus plus résistants est, là aussi, envisageable. Dans ces conditions, une co-évolution entre la lignée tumorale et le diable est envisageable, comme c'est le cas pour la TVTC (Belov 2012).

| | DFTD | TVTC |
|--|--|--|
| Apparition | Récente (c. 1996) | Ancienne (> 10 000 ans) |
| Agent pathogène | Lignée clonale issue de cellules de Schwann | Lignée clonale issue de cellules myéloïdes (macrophage) |
| Mode de transmission | Morsures lors de l'accouplement (Morsures lors de prise de nourriture) | Coït (Léchage et reniflement des parties génitales) |
| Epidémiologie | Tasmanie Diabes de Tasmanie Adultes à partir de 3 ans (parfois 2 ans), mâles et femelles | Monde entier Chiens (+ loups, coyotes et renards) Chiots et adultes, mâles et femelles |
| Evolution tumorale | Croissance infinie | Phase de progression (3-9 mois) Phase stationnaire (mois à années) Phase de régression |
| Pathologie | Masses à croissance rapide (souvent > 10cm) dans la cavité buccale ou la peau de la face Pouvoir métastatique élevé | Nodules à masses à la base du pénis ou dans le vestibule Bénin, rarement métastatique |
| Issue pour l'individu et l'espèce | Mort quasi-inéluctable de l'animal (sauf dans quelques cas décrits) en 6-9 mois Extinction de l'hôte ? Extinction de la tumeur ? Co-évolution ? | Survie de l'hôte (sauf si immunocompromis) Co-évolution hôte/tumeur |
| Mécanismes immuns | - Réponse immunitaire très faible et non protectrice - Echappement immunitaire : Modifications épigénétiques aboutissant à la sous-expression des molécules du CMH-I et II à la surface des cellules tumorales Pas de reconnaissance par les NK (mécanisme inconnu) Pas d'infiltration lymphocytaire - Pas de rétablissement de l'immunité dans la majorité des cas | - Réponse immunitaire protectrice à terme - D'abord évasion immunitaire : Modifications épigénétiques aboutissant à la sous-expression des molécules du CMH-I et II à la surface des cellules tumorales Pas de reconnaissance par les NK (par production de TGF β ?) Pas d'infiltration lymphocytaire - Puis rétablissement de l'immunité par expression des molécules du CMH-I et II (mécanisme de basculement de l'immunité encore indéterminé) |
| Immunité mémoire | Absente | Immunité à partir de la phase stationnaire, à vie. L'immunité peut-être transférable à un autre individu via le sérum (mécanisme cytotoxique anticorps-dépendant) |
| Traitement | Pas de traitement | Radiothérapie Chimiothérapie (Vincristine) |

Tableau 2 : Principales similarités et différences entre la DFTD et la TVTC.

2. Cancers transmissibles de bivalves

Plus récemment, Metzger et al. (2015) ont démontré la transmission horizontale de la leucémie entre différents spécimens de Mye commune (*Mya arenaria*), puis d'autres lignées cancéreuses chez la Coque commune (*Cerastoderma edule*), la Palourde jaune (*Polititapes aureus*) et la Moule indigène (*Mytilus trossulus*) (Metzger et al. 2016). Ces cancers forment le groupe des Néoplasmes Transmissibles des Bivalves (de l'anglais *Bivalve Transmissible Neoplasms*, BTNs). Lesdits néoplasmes ne semblent étonnamment pas être arrêtés par la barrière d'espèce. Les bivalves étant des organismes filtrants, l'explication la plus plausible de transmission est l'eau filtrée par un individu affecté puis par un autre individu naïf. La découverte quasi-simultanée de 4 lignées tumorales chez les bivalves suggère un phénomène relativement courant dans ce groupe (Siddle 2017).

Les mollusques ont des systèmes circulatoire et immunitaire différents de ceux des vertébrés. Le système circulatoire est ouvert et l'hémolymphe, le fluide dont le rôle est équivalent à celui du sang, baigne directement les organes. L'hémolymphe contient entre autres des hémocytes, qui sont les cellules assurant la première ligne de défense immunitaire. Par analogie avec les mammifères, les hémocytes ont le même rôle que les phagocytes (Ostrander, Davis, Ostrander 2016). Les mollusques sont capables de reconnaître des différences dans les motifs moléculaires à la surface des cellules, discriminant ainsi le soi du non-soi. En d'autres termes, ils sont capables de rejeter des allogreffes grâce à un système de macrophages et de mort induite par des perforines (Caldwell, Siddle 2017).

Dans le cas de la leucémie décrite chez la Mye commune, les hémocytes circulants montrent pour la plupart des figures de mitose. Leur capacité à phagocyter les agents pathogènes est alors amoindrie, ainsi que leur capacité de dissémination dans l'organisme. Les hémocytes physiologiques sont peu à peu remplacés par les hémocytes mitotiques, qui ne peuvent plus assurer leurs fonctions, ce qui provoque des défaillances organiques et enfin la mort du mollusque (Ostrander, Davis, Ostrander 2016). La maladie serait potentiellement initiée par des facteurs environnementaux comme la pollution, la température de l'eau et la surpopulation.

Des analyses génétiques de cellules tumorales collectées sur différents sites de la côte est des Etats-Unis d'Amérique montrent qu'elles sont toutes quasi-identiques,

et significativement différentes de leur hôte, suggérant qu'il s'agit d'une seule et même lignée clonale (Ostrander, Davis, Ostrander 2016).

3. Les tumeurs transmissibles anthropogéniques du Hamster doré

Dans le cas présent, les lignées tumorales n'ont pas été décrites chez des individus sauvages, mais chez une lignée de Hamster doré (*Mesocricetus auratus*) en laboratoire, en 1945. Dans différentes populations expérimentales, plusieurs lignées de sarcomes sont apparues spontanément. Toutes les populations semblaient descendre d'un même individu fondateur. Ces tumeurs sont agressives, hautement contagieuses et dans la plupart des cas fatales (Ostrander, Davis, Ostrander 2016). Le mode de transmission est la voie orale, lorsque les individus rongent les tumeurs ou par cannibalisme. Des études de transmission ont montré que lorsque les cellules tumorales sont présentes dans le sang, après inoculation expérimentale, la maladie peut devenir vectorielle. Les inoculations expérimentales sont suivies de la formation de métastases, invariablement fatales.

Plus tard, dans les années 1970, des cas de lymphomes d'apparition spontanée ont été décrits. En l'occurrence, les contacts rapprochés n'étaient pas permis. Là encore, les lymphomes produisaient des métastases qui entraînaient la mort des animaux infectés. Une fois la tumeur présente dans la colonie, les autres individus la contractaient. Les animaux sains introduits développaient les tumeurs après introduction, et le nettoyage méticuleux des locaux n'a pas permis d'enrayer le problème (Ostrander, Davis, Ostrander 2016). Cependant, ces individus étaient soumis à des tests de laboratoire impliquant le virus simien 40 (SV40), un virus à ADN capable de favoriser le développement tumoral, et des adénovirus. Une étude a permis de montrer la présence d'un agent viroïde à ADN non encapsulé. En l'absence d'études plus approfondies, il est difficile de savoir exactement quelle est l'origine de ce cancer, et si sa transmission nécessite ou non la présence d'un agent viral (Ostrander, Davis, Ostrander 2016).

Les cancers transmissibles naturellement, sans implication d'un agent viral, sont des phénomènes peu décrits aujourd'hui, bien que l'accumulation de preuves de leur existence suggère un sous-diagnostic plutôt que le caractère récent de ce phénomène. Dans le cas du Diable de Tasmanie, la DFTD affecte les adultes et est transmise par contact étroit comme les morsures, en particulier lors de la reproduction. Depuis son

apparition il y a une vingtaine d'années, le cancer s'est répandu sur la plus grande partie du territoire tasmanien, provoquant un déclin rapide et constant de la population, en particulier des adultes. Cela laisse présager l'extinction de cette espèce dont le rôle est majeur dans son écosystème. Par sa capacité à franchir les barrières immunitaires d'un premier hôte, à se développer dans celui-ci puis à franchir la barrière immunitaire d'un nouvel individu, la lignée tumorale, qui classiquement s'éteint avec son hôte, devient pérenne et agit comme un organisme soumis à la sélection naturelle (Ujvari, Papenfuss, Belov 2016).

En réponse à la propagation de la maladie et au déclin des diables de Tasmanie, les autorités tasmaniennes ainsi que des institutions partenaires se sont regroupées afin de tenter de préserver l'espèce de l'extinction.

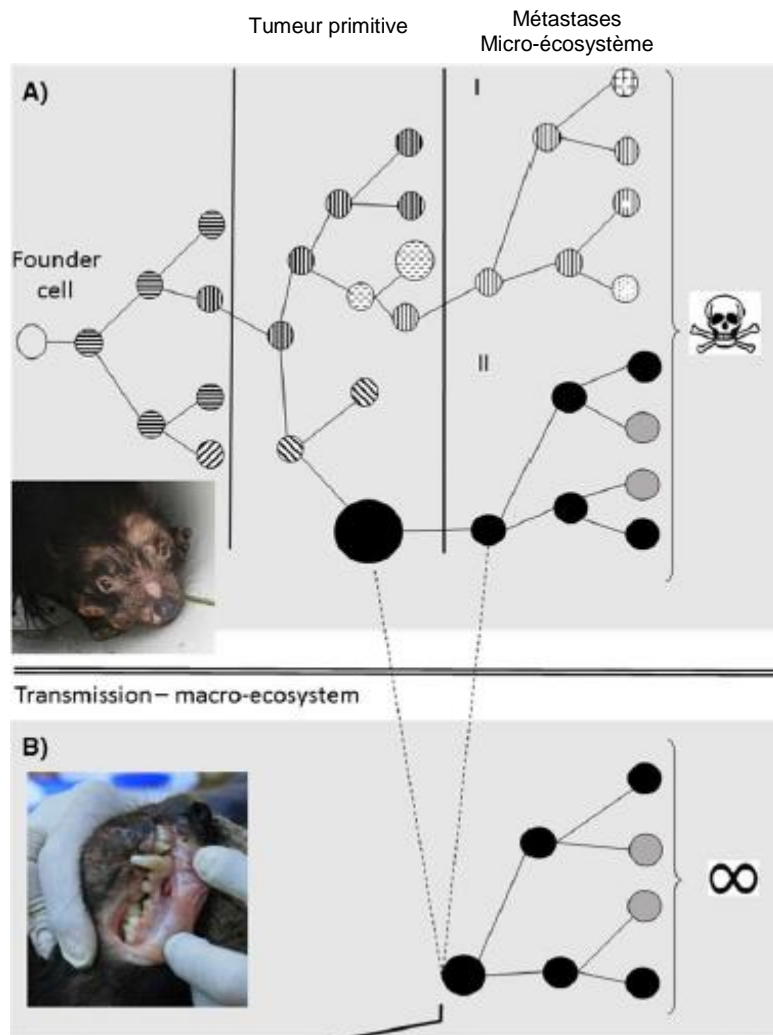


Figure 23 : Evolution des cancers transmissibles et non-transmissibles. **A)** Les subclones métastatiques (SM) avec un potentiel de prolifération élevé sont plus aptes à se disséminer, alors que d'autres subclones disparaissent ou restent latents. Les lignes verticales représentent une pression de sélection au sein de l'hôte (ex : facteurs micro-environnementaux comme le système immunitaire de l'hôte et compétition pour les ressources). Chacun des motifs dans les cercles représente un subclone génétiquement distinct, et la taille des cercles représente des subclones mineurs (petits cercles) ou majeurs (grands cercles). I et II représentent des niches locales (différents écosystèmes tissulaires) au sein de l'hôte. Les SM doivent surmonter de nombreuses barrières comme les régulateurs systémiques (hormones, facteurs de croissance, cellules immunitaire/inflammatoire, cytokines), les régulateurs locaux (oxygène, métabolisme, nutriments), et les contraintes structurelles (membranes basales, compartiments physiques, matrice extracellulaire) pour pouvoir envahir de nouveaux écosystèmes tissulaires. La tête de mort indique le stade ultime des cancers non transmissibles, à savoir la disparition du cancer avec la mort de l'hôte. Une aire grisée représente un individu. **B)** Evolution des cancers transmissibles entre les hôtes. Les subclones ayant la capacité de contaminer un nouvel individu sont plus aptes à se disséminer, alors que d'autres subclones disparaissent avec la mort de leur hôte progéniteur. Les doubles lignes horizontales représentent les pressions de sélection entre les autres (ex : facteurs macro-environnementaux comme le génotype ou le système immunitaire). Les subclones transmissibles (ST) doivent surmonter des barrières similaires à celles des SM pour pouvoir envahir un nouvel hôte, représentant un nouvel écosystème. Les lignées pointillées montrent l'incertitude concernant l'origine de la lignée transmissible (tumeurs primitive ou métastase ?). Le symbole d'éternité indique que le stade ultime des cancers transmissibles est leur capacité à survivre au-delà de la mort de leur hôte. Ainsi, ils peuvent devenir immortels. Traduit à partir de Ujvari, Papenfuss & Belov, 2016b.

PARTIE 3 : CONSERVATION DU DIABLE DE TASMANIE, UNE ACTION COORDONNEE MULTIDISCIPLINAIRE

Etant donné l'important rôle écologique que joue le Diable de Tasmanie dans son écosystème, déjà déstabilisé par l'introduction de nombreuses espèces invasives depuis l'arrivée des colons au début du XIX^{ème} siècle, les gouvernements tasmanien et australien ont regroupé une équipe de scientifiques pour tenter d'enrayer leur déclin et préserver l'espèce. C'est ainsi qu'est né le *Save the Tasmanian Devil Program* en 2003 qui a pour objectif le maintien d'une population durable et écologiquement fonctionnelle de diables de Tasmanie à l'état sauvage (Huxtable et al. 2015). Les objectifs principaux du STDP sont le maintien de la diversité génétique du Diable de Tasmanie, le maintien de la population à l'état sauvage, et la gestion des impacts écologiques de la population réduite de diables dans son aire d'habitat naturel. Ces objectifs sont étalés dans le temps et organisés en 3 phases. La première phase consiste à caractériser la maladie, son mode de transmission et son impact démographique. La deuxième phase comprend l'établissement d'une population d'assurance constituée de diables indemnes de DFTD afin de préserver les effectifs de diables et une diversité génétique suffisante pour que la réintroduction à l'état sauvage, en troisième phase, permette la survie de l'espèce.

Le STDP est un programme de gestion des populations sauvages et captives de diables de Tasmanie, et nécessite par conséquent la collaboration d'autres institutions comme l'Université de Tasmanie (Australie), l'institut de recherche médicale Menzies (Tasmanie, Australie) qui s'occupe d'élaborer un vaccin, et les Universités de Sydney (Australie) et de Cambridge (Angleterre) qui étudient la génétique des diverses sous-populations et aident aux choix des individus à intégrer dans la population d'assurance ou à réintroduire sur un territoire donné pour maintenir une diversité génétique satisfaisante.

I. CONNAITRE SON ENNEMI POUR MIEUX LE COMBATTRE : ENJEUX DU SUIVI ANNUEL

Depuis l'apparition de la maladie sur le territoire tasmanien, les biologistes du STDP suivent des populations sauvages afin d'estimer l'impact de la DFTD à l'échelle de la Tasmanie, observer l'évolution des populations locales, et suivre le front de

dispersion de la maladie. Cependant, afin d'observer l'évolution de populations locales au cours du temps avec une confiance maximale, l'*Annual Monitoring Program* a été établi en 2014 pour standardiser les procédures d'observation et limiter les biais pouvant affecter les estimations issues de ces observations (STDP 2017b). Chaque année, huit sites différents sont investigués selon les mêmes conditions entre avril et août (**Figure 24**: *Les huit sites suivis chaque année dans le cadre de l'Annual Monitoring Program, en Tasmanie. D'après STDP, 2017b.* Chacun des sites est affecté par la maladie depuis plus ou moins longtemps. Par exemple, la DFTD est établie depuis longtemps dans des sites comme Bronte Park (2001) ou Buckland (2004). Par conséquent ces sites sont intéressants pour observer l'impact à moyen et long termes de la maladie sur la population, mais aussi pour évaluer les éventuelles adaptations des diables face à un fort déclin démographique local après plusieurs générations, voire des modifications génétiques. D'autres sites, en revanche, ont vu arriver la DFTD après que le programme de suivi annuel ait commencé, comme Granville Harbour, où la maladie a été décrite pour la première fois en 2015. L'étude de ces sites permet d'observer l'impact à court terme de la maladie. Enfin, la maladie n'a pas encore été observée à Woolnorth, à l'extrémité nord-ouest du pays, même si le front de la maladie n'est plus très loin. A noter que le site de Takone est également suivi par l'Université de Tasmanie, qui partage ses résultats avec le STDP même si la méthodologie est légèrement différente. Les sites eux-mêmes peuvent être une forêt d'exploitation (Kempton), des fermes bovines et ovines (Woolnorth), une ferme éolienne (Woolnorth), une base militaire (Buckland), des parcs nationaux (Narawntapu National Park) ou des forêts protégées (Bronte Park, en partie).

La collection des données se fait par méthode capture-marquage-recapture à l'aide de 40 pièges disposés dans des endroits stratégiques (intersections, à proximité de points d'eau, latrines, etc.) sur une période de sept nuits consécutives. Les pièges à diables ont été conçus spécifiquement dans ce but, afin d'éviter les blessures, une éventuelle évasion, et de faciliter le nettoyage des pièges. Chaque piège est vérifié une fois par jour. Si un diable est présent, il est scanné pour vérifier son identité, les diables attrapés étant identifiés à l'aide d'un transpondeur. S'il s'agit d'un individu attrapé au moins une fois pendant cette sortie sur le terrain, il est directement relâché. S'il n'a jamais été attrapé ou s'il a été attrapé lors d'un voyage précédent, il est identifié et examiné dans son ensemble (état général, estimation de l'âge avec observation de la denture, etc.). Si l'individu est une femelle, son marsupium est examiné pour

déterminer son statut reproducteur et l'éventuelle présence de jeunes. Chaque individu est examiné vigile, de façon méticuleuse pour vérifier la présence éventuelle de tumeurs qui pourraient être en relation avec la DFTD, et un score *Devil Facial Tumour Growth* (DFTG) lui est attribué. Ce score permet de graduer la probabilité qu'une tumeur soit en lien avec la DFTD et attribue une note allant de 1 à 5 : un score de 1 correspond à un diable ne présentant pas de tumeur. Un score de 2 correspond à un diable n'ayant pas pu être examiné dans son intégralité ou présentant une masse n'évoquant pas la DFTD. Un score de 5 correspond à un diable présentant une masse tumorale fortement évocatrice de la DFTD ; les scores 3 et 4 correspondent à des niveaux de probabilité intermédiaires qu'une tumeur soit liée à la DFTD. Si la tumeur est muqueuse ou cutanée non-ulcérée, une cytoponction à l'aiguille fine est pratiquée. Si la tumeur est cutanée et ulcérée, une biopsie est pratiquée.

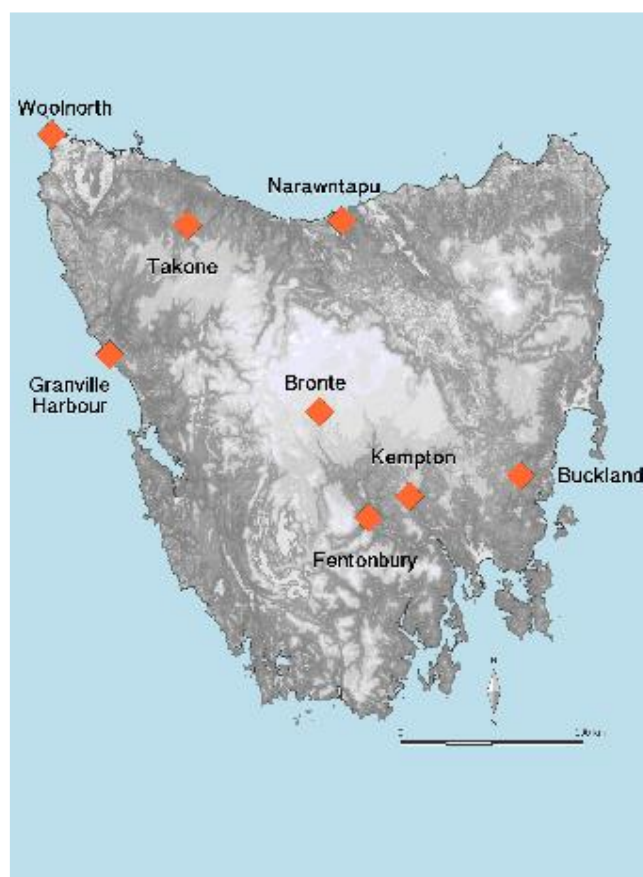


Figure 24: Les huit sites suivis chaque année dans le cadre de *l'Annual Monitoring Program*, en Tasmanie. D'après STDP, 2017b.

Les prélèvements ainsi effectués sont envoyés à l'Animal Health Laboratory (Tasmanie) pour confirmer ou infirmer la suspicion de DFTD. Dans le cas d'un individu dont l'état général est fortement compromis, les vétérinaires du programme ou à défaut des vétérinaires praticiens de cliniques alentours pratiquent une euthanasie en vertu

du bien-être animal. Cependant la politique du STDP est peu interventionniste sur les individus sauvages, par conséquent la présence seule de tumeurs sur un individu n'entraîne pas systématiquement son euthanasie si son état général est bon, particulièrement lorsqu'il s'agit d'une femelle portant des jeunes, dans l'espoir que celle-ci survive suffisamment longtemps pour les mener à l'indépendance. Hawkins et al. (2006) présentent les modalités de capture et examen des diables avec plus de détails.

La collection de données dans des conditions similaires année après année permet d'obtenir des tendances d'évolution des populations locales plus fiables. En effet, d'une année sur l'autre des événements non liés à la DFTD peuvent affecter les observations, par exemple une année particulièrement sèche peut entraîner une baisse d'observation, une bonne saison de reproduction peut entraîner une augmentation du nombre de jeunes dans le marsupium sans que cette tendance soit confirmée les années suivantes, etc. Ces observations dans le temps, à différents moments après l'installation de la maladie dans la population permettent d'estimer son impact démographique, mais aussi de voir comment les différentes populations s'adaptent, et l'éventuelle apparition de mécanismes de résistance. Ainsi, pendant le suivi de 2017, un individu de Fentonbury présentant des tumeurs évoquant fortement la DFTD présentait déjà des tumeurs pendant le suivi de 2016 (STDP 2017b). La survie au-delà d'un an d'un animal atteint de la maladie est extrêmement rare et il est intéressant de comprendre les mécanismes immunologiques et génétiques cachés derrière ces cas exceptionnels. De plus, sur ce même site où la maladie est présente depuis plus de 10 ans, les estimations issues des données récoltées sur le terrain, mais également par les traces que les diables laissent dans le paysage (en particulier les sites de latrines) montrent une augmentation de la population.

Pour d'autres raisons, le site de Woolnorth est intéressant car les diables y sont significativement moins féconds que sur d'autres sites. Ce site présente une densité en diables très élevée en comparaison avec d'autres sites actuels, mais pas exceptionnelle par rapport à d'autres sites autrefois denses comme le Parc National de Mont William (avant l'apparition de la maladie), où la fécondité était pourtant élevée. La maladie n'ayant *a priori* pas encore atteint l'extrême pointe nord-ouest de l'île, cette faible fécondité n'a pour l'instant pas de répercussion sur la démographie de cette population. Cependant, dans l'hypothèse de l'arrivée de la maladie, ce qui pourrait vraisemblablement arriver dans les années à venir, une fécondité faible pourrait être

un facteur aggravant le déclin démographique initié par la DFTD. Il apparaît alors important d'investiguer ce problème de fécondité et de déterminer s'il s'agit simplement d'un phénomène de régulation lié à la densité de population, qui pourrait alors être réversible si la population venait à chuter, ou s'il s'agit d'un phénomène plus complexe.

De façon parallèle à l'*Annual Monitoring Program*, le *Roadkill Program* s'occupe de répertorier les morts de diables liées à des accidents de la voie publique sur tout le territoire, se basant sur les signalements et témoignages fournis par le grand public. Tout citoyen ou touriste peut contacter le programme par le moyen qui lui convient (téléphone, courrier postal, internet) pour signaler un cadavre de diable sur la route, en joignant la plupart du temps des photographies afin de confirmer l'identification de l'espèce et de déceler la potentielle présence de tumeurs. Dans le passé cela a permis de confirmer la présence de la maladie dans la partie sud-ouest du pays, où à ce jour aucune enquête de prévalence n'a été menée. Mis à part le signalement de la mortalité sur la route, le *Roadkill Program* a un rôle éducatif fort auprès des communautés locales.

En outre, les analyses génétiques menées à la fois sur les tumeurs et sur les diables depuis les années 2000 montrent une évolution génétique des diables contemporaine de celle de la DFTD. Chaque année, de nouvelles lignées ou sous-lignées sont découvertes : certaines persistent quelques années et se répandent, d'autres restent localisées et d'autres s'éteignent rapidement. Quoi qu'il en soit, cela montre qu'il s'agit d'une maladie évolutivement dynamique, soumise à des pressions de sélection parfois fortes. De plus, l'apparition de la seconde maladie tumorale faciale en 2014 est préoccupante. Elle est aujourd'hui localisée uniquement au niveau de la péninsule du Canal, au sud-ouest de Hobart, mais persiste dans le temps et demande à être surveillée de près.

Ainsi, il est important de surveiller la maladie de façon rapprochée et de comprendre les mécanismes adaptatifs impliqués afin de pouvoir adapter la stratégie de conservation de façon à entreprendre des actions les plus pertinentes possibles.

II. CONSTITUTION D'UNE POPULATION INDEMNÉ DE DFTD : LA POPULATION D'ASSURANCE

1. Définition et objectifs de la population d'assurance

La constitution d'une population captive en bonne santé est un outil de choix dans la gestion d'espèces menacées, en permettant de créer un pool d'individus aptes à être relâchés à l'état sauvage dans une optique de repeuplement (Hogg et al. 2016). Ce type de mesure est cependant très coûteux et nécessite l'appui d'institutions gouvernementales et privées, notamment à travers la participation des parcs zoologiques à l'effort de conservation, que ce soit en termes d'infrastructures (par exemple en hébergeant un certain nombre d'individus de l'espèce) ou de moyens financiers. Dans un cadre global, étant donné les difficultés financières, humaines et comportementales à garder en permanence une population captive dans des conditions correctes, il est recommandé de limiter la constitution et l'utilisation d'une population d'assurance à 40 ans au maximum (Fa, Funk, O'Connell 2011). En effet, outre le coût d'une telle opération, les individus d'une espèce dont le cycle de vie est court s'adaptent à la captivité en peu de générations.

Dans un contexte de biologie de la conservation, on parle de « gestion d'une métapopulation » pour décrire les mouvements d'individus spécifiques entre des populations connues pour assurer la survie à long terme de l'espèce. Il s'agit d'un outil de conservation utilisé à travers le monde.

Dans le cas du diable de Tasmanie, la métapopulation d'assurance a été fondée en 2006 en réponse au rapide déclin démographique engendré par la DFTD. Le principal objectif de la métapopulation d'assurance est non seulement de conserver un nombre suffisant de diables indemnes de DFTD pour que le repeuplement des zones affectées puisse être effectué, mais surtout de garantir le maintien d'une diversité génétique suffisante, à savoir réussir à représenter 95% de la diversité génétique présente dans la population sauvage sur 50 ans (Hogg 2017). En effet, la diversité génétique au sein d'une espèce permet à celle-ci d'assurer un potentiel évolutif à long-terme, il s'agit donc d'un enjeu clé dans les programmes de conservation. La perte de diversité génétique a entre autres pour conséquences de réduire la capacité d'adaptation face à des conditions environnementales changeantes, de diminuer la résistance face aux maladies, d'augmenter la fragilité de la population dans le cas d'évènements stochastiques (ex : catastrophe naturelle), et de réduire la fécondité et ainsi, l'efficacité reproductive. Par conséquent, afin de ne

pas perdre en diversité allélique, il est important de faire en sorte que les individus réintroduits à l'état sauvage dans le cadre d'un programme de repeuplement soient génétiquement représentatifs de la population sauvage de laquelle ils proviennent (Hogg et al. 2016). Un autre enjeu de la population d'assurance est de maintenir la flore et la faune associées au Diable de Tasmanie, en particulier les flores commensales, symbiotiques et parasitaires (Huxtable et al. 2015).

Pour cela, 120 individus fondateurs sauvages issus d'une vaste région à l'ouest de la Tasmanie, où la maladie n'était alors pas présente devaient être prélevés (**Figure 25**). Cette origine restreinte des individus fondateurs pose un problème de diversité génétique, l'espèce présentant déjà une faible diversité génétique liée à divers événements survenus avant l'apparition de la DFTD. Les connaissances sur la maladie étaient à cette époque moins avancées (période d'incubation, mode de transmission, etc.) et c'est pour cette raison que ce choix, en vertu du principe de précaution, a été fait. Depuis, d'autres individus prélevés de leur milieu naturel, mais aussi par le biais de la reproduction en captivité dans différentes institutions ont été ajoutés à cette population de réserve (Hogg et al. 2016).

Un autre enjeu clé pour le succès du repeuplement à partir d'une métapopulation captive est de réduire au maximum le potentiel d'adaptation des individus au milieu captif. En effet, un individu captif ne montrant pas de comportements sauvages n'est pas relâchable, et par conséquent ne contribue pas l'augmentation des effectifs sauvages, directement par sa présence ou indirectement par la descendance qu'il peut engendrer. La captivité peut également impacter le succès de reproduction. Ainsi, le maintien en captivité doit faire l'objet d'une gestion particulière à chaque espèce pour diminuer au maximum l'impact sur la reproduction et le comportement (Hogg et al. 2016).

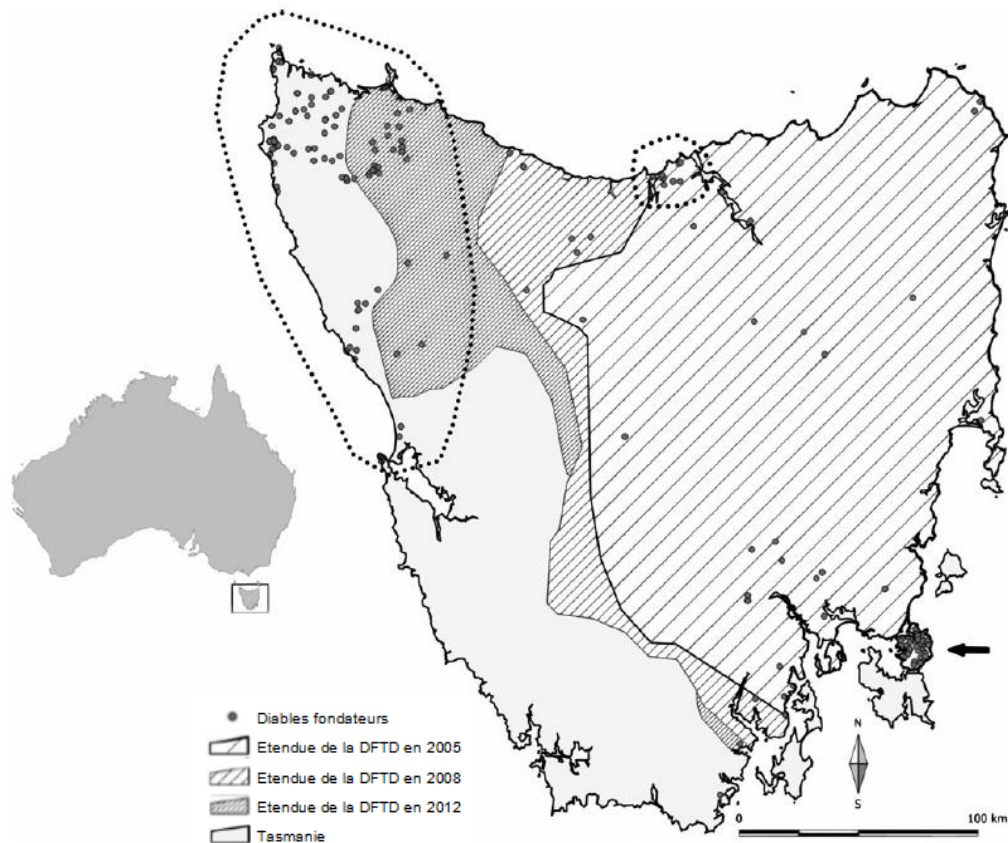


Figure 25: Origine des diables fondateurs de la population d'assurance en 2016. Les cercles pointillés représentent les deux principales régions où les diables ont été collectés. D'autres individus font partie du programme des orphelins ou de la dépopulation de la péninsule de Forestier (flèche) survenue en 2012. Les parties hachurées représentent l'aire d'étendue de la DFTD en 2005, 2008 et 2012. Il est aujourd'hui considéré que la DFTD est étendue à l'ensemble du territoire. Traduit à partir de Hogg *et al*, 2016.

La métapopulation d'assurance de diables de Tasmanie est co-gérée par le STDP et par la *Zoo and Aquarium Association* (ZAA dans la suite) qui regroupe les parcs zoologiques et aquariums de la zone Asie-Océanie et qui publie régulièrement des recommandations concernant les conditions d'hébergement des diables de Tasmanie, les individus à reproduire, les mouvements d'individus captifs entre différentes institutions, mais aussi le choix des individus captifs à réintroduire dans une zone donnée ou les individus sauvages à prélever pour alimenter génétiquement la population d'assurance (Huxtable et al. 2015). Au moment du prélèvement des individus sauvages lors de la constitution de la population d'assurance, il existait déjà une population captive de 112 individus répartis dans 15 zoos tasmaniens, gérée par la ZAA. Les directives délivrées par la ZAA sont initialement basées sur le *Population and Habitat Viability Assessment* (PHVA), un rapport de 2008 rédigé par l'Union Internationale pour la Conservation de la Nature (UICN), commission Survie des Espèces (SSC), par un groupe spécialiste de la reproduction en vue de conservation

(CBSG 2008). Les recommandations étaient alors basées sur l'hypothèse d'une extinction des diables à l'état sauvage en 25-30 ans (McCallum et al. 2007) et préconisaient une population captive établie à partir de 150 individus fondateurs pour atteindre une taille de 500 individus (Hogg et al. 2016). Plus récemment, le *Metapopulation Advisory Committee* (MAC) a été créé avec l'objectif de fournir un cadre au développement et au maintien de la population d'assurance, et dont les membres proviennent entre autres du *Department of Primary Industries, Parks, Water and Environment* (DPIPWE), de ZAA et du CBSG de l'UICN (Hogg 2017).

Aujourd'hui, la métapopulation d'assurance est composée de groupes de diables hébergés dans différentes conditions de captivité (captivité intensive, semi-liberté, etc.) et comprend plus de 700 individus dont 180 fondateurs (Hogg et al. 2016). Les individus sont transférés d'une structure à l'autre, voire relâchés à l'état sauvage, selon les besoins et en fonction des nouvelles découvertes relatives à la maladie ou les éventuelles preuves de « résistance » ou co-existence avec la maladie dans les populations sauvages (Huxtable et al. 2015).

2. Les différentes formes de la population d'assurance

De nombreux sites en Tasmanie, en Australie et à l'étranger hébergent, sous différentes conditions, des diables de Tasmanie à la fois dans l'optique de constituer une population indemne, mais aussi de reproduire les diables (**Tableau 3**).

Les conditions de captivité intensive regroupent un à deux diables par enclos, d'environ 5x5m, avec un enrichissement limité comprenant néanmoins des cachettes végétales et des niches agrémentés de pailles. Les individus y sont nourris et surveillés quotidiennement. Par conséquent, ces diables sont fortement imprégnés. Ces animaux ne sont pas présentés au public.

Les individus hébergés dans les *Managed Environment Enclosures* (MEEs) font typiquement partie des parcs zoologiques et parcs de faune sauvage, que ce soit en Tasmanie, sur le continent australien, ou dans des zoos étrangers à travers l'*Ambassador Program*. Ces enclos sont généralement plus grands, contiennent plus de parties naturellement végétalisées et l'enrichissement est plus approfondi. Ils contiennent également plus d'individus. La surveillance y est également quotidienne.

Tableau 3 : Composition de la métapopulation d'assurance en 2016.

| <i>Conditions</i> | Captivité intensive | Managed Environment Enclosures (MEE) | Free-Range Enclosure (FRE) | Maria Island | Tasman-Forestier Peninsula |
|---|---|--|---|---|--|
| <i>Description</i> | Enclos simples et restreints, enrichissement présent. | Parcs zoologiques, sanctuaires de faune sauvage. Enrichissement important afin de maintenir un comportement sauvage. | Enclos d'environ 20ha. Semi-liberté. Possibilité de se nourrir d'animaux présents dans le FRE mais approvisionnement alimentaire quotidien. | Île de 115,5km ² , occupation humaine minimale (Parc Naitonal). Axe routier de service uniquement. | Péninsules de 960km ² au total, occupées par l'homme en faible densité. Un axe routier majeur |
| <i>Exemple</i> | Cressy | Trowunna Wildlife Park (Tasmanie), Healesville Sanctuary (Victoria), zoos étrangers faisant partie de l'Ambassador Program | Bridport Freycinet | | |
| <i>Fondateurs</i> | Plus de 150 fondateurs | | | Environ 40% d'origine captive | Environ 30% d'origine captive |
| <i>Taille de la population (sept. 2016)</i> | TOTAL : 516 Institutions australiennes : 478 Ambassador Program : 38 | | 18 | Environ 130 | Environ 45 |
| | Taille totale de la population d'assurance : 709 | | | | |

Le *Tasmanian Devil Ambassador Program* (TDAP) a commencé en 2013, en partenariat avec la ZAA, afin de placer des diables dans des zoos étrangers soigneusement sélectionnés et jouant le rôle d'ambassadeur, dans un but pédagogique, mais aussi pour les impliquer dans la conservation du Diable de Tasmanie. Ainsi, on peut aujourd'hui observer des diables de Tasmanie dans des zoos en Nouvelle-Zélande, au Japon, aux Etats-Unis et au Danemark. Les zoos partenaires doivent satisfaire des conditions d'hébergements correctes pour les diables de Tasmanie, en matière d'espace, de biosécurité, d'enrichissement, et le personnel est soumis à une formation particulière pour apprendre à manipuler ces animaux, connaître leurs besoins et les principaux problèmes rencontrés en captivité. Ils sont

également formés à reconnaître la DFTD, si malgré les efforts de biosécurité mis en place elle venait à apparaître dans une population captive. De plus, les zoos partenaires contribuent au financement des différentes actions, comme par exemple le programme de suivi annuel (*Annual Monitoring Program*) ou le *Roadkill Program*. Les diables captifs et les données collectées sont la propriété du gouvernement tasmanien (Hogg et al. 2016) ; ainsi ces populations *ex situ* peuvent être agrémentées de nouveaux diables ou voir leurs individus rapatriés en Tasmanie en fonction de leur comportement et de leur profil génétique pour compléter une population sauvage.

Les *Free-Range Enclosures* (FREs) sont des grands enclos fermés. Le premier a ouvert ses portes en 2008 à Bicheno et avait une surface de 11ha. Aujourd'hui, seuls les FREs de Freycinet (établi en 2011) et Bridport (2010) sont encore en fonction. Ils contiennent 15 à 20 diables pour une surface de 20ha, soit une densité maximale de 1diable/ha (Hogg et al. 2016). Ces dispositifs permettent aux diables de garder des comportements sauvages car l'action humaine est limitée. Cependant, des niches, mimant des tanières, sont placés, ainsi que des sites d'alimentation dont la localisation au sein du FRE change constamment. La politique dans ces structures est peu interventionniste : les animaux sont surveillés à l'aide de caméras infra-rouge pour vérifier les problématiques liées au bien-être animal (comportement, état général, etc.) et la vermifugation n'est entreprise que si des signes cliniques sont observés, ce pour des questions de résistance aux produits anti-parasitaires, mais aussi pour préserver certaines espèces d'helminthes. Avant un repeuplement, les diables provenant de captivité plus intensive font généralement un séjour de quelques semaines en FRE avant d'être relâchés.

Maria Island est une île de 115,5km² au large de la côte est de la Tasmanie. Avant l'arrivée des Européens, quelques communautés aborigènes vivaient sur l'île. Pendant la première partie du XIX^{ème} siècle, elle a également hébergé des bagnards. Le baigne de Darlington a été remplacé par une industrie de ciment jusque dans les années 1930, puis par des fermes jusque dans les années 1960. Depuis 1972, Maria Island est un Parc National. L'activité y est donc touristique, avec des infrastructures simples dans le village de Darlington (bureau des Rangers dans l'ancien commissariat, chambres dans l'ancien pénitencier, aire de camping) et des chemins de randonnée. Les diables ne sont pas endémiques de l'île mais les recommandations de la Commission de Survie des Espèces de l'UICN stipulent que la protection facilité d'une espèce dans un nouveau milieu vis-à-vis d'une menace présente dans son l'habitat

naturel est une raison valable à cette introduction dans ce nouveau milieu (IUCN, SSC 2013). Dans le cadre d'une colonisation assistée, 15 individus ont été introduits par le programme en 2012 puis 13 autres en 2013 dans l'optique de constituer une population quasi-sauvage à l'abri de la DFTD. Ces individus ont été choisis sur des critères génétiques (représentativité de la population sauvage) et comportementaux (éviter maximal de l'homme, étant donné qu'il s'agit d'une île touristique) (Wise 2011). Les indicateurs de succès post-peuplement (survie des diables introduits, état général, succès reproductif *in situ*, etc.) sont positifs puisqu'aujourd'hui l'île compte 130 individus, dont 4 ou 5 fondateurs. Cependant, la population de l'île commence à s'épuiser génétiquement ; certains individus ont donc été retirés de l'île pour être relâchés en Tasmanie, et il est prévu de compléter la population avec de nouveaux individus sélectionnés sur des critères génétiques à l'été 2017. De plus, certains comportements déplacés de la part des touristes présents sur l'île (nourriture non placée dans des boîtes fermées, attraction volontaire des animaux sauvages avec de la nourriture, etc.) favorisent la venue des diables aux abords des habitations, ce qui peut potentiellement présenter un danger pour les humains et pour les diables, puisque ceux-ci sont moins effrayés.

La péninsule de Forestier et la Péninsule de Tasman sont l'une à la suite de l'autre et représentent un espace total de 960km². Il s'agit de presque îles présentant une activité humaine faible avec un axe routier majeur et quelques villages. La route est néanmoins assez abondamment fréquentée par les touristes se rendant sur le site de Port Arthur qui fût l'un des bagnes les plus importants dans l'histoire de l'Australie pendant le XIX^{ème} siècle. Les diables de Tasmanie sont endémiques de ces zones, et la DFTD a été détectée dans la Péninsule de Forestier en 2004. Entre 2004 et 2010, le programme a mis en place une élimination sélective : tout diable attrapé sur la Péninsule de Forestier présentant des signes cliniques de la DFTD était retiré du site et euthanasié, sauf s'il s'agissait d'une femelle portant des jeunes, auquel cas elle était placée en quarantaine en captivité jusqu'à indépendance des jeunes si elle survivait assez longtemps (Lachish et al. 2010).

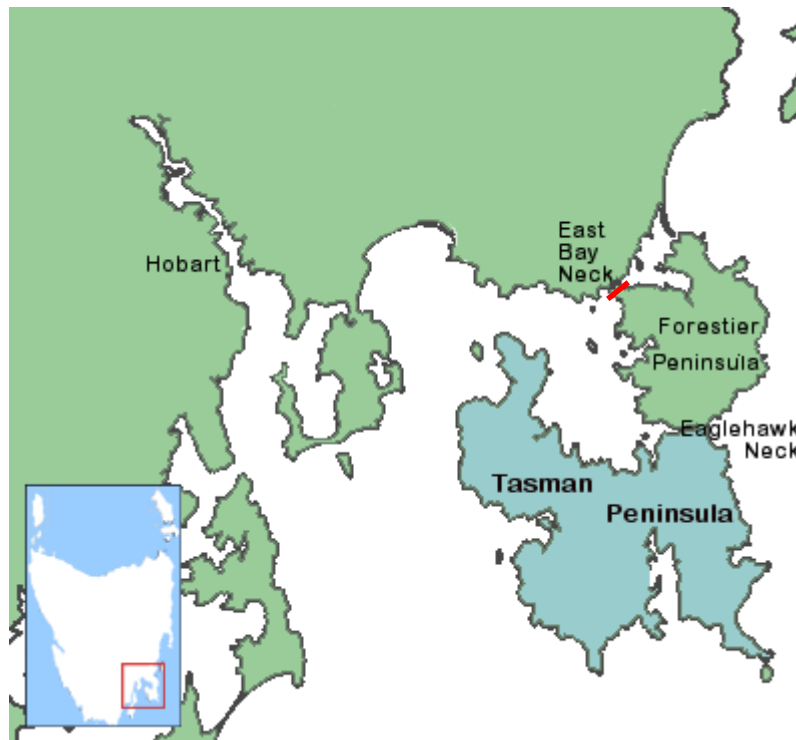


Figure 26 : Carte des Péninsules de Forestier et de Tasman. La ligne rouge indique la localisation de la clôture installée afin de limiter les mouvements de diables vers et en dehors de la Péninsule de Forestier.

Ce dispositif n'ayant pas permis de réduire le rythme de dispersion de la maladie ou son impact sur la population de diables, probablement à cause du caractère fréquence-dépendant de la maladie (Lachish et al. 2010; Beeton, McCallum 2011), il a été décidé de dépeupler entièrement la Péninsule de Forestier. Le dépeuplement a eu lieu en 2012. Les 20 à 30 diables présents sur la Péninsule de Tasman, suivie de près depuis le début des années 2000, ne présentant pas de signes de DFTD ont été laissés *in situ* (Huxtable et al. 2015). La Péninsule de Forestier a fait l'objet d'un « vide sanitaire » pendant 3 ans durant lesquels elle a été surveillée par caméras infra-rouges afin d'évaluer la présence de diables migrant depuis la Péninsule de Tasman, ou depuis le reste de la Tasmanie. La Péninsule a été repeuplée en 2015 et 2016 avec 50 individus captifs indemnes de DFTD. La population de Forestier, relativement isolée géographiquement, est considérée comme faisant partie de la métapopulation d'assurance. Ainsi, des individus peuvent y être prélevés et déplacés dans une autre structure captive, ou relâchés à l'état sauvage dans une autre partie de la Tasmanie. Afin d'isoler la péninsule au maximum et de limiter les migrations de diables, une clôture a été bâtie à distance de l'isthme de East Bay Neck. Cela crée une zone tampon dépourvue de diables entre la Tasmanie et la Péninsule de Forestier (**Figure**

26). Cependant, les mouvements restent possibles car les diables sont capables de nager sur de courtes distances et la clôture possède une ouverture où passe la route principale.

Enfin, dans le cadre de l'*Orphan Program*, tout diable juvénile orphelin recueilli est soigné et nourri par du personnel qualifié, puis intégré dans la population captive une fois arrivé à maturité. En effet, depuis que la DFTD est apparue en 1996, aucun cas de transmission de la mère à un juvénile n'a été décrit (Hogg et al. 2016). Ceci pourrait être expliqué par le fait que les juvéniles ne se battent pas ce qui réduit la probabilité d'infection, mais aussi par un système immunitaire qui pourrait être plus efficace chez les jeunes que chez les adultes (Ujvari et al. 2016). Par conséquent, les orphelins, peuvent être directement intégrés dans la population captive, une fois indépendants. Entre 2010 et 2015, 14 nouveaux individus fondateurs sont venus compléter la population d'assurance grâce à ce programme (Hogg et al. 2016).

Il a également été proposé de réintroduire les diables de Tasmanie sur le continent australien. En effet, certaines études estiment la présence des diables sur le continent jusqu'à il y a environ 450 ans et expliquent leur disparition par la compétition avec les aborigènes, les dingos et une modification du climat (brièvement synthétisé dans (Huxtable et al. 2015). Les dingos n'étant plus présents dans les zones de réintroduction proposées et la DFTD étant absente du continent, cette proposition semble intéressante. Cependant, il est difficile de prévoir comment les individus introduits s'adaptent dans ce nouvel environnement différent de la Tasmanie actuelle et de celui du moment de leur extinction sur le continent il y a plus de quatre siècles. En particulier, de nouveaux prédateurs invasifs ont été introduits depuis l'arrivée des européens, comme le Chat sauvage (*Felis catus*) et le Renard roux (*Vulpes vulpes*), lui aussi opportuniste. Cela pourrait impacter les chances de survie des individus réintroduits étant donné que leur niche écologique est aujourd'hui occupée. De plus, il existe un certain nombre d'espèces menacées sur le continent et il est difficile de prévoir l'impact de la réintroduction de diables sur ces populations (Huxtable et al. 2015). Par conséquent, bien qu'évoquée, cette option est, à ce jour, délibérément laissée de côté.

Cette composition entre les différents « réservoirs » captifs n'est pas fixe dans le temps, aussi bien qualitativement que quantitativement, mais sujette à évolution en fonction des comportements présentés par les individus, leur profil génétique et les

phases de repeuplement sur l'île de Tasmanie. Ainsi, les individus peuvent être transférés d'une infrastructure captive à l'autre pour des questions de reproduction avant d'être éventuellement relâchés à l'état sauvage. De façon réciproque, des individus sauvages peuvent être prélevés de leur milieu naturel afin de compléter génétiquement telle ou telle sous-population captive. Pour chaque site de captivité, le risque biologique de transmission de DFTD est catégorisé, et ces catégories définissent les conditions de quarantaine en l'absence de test diagnostique pré-clinique. Contrairement au mouvement traditionnel unidirectionnel des individus captifs vers l'état naturel, la gestion de la population de diables de Tasmanie est une gestion bidirectionnelle, de la captivité à l'état sauvage et inversement (Hogg et al. 2016).

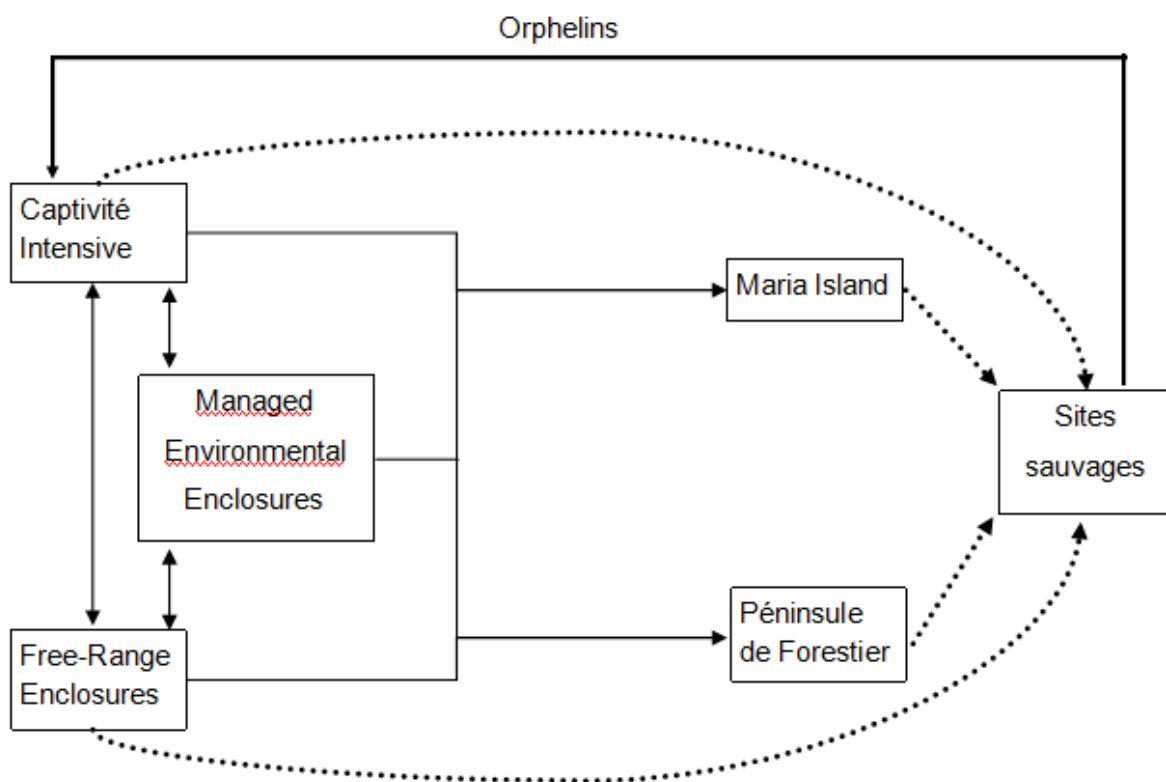


Figure 27 : Gestion des mouvements de diables captifs entre les différents sites de captivité. Les flèches indiquent le sens du mouvement, les lignes pleines indiquent les mouvements de diables entre les sites captifs ; les lignes pointillées indiquent les mouvements de diables relâchés à l'état sauvage et la ligne épaisse représente les diables prélevés depuis le milieu naturel. Traduit et adapté à partir de Hogg *et al.*, 2016.

3. Limites de la population d'assurance

La constitution d'une population d'assurance captive est certes indispensable dans le cas du Diable de Tasmanie mais néanmoins extrêmement coûteuse. Hogg et al. (2016) estiment le coût à plusieurs dizaines de millions de dollars australiens entre

2006 et 2010. L'*Ambassador Program* prend alors tout son sens, car il permet d'héberger des diables captifs à moindre coût pour le gouvernement de Tasmanie, mais aussi de financer d'autres programmes gérés par le STDP, comme par exemple le programme de suivi annuel, partiellement financé par le zoo de Toledo (U.S.A.).

De plus, il est estimé que si la population captive est prolongée au-delà de 40 ans, les modifications comportementales ont plus de chances d'être génétiquement fixées, par modifications génétiques et épigénétiques, apportant un avantage évolutif dans un contexte de captivité (Hogg et al. 2016; Grueber et al. 2017). Ainsi, l'objectif ultime n'est pas de constituer une population captive éternelle, mais suffisante en effectifs et en diversité génétique.

Un avantage considérable du Diable de Tasmanie est que, contrairement à d'autres espèces, il n'est pas difficile à garder en captivité, d'un point de vue du bien-être animal et d'un point de vue reproductif. Cependant, certains mâles dominants se reproduisant plus que les autres et sont donc génétiquement plus représentés. De même, dans une sous-population captive comme Maria Island où peu de diversité génétique a été introduite ces dernières années, certaines « familles » sont plus représentées que d'autres (Hogg et al. 2016). Ainsi, afin d'optimiser la diversité génétique de la métapopulation d'assurance, des techniques de contraceptions réversibles sont utilisées afin de donner aux individus dominés l'opportunité de se reproduire et de propager leur potentiel génétique. En particulier, des femelles soigneusement sélectionnées sont stérilisées temporairement grâce à un implant de desloréline, un agoniste de la GnRH.

4. «Devil Tools and Tech » : une action coordonnée du secteur de la recherche et de la gestion quotidienne de la population captive

Le succès d'un programme de conservation passe entre autres par la collaboration étroite entre les chercheurs dans le domaine de la conservation et les gestionnaires des populations sauvages et/ou captives d'une espèce menacée (pour le détail des références, voir Hogg et al. 2017). Les éléments clés sont la collaboration, la communication, l'application et la médiation. Le « Devil Tools and Tech » est un outil principalement génétique, né de la collaboration entre la ZAA et l'Université de Sydney afin de surmonter la proximité génétique des premiers individus fondateurs de la population d'assurance, étant donné que ces individus ont tous été prélevés à partir

de populations sauvages de la côte ouest et du nord-ouest de la Tasmanie où la maladie n'était à l'époque pas encore présente (Hogg et al. 2017). Ainsi, les chercheurs ont conçu une méthode de génotypage des SNP (*single nucleotide polymorphisms*), afin de déterminer le devenir d'un individu donné (être déplacé vers la population captive ; être relâché dans une région donnée ; avec quel individu le reproduire ; etc.) (Wright et al. 2015). De même, tout choix impliquant le mouvement d'un animal dans le cadre de la gestion de la population captive doit être présenté et validé par l'équipe de recherche concernée.

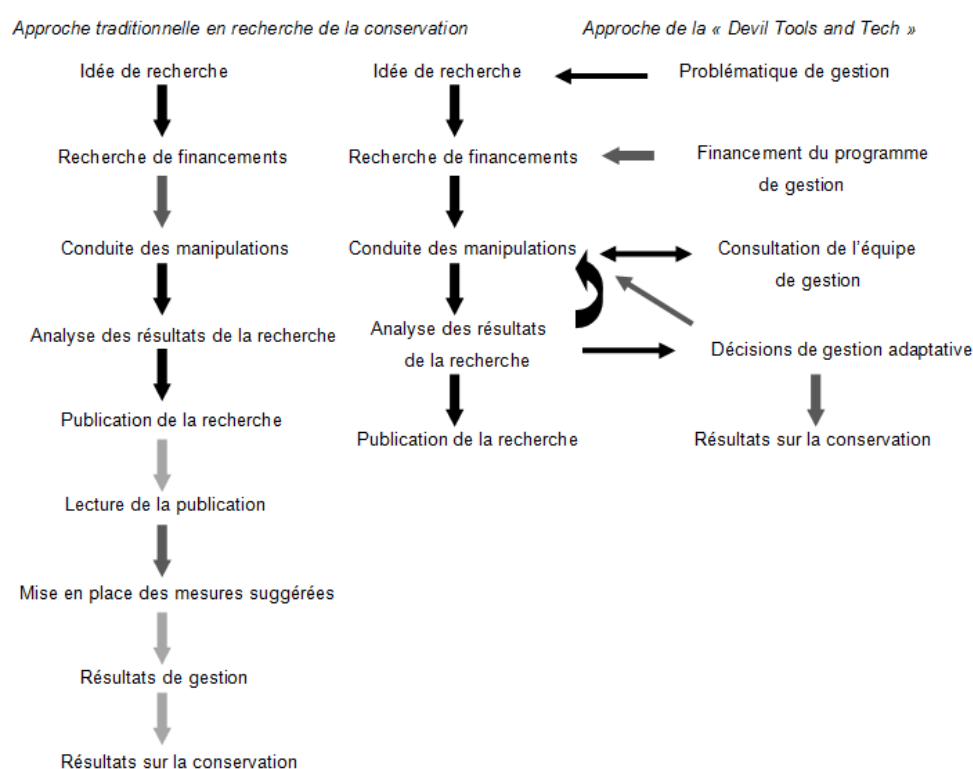


Figure 28 : Différences entre l'approche traditionnelle de recherche en conservation et l'approche « Devil Tools & Tech », étant une approche intégrée de la recherche, du terrain, et de la gouvernance, et donc l'objectif est une issue bénéfique d'un point de vue de la conservation. Les lignes foncées indiquent une plus forte probabilité de succès/de réalisation alors que les lignes plus claires indiquent une probabilité plus faible. Traduit et adapté à partir de Hogg *et al.*, 2017.

Ce type de collaboration amène un gain réciproque aux deux parties quand le travail est mené de façon parallèle, et non selon un flux linéaire unidirectionnel que constitue le modèle classique, comme représenté dans la **Figure 28**. Ce nouveau modèle permet de mettre en place une gestion des populations captives et sauvages adaptative, qui s'ajuste presque en temps réel, ce qui permet d'améliorer nettement les résultats (Hogg et al. 2017).

Les SNP sont des remplacements d'un nucléotide dans des séquences d'ADN données. Ils surviennent tous les 300 nucléotides environ ; le génome humain contient donc environ 10 millions de SNP. La variation au niveau des SNP est la variation la plus marquée entre deux individus génétiquement distincts. Ainsi, la combinaison nucléotidique observée au niveau des SNP permet de caractériser un individu donné. Ces séquences particulières sont souvent placées entre les gènes, et peuvent être utilisées comme des marqueurs. Lorsque le SNP est placé dans la séquence d'un gène donné, il peut avoir un rôle plus direct, en altérant notamment la fonction du gène (Department of Health & Human Services 2017).

Chez le diable de Tasmanie, Wright et al. (2015) ont identifié plus de 1800 SNPs. La méthode d'analyse génétique en utilise jusqu'à 224, dans l'optique de déterminer les liens de parenté entre des individus gardés dans les mêmes enclos, de déterminer le degré de parenté entre les individus fondateurs de la population captive et ainsi émettre des recommandations adaptées pour éviter la consanguinité, et enfin mettre en place une stratégie de contraception pour éviter la surreprésentation de certaines familles dans des populations isolées (Hogg et al. 2017). Afin d'affiner cet outil, les objectifs sont aujourd'hui de déterminer quels sont les gènes en lien avec l'adaptation en captivité et un comportement placide (qui sont indésirables pour pouvoir réintroduire les individus à l'état sauvage), avec l'agressivité et la hardiesse (qui jouent un rôle dans la transmission de la DFTD), avec le succès reproductif et avec l'efficacité du système immunitaire (Wright et al. 2015).

Enfin, depuis l'établissement de la population d'assurance, des modifications d'origine anthropologique de comportement et d'incidences de certaines affections ont été décelées. Il s'agit notamment d'une hausse de la mortalité sur la route chez les diables captifs relâchés et de la détection d'une plombémie élevée en captivité.

5. Captivité et augmentation du risque d'accident de la voie publique

Les diables de Tasmanie sont, même à l'état sauvage, particulièrement sujets aux accidents de la route. En effet, ils sont nocturnes, noirs, utilisent les chemins et routes pour se déplacer et sont charognards. Par conséquent, il est relativement aisé de les trouver sur une route, de nuit, se nourrissant d'une carcasse de wallaby ou de possum d'Australie (Owen, Pemberton 2011). Dans le cadre de repeuplements, sur

50 diables captifs relâchés au Parc National de Narawntapu et dans la Péninsule de Forestier, où des axes routiers sont présents, 19 sont morts suite à un accident de la voie publique dans les six semaines post-réintroduction. Grueber et al. (2017) en ont conclu que plus le nombre de générations en captivité avant son relâché est élevé, plus un individu est susceptible de mourir d'un accident de la voie publique. Ceci peut être expliqué par une association positive entre la nourriture et les voitures. En effet, les diables captifs sont souvent confrontés à la présence de véhicules à moteur, ce qui les rend moins méfiants. De plus, en particulier dans le cas des FRE, les nouvelles carcasses installées pour nourrir les diables dans l'enclos sont souvent acheminées à bord d'un véhicule à moteur. Ainsi les diables associent la présence de nourriture à celle des voitures. Ces nouveaux faits renforcent la théorie selon laquelle le nombre de générations en captivité doit être restreint afin que les diables gardent leur capacité d'adaptation au milieu sauvage. Cela fournit également des éléments d'améliorations des conditions de captivité permettant de donner aux diables relâchés de meilleures chances de survie.

6. Hausse de la plombémie chez les diables captifs

Depuis quelques années, diverses communautés scientifiques étudiant des oiseaux sauvages (charognards en particulier) s'inquiètent de l'accumulation de preuves suggérant une intoxication au plomb, clinique ou subclinique, dans de nombreuses populations aviaires à travers le monde : en France (Pain, Amiardtriquet 1993), en Espagne (Rodríguez et al. 2010), en Europe du Nord (Ecke et al. 2017), en Amérique du Nord (Behmke et al. 2015) et en Amérique du Sud (Pattee et al. 2006; Wiemeyer et al. 2017). En effet, les oiseaux charognards seraient exposés au plomb par voie orale, notamment en ingérant des carcasses d'animaux abattus par des munitions au plomb ou en ingérant le couloir de pénétration de la balle, souvent découpé et laissé par les chasseurs. Si les études concernant les mammifères terrestres sont beaucoup plus rares, des preuves d'intoxication existent néanmoins. Ainsi, North et al. (2015) décrivent deux cas d'intoxication suspectée au plomb chez des guépards (*Acinonyx jubatus jubatus*). Les deux animaux, détenus en captivité pour une période de temps déterminée dans le cadre d'un programme de conservation, auraient ingéré une balle plombée contenu dans leur alimentation, causant une intoxication aiguë engendrant leur mort.

La toxicité du plomb est complexe, et dépend de plusieurs facteurs comme la voie d'exposition, la dose reçue, la fréquence et la durée d'exposition. Chez les humains, les analyses cinétiques de plombémie montre qu'il peut exister dans trois compartiments, ayant des demi-vies croissantes : d'abord le sang où la plombémie peut persister quelques semaines, puis les tissus mous où elle est détectée pendant 2 mois et enfin les os où le plomb peut être stocké pendant plusieurs années (Rabinowitz, Wetherill, Kopple 1976). Ces compartiments sont en communication : le plomb contenu dans les tissus mous ou dans les os est progressivement relargué dans le sang. Par conséquent, même une fois la source d'exposition apparente supprimée, la plombémie peut rester élevée (Wiemeyer et al. 2017).

Par ce métabolisme complexe, la présentation clinique peut être très variée. Ainsi, une exposition unique mais à haute dose peut entraîner des signes cliniques d'apparition aiguë à suraiguë allant jusqu'à la mort de l'animal, alors qu'une exposition longue et/ou fréquente à faible dose peut entraîner une toxicité chronique, allant de signes subtiles peu spécifiques à l'absence de symptômes. La toxicité aiguë peut être confirmée si la plombémie est supérieure à 0,200 µg/g (Rodríguez et al. 2010). Cependant, le plomb n'étant ni nécessaire, ni bénéfique aux organisme vivant, il peut être considéré que sa simple présence est anormale (Eisler 1988).

Les signes cliniques d'une intoxication aiguë au plomb concernent de nombreux appareils, notamment le système nerveux, le système hématopoïétique, le système urinaire (syndrome de Fanconi avec corps d'inclusion nucléaires dans les cellules tubulaires), les os et le système reproducteur (Flora, Gupta, Tiwari 2012). Dans la forme chronique, des symptômes peu spécifiques et très subtiles peuvent être constatés, comme la baisse du succès reproductif liée baisse de la qualité du sperme (Benoff, Jacob, Hurley 2000).

Considérant cette inquiétude de la communauté scientifique internationale, une étude a été menée au sein d'une partie de la population captive de diables de Tasmanie, et de la plupart des sites de suivi des populations sauvages. En effet, dans le cadre d'un programme de conservation d'une espèce menacée, comme c'est le cas pour le diable de Tasmanie, il n'est pas acceptable de perdre des individus captifs suite à une intoxication aiguë au plomb, ou d'avoir une atteinte de leur potentiel de reproduction, l'un des objectifs de la population d'assurance étant de produire de nouveaux individus indemnes de DFTD.

Cette étude, incluant 26 diables détenus en captivité intensive à Cressy et au FRE de Bridport et 131 diables sauvages issus de sept sites de suivi annuel et de sites de réintroduction (Stony Head, péninsule de Forestier, wukalina), a montré que les niveaux de plombémie étaient significativement supérieurs chez les diables captifs, et que 65% d'entre eux avaient une plombémie supérieure au seuil normalement accepté pour les mammifères de 0,2 μ mol/L (Australian Standard 4090-1993). De plus, le plomb étant capable d'être accumulé au sein de l'organisme, les individus plus âgés présentent des taux plus élevés que les plus jeunes, de façon plus marquée chez les populations captives (communication personnelle, en cours de soumission).

Cette présence de plomb pourrait être expliquée par le mode d'alimentation des diables en captivité. En effet, les carcasses sont fournies par des chasseurs locaux chassant avec des balles en plomb. En revanche les infrastructures utilisées ne contiennent pas de plomb et l'analyse de l'eau ne révèle pas la présence notable de plomb. Ainsi, l'explication la plus probable est l'ingestion de fragments de plomb présents dans le couloir de pénétration de la balle. L'ingestion d'une balle entière est peu vraisemblable, car en général la balle ressort de l'autre côté de la carcasse (le wallaby de Bennett et l'opossum d'Australie étant des animaux de petit gabarit), et la présence d'une balle dans l'estomac serait plus susceptible de provoquer une intoxication aiguë (Rodríguez et al. 2010; North et al. 2015). Or, aucun diable n'a présenté de signes cliniques.

A la suite des premiers résultats obtenus à Bridport, il a été décidé de couper les têtes des cadavres, les animaux étant abattus dans la tête. Une autre mesure de la plombémie a été prise 2 mois plus tard, montrant une baisse significative, ce qui conforte l'hypothèse d'un rôle de la nourriture.

La mise en évidence de ce phénomène est importante dans le cadre de la gestion de la population captive. En effet, une intoxication chronique à bas-bruit pourrait porter atteinte à la capacité reproductive de la population d'assurance, ce qui l'empêcherait d'atteindre certains de ses objectifs. La formalisation de ces résultats sous forme de publication pourrait permettre de mettre en place des recommandations officielles à l'égard de toute institution possédant des diables captifs à travers le monde, visant à une harmonisation et une optimisation de la détention de diables de Tasmanie en captivité.

III. MAINTIEN DES POPULATIONS SAUVAGES

L'établissement et le maintien de la population captive n'étant pas l'objectif ultime, le STDP travaille maintenant à la gestion des populations à l'état sauvage. Ainsi, le *Wild Devil Recovery Project* a vu le jour en 2014 avec pour objectifs (DPIPWE 2014b) :

- l'évaluation de la population de diables habitant le nord-est de la Tasmanie (là où la maladie est apparue et a fait le plus de dégâts), notamment par comptage nocturne, utilisation de caméras infra-rouge, capture-marquage-recapture, etc. ;

- l'élaboration de stratégies pour reconstruire les populations sauvages, en commençant par comprendre les mouvements des individus résidents;

- la mise en place d'essais cliniques en conditions réelles dans le cadre de la recherche vaccinale par l'Institut Menzies. Ainsi, les diables réintroduits sont vaccinés;

- la gestion des populations sauvages, par le développement de zones dans lesquelles les diables pourront être d'abord protégés, puis la population supplémentée avec de nouveaux individus.

En l'absence de vaccin efficace contre la DFTD, l'objectif des réintroductions n'est pas tant la reconstruction numérique des populations de diables affectées que le maintien d'un niveau de diversité génétique suffisant, ce qui peut poser des questions d'ordre éthique vis-à-vis du bien-être animal. En effet, les individus sont relâchés dans des zones où la DFTD est encore présente, et actuellement il n'existe pas de vaccin suffisamment protecteur. Ces individus se retrouvent par conséquent exposés à la maladie. Cependant, les réintroductions permettent aux populations sauvages affectées, dont les effectifs ont dramatiquement chuté, d'être enrichies génétiquement ceci leur donnant un avantage adaptatif face à d'éventuelles épidémies ou autres événements stochastiques (feux de forêt, inondation, mortalité sur la route, etc.).

La première réintroduction a eu lieu au Parc National de Narawntapu en septembre 2015, avec 20 individus issus de FREs. Chaque individu relâché a été vacciné. Les membres du STDP ont suivi ces animaux avec des colliers sur une période de quatre mois après le relâché, afin d'évaluer la survie des individus relâchés, l'adaptation des diables au milieu sauvage (état général, score corporel, etc) et leur dispersion. L'équipe a trouvé quatre individus relâchés mort par accident de la route, soit 20% des individus, ce qui est considérablement élevé dans le cadre d'un programme de réintroduction d'une espèce menacée (DPIPWE 2016a).

Ainsi, bien que la captivité ne semble pas impacter la capacité des diables à subvenir à leur besoin une fois relâché, elle semble néanmoins être un facteur déterminant en ce qui concerne la mortalité sur la route. En effet, Grueber et al. (2017) ont étudié la mortalité sur la route de diables relâchés dans la péninsule de Forestier après un « vide sanitaire » de 3 ans et dans le parc national de Narawntapu au cours de l'année 2015. Sur les 50 diables réintroduits à l'état sauvage, 19 sont morts par accident routier. Ils ont ainsi démontré que plus le nombre de générations passées en captivité augmente, plus le risque pour un diable réintroduit de succomber à un accident de la route est élevé. Le Diable de Tasmanie étant une espèce menacée d'extinction et pour des considérations de bien-être animal, le SDTP ne peut pas se permettre de perdre une telle fraction des individus lors d'une réintroduction.

L'analyse de ce triste constat révèle d'une part que les accidents surviennent dans les six premières semaines suivant la réintroduction, ce qui suggère qu'il s'agit d'une période d'adaptation des diables à leur nouvel environnement, et que passé cette période, le risque de mourir d'un accident de la route n'est pas plus élevés pour les diables relâché que pour les diables sauvages (Grueber et al. 2017).

D'autre part, étant donné que les diables réintroduits sont nés en captivité (zoos, FREs, etc.), et ont donc pu développer une association positive nourriture et véhicules, une mesure mise en place dans les zoos, les centres de captivité intensive et les FREs est l'entraînement par aversion (*aversion training*) par conditionnement opérant. Lors d'une étude préliminaire impliquant un certain nombre de stimuli au parc de faune sauvage de Healesville Sanctuary, Miller (2016) en a identifié un en particulier entraînant chez les diables une réponse de fuite immédiate suivie d'un rétablissement rapide, c'est-à-dire que les signes de stress s'estompent rapidement. Par conséquent, lors de la période d'entraînement pré-réintroduction, un enregistrement de ce bruit est diffusé à volume élevé depuis un véhicule à moteur, afin que les diables associent ce son perçu comme un stimulus négatif aux voitures.

Une autre méthode visant à limiter les pertes liées aux accidents de la voie publique est l'installation d'une clôture virtuelle. Elle est composée de plusieurs petits boîtiers disposés le long de la route, de part et d'autre de celle-ci, à 25m d'intervalle. Le boîtier est activé par la lumière des phares de voiture approchant, et émet un son accompagné d'un signal lumineux qui permet d'alerter l'animal, le décourageant à s'engager sur la route. Dans les sites où ce type de clôture a été placé, une baisse de

62% de la mortalité directe sur la route a été observée (Foundation for National Parks and Wildlife 2016). En outre, toutes ces mesures sont accompagnées d'une implication forte des communautés locales, par l'installation de panneaux de signalisation demandant aux conducteurs de ralentir du crépuscule à l'aube, et du grand public, en demandant à la communauté de signaler tout diable accidenté.

La seconde réintroduction dans une population où la maladie est encore présente a eu lieu à Stony Head, dans le nord de la Tasmanie. En août 2016, 33 diables issus de Maria Island et d'autres populations captives ont été relâchés à l'état sauvage. Là encore, cinq diables ont été tués par un accident de la voie publique (15%), montrant la nécessité d'ajuster la méthode d'entraînement par aversion (DPIPWE 2016b). L'utilisation de collier GPS pendant les trois premiers mois après réintroduction permet de suivre les mouvements de chaque diable, révélant leur mode de dispersion afin d'ajuster les réintroductions futures, et permettant également (DPIPWE 2017). Le suivi à un an post-réintroduction, effectué en juillet 2017, donne des résultats mitigés. Deux points extrêmement positifs sont la reproduction des femelles réintroduites et le bon état général des diables réintroduits. Ces mêmes constats ont été faits sur l'île de Maria (Rogers et al. 2016) et la péninsule de Forestier, un an après réintroduction des diables, et sont rassurants quant à la capacité des diables de Tasmanie à être réintroduits. Ceux-ci semblent être en effet capables de se réadapter parfaitement à leur nouvel environnement. Cependant, trois diables relâchés l'année dernière ont présenté des tumeurs compatibles avec la DFTD (DPIPWE 2017).

Enfin, la dernière réintroduction en date a eu lieu à Mont William, à l'extrême nord-est de la Tasmanie au mois de mai 2017. Chacun des 33 diables amenés à être relâché a fait l'objet d'une sélection sur des critères comme l'âge, le comportement (vis-à-vis des humains, vis-à-vis des autres diables), leur degré de parenté avec les autres individus sélectionnés et avec les individus résidents à Mont William. Les individus impliqués, provenant tous de Maria Island, ont été immunisés et équipés de colliers GPS permettant de suivre leurs déplacements. Là encore, des mesures telles que l'entraînement par aversion, la mise en place de panneaux de signalisation, l'amélioration de la visibilité des diables grâce aux colliers, et une communication de grande envergure avec le grand public (télévision, radio, réseaux sociaux, implication de personnes tierces) ont été mises en places, et ont porté leurs fruits : aucune mortalité sur la route n'a été enregistrée dans les 3 premiers mois post-

réintroduction, ce qui est un véritable succès par rapport aux réintroductions précédentes (DPIPWE 2017).

IV. RECHERCHE MEDICALE : ELABORATION D'UN VACCIN ET D'UN MARQUEUR PRE-CLINIQUE

1. Recherche vaccinale

Tant que la DFTD est encore présente parmi les populations de diables sauvages, les efforts de gestion de populations, à travers le suivi annuel, l'établissement d'une population d'assurance et le programme de rétablissement des diables à l'état sauvage verront leurs chances de succès limitées, sinon nulles, et il reste éthiquement discutable de relâcher à l'état sauvage des individus exposés ainsi à la maladie. L'élaboration d'un vaccin semble indispensable pour permettre aux diables réintroduits de survivre à l'état sauvage et ainsi assurer la survie de l'espèce. Dans cette optique, divers travaux ont été entrepris depuis une dizaine d'années par des instituts partenaires du STDP.

Les diables de Tasmanie, comme d'autres marsupiaux, ont d'abord été suspectés d'avoir un système immunitaire peu compétent, mais diverses investigations ont permis de montrer que ce n'était pas le cas. Premièrement, tous les organes lymphoïdes présents chez les mammifères euthériens sont macroscopiquement présents chez le diable de Tasmanie, avec des structures et dispositions similaires, générant les mêmes populations leucocytaires (Howson et al. 2014). En outre, les lymphocytes sont capables de proliférer et d'être activés après stimulation mitogénique par des lectines telles que la concanavaline A, la phytohématagglutinine, la pokeweed mitogen, ou des interleukines IL-2 recombinantes de diable de Tasmanie (Kreiss et al. 2008; Brown et al. 2016). De plus, ils sont capables d'induire des réactions allogéniques : la production d'anticorps est notable après injection de globules rouges équins, avec mise en place d'une réponse mémoire (Kreiss, Wells, Woods 2009), et les greffes de peau entre des individus différents mènent à un rejet de greffe accompagné de réactions lymphocytaires mixtes (Kreiss et al. 2011). Les cellules tumorales de la DFTD n'expriment pas à leur surface les molécules du CMH-I (Siddle et al. 2013), elles devraient, en théorie, être détruites par les cellules Natural Killer, qui jouent un rôle particulièrement important dans l'immunité anti-tumorale. Cependant, dans le cas de la DFTD, la cytotoxicité n'est pas activée *in*

vivo (Brown et al. 2016). Si la cytotoxicité n'est pas spontanée *in vivo*, elle peut néanmoins être induite efficacement à l'aide de mitogènes. En parallèle, l'expression des molécules du CMH-I à la surface des cellules tumorales peut être rétablie *in vitro* dans un environnement riche en IFN- γ , une cytokine inflammatoire (Siddle et al. 2013). Il s'agit donc de voies intéressantes vers laquelle orienter les protocoles vaccinaux.

Dans le cadre de la recherche vaccinale contre la DFTD, les premiers protocoles expérimentés *in vivo* ont été proposés par (Kreiss et al. 2015). L'immunisation était alors basée sur une primo-vaccination en trois injections de cellules tumorales tuées, en association avec des adjuvants agissant sur les récepteurs toll-like, ce qui permet d'aider à lever « l'ignorance immunologique » permettant aux cellules tumorales de se développer. Sur la période d'étude, cinq diables sur six ont produit des anticorps contre les cellules tumorales et une cytotoxicité s'est mise en place. Dans la majorité des cas, cette réponse n'était pas protectrice, mais un diable sur six a été protégé à court terme puisque le challenge avec des cellules vivantes n'a pas engendré le développement des tumeurs. Il semblerait que la reconnaissance des cellules tumorales par le système immunitaire soit la meilleure voie permettant de combattre la maladie. En effet, Pye et al. (2016) ont étudié une population de 52 diables sauvages dans le nord-ouest de la Tasmanie en évaluant de façon répétée les taux en anticorps dirigés d'une part contre les cellules tumorales ne présentant pas les molécules du CHM à leur surface (cellules DFTD CMH-I⁻) et d'autre part dirigés contre les cellules tumorales exprimant à leur surface les molécules du CMH-I (cellules DFTD CMH-I⁺). Une séroconversion a été observée chez 6 diables sur 52. De façon la plus probable, les cellules tumorales CMH-I⁻ constituaient la tumeur primaire. Suivant la production d'IFN- γ , les cellules tumorales ont exprimé les molécules du CHM-I à leur surface. Ainsi, elles ont pu être reconnues par le système immunitaire, engendrant une infiltration de la tumeur par des lymphocytes T impliqués dans la cytotoxicité à médiation cellulaire. La présence d'IgG, potentiellement impliqués dans la cytotoxicité à dépendance humorale, permet de confirmer la mise en place d'une réponse immunitaire anti-DFTD. Ces diables ont vu leurs tumeurs se stabiliser après conversion, voire régresser en 4 à 15 mois dans quatre cas sur six. Chez un quart des diables, aucune tumeur n'a été détectée dans les deux ans suivant la régression, puis une tumeur imputable à la DFTD a été détectée en fin de vie, à l'âge de 5 ans chez un individu. Un autre diable est resté indemne de DFTD pendant 3 ans, jusqu'à sa dernière capture à l'âge de 6 ans ; il n'a pas été recapturé par la suite. Même si ces

cas de réponse immunitaire protectrice contre la DFTD sont des cas isolés, observés seulement chez une poignée d'individus de cette population, ils montrent que la DFTD n'arrive pas toujours à échapper au système immunitaire, et les mécanismes impliqués dans cette réponse spontanée sont de grand intérêt dans la recherche vaccinale. De plus, même si au moins un des diables a développé de nouvelles tumeurs par la suite, la réponse immunitaire aura permis d'augmenter sa survie d'au moins deux ans par rapport aux cas classiques. Le Diable de Tasmanie étant une espèce ayant une espérance de vie courte même en l'absence de DFTD (7-8 ans en captivité, 6 ans à l'état sauvage), un rallongement de la survie de deux ans représente une durée conséquente pendant laquelle l'individu peut contribuer à l'effort de reproduction, et ainsi à la survie de l'espèce. Ainsi, la recherche vaccinale, dans le cas présent, n'a pas pour but absolu d'empêcher l'apparition de tumeur et d'éradiquer la DFTD. Obtenir ne serait-ce que la survie des individus atteints pendant quelques années de plus sans que leur état général en soit impacté, leur permettant ainsi de mener une vie « normale » et de se reproduire, serait déjà un progrès considérable dans le maintien de l'espèce. La découverte de diables sauvages spontanément capables de survivre à la maladie fait également naître l'espoir que des forces de sélection naturelle favorisent à l'avenir les individus capables de reconnaître la tumeur, si tant est que cette capacité à monter une réponse immunitaire face à la DFTD ait une composante héréditaire (Pye et al. 2016).

Plus récemment, quatre protocoles vaccinaux ont été expérimentés sur sept diables (un protocole/diable) par Tovar et al. (2017). Certains protocoles comportaient des cellules tumorales traitées préalablement à l'IFN- γ (donc CMH-I⁺) et d'autres des cellules non traitées (CMH-I⁻), ainsi que des adjuvants permettant de stimuler l'immunité anti-tumorale innée, humorale et à médiation cellulaire. En outre, les protocoles impliquaient soit des protéines tumorales extraites de cellules de la DFTD par traitement thermique (protocole A), soit des cellules tumorales inactivées par congélation-décongélation (protocole B), ou par irradiation et/ou sonication (protocoles C et D). La sonication consiste en la lyse cellulaire grâce aux ultrasons, ce qui rend la cellule tumorale non viable. L'irradiation permet d'inactiver la cellule. Chaque protocole nécessitait l'utilisation de rappels, et une immunothérapie à l'aide de cellules DFTD CMH-I⁺ vivantes. Suite à un challenge immunitaire par inoculation de cellules tumorales, le diable soumis au protocole C n'a pas développé de tumeur ; les diables soumis aux protocoles A et B ont vu leurs tumeurs régresser, en association avec une

augmentation des titres en anticorps et une infiltration lymphocytaire des tumeurs (**Figure 29**). Les protocoles C et D permettent d'obtenir les meilleurs titres en anticorps spécifiques, à la fois contre les cellules tumorales CMH-I⁺ mais aussi contre les cellules CMH-I⁻. Par conséquent, la combinaison d'immunisation comportant des cellules DFTD irradiées et soniquées, avec de nombreux adjuvants, reste aujourd'hui la meilleure piste quant à la production d'un vaccin protecteur *in vivo*.

La recherche vaccinale au laboratoire est limitée par le faible nombre d'individus utilisables pour l'expérimentation : en effet, face à cette espèce qui est en voie de disparition, il est éthiquement controversé d'utiliser un nombre important de diables, sachant qu'ils vont être inoculés avec des cellules tumorales et qu'à terme, il est possible qu'ils soient euthanasiés (Pye et al. 2016; Tovar et al. 2017).

Après ces résultats encourageants, et face au nombre limité d'individus utilisables en laboratoire, il a été décidé d'immuniser les individus relâchés à l'état sauvage, afin de tester l'efficacité du vaccin à plus grande échelle et en conditions réelles.

Ainsi, les 20 individus relâchés au Parc National de Narawntapu (NNP) en septembre 2015 et 33 individus relâchés à Stony Head (SH) en août 2016 ont été préalablement immunisés avec des protocoles légèrement différents, notamment sur le nombre d'injections de primo-vaccination (quatre pour NNP et deux pour SH) et l'adjuvant utilisé. Ainsi, les titres en anticorps enregistrés après immunisation étaient plus élevés pour le protocole de Stony Head que celui de Narawntapu, et restaient élevés plus longtemps (Pye, données non publiées). Cependant, un obstacle *in situ* au recueil de données sur le long-terme après immunisation a été la mort par accident de la voie publique de nombreux diables relâchés dans les premières semaines en particulier à Narawntapu National Parc.

Le protocole utilisé à Stony Head a également été utilisé récemment, lors du relâché de 33 individus à wukalina/Mont William en Mai 2017. La première immunisation était réalisée au moment du relâcher à l'aide de cellules DFTD soniquées, traitées au préalable à l'IFN- γ (exprimant par conséquent les molécules du CMH-I à leur surface), associées à un adjuvant. La sonication a pour avantage d'exposer le système immunitaire à un plus grand nombre et une plus grande diversité d'antigènes tumoraux, ce qui pourrait contribuer à le rendre plus alerte. La seconde immunisation avait lieu si l'individu était recapturé 4 à 6 semaines plus tard. Elle était

composée de cellules tumorales irradiées à 40Gy, deux fois à 24h d'intervalle, traitées au préalable à l'IFN- γ et associée à un adjuvant. L'irradiation, elle, ne permet que de montrer des antigènes tumoraux de surface au système immunitaire, mais mime de façon plus fidèle ce qui se passe lors de la présence de cellules tumorales dans le cadre de la maladie (Pye, données non publiées).

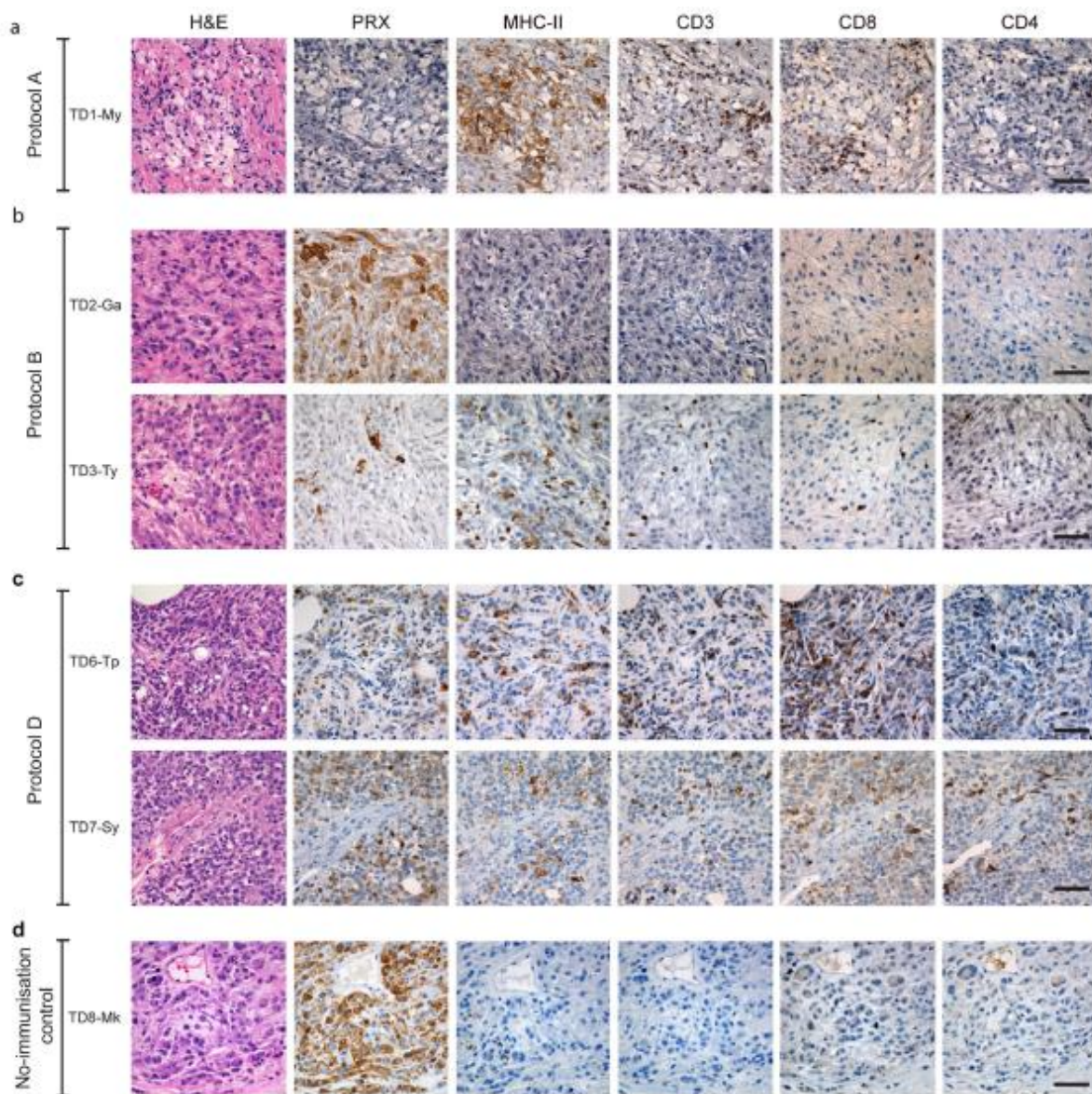


Figure 29 : Histologie et immunohistochimie de tumeurs de la DFTD après immunothérapie, montrant une régression tumorale et l'infiltration par les cellules immunitaires. **A)** Protocole A : les biopsies de la tumeur du diable TD1-My, une semaine après la fin de l'immunothérapie. La régression tumorale est corrélée avec une forte infiltration immunitaire de cellules CMH-II+ et de lymphocytes T, principalement des CD8+. **B)** Protocole B : biopsie tumorale prise une semaine après la dernière thérapie chez TD2-Ga, ne montrant pas de signe d'infiltration par les cellules immunitaires. Des biopsies du tissu cicatriciel 3 semaines après le délogement mécanique de la tumeur chez TD3-Ty montrent la persistance de quelques cellules tumorales (positive à la périaxine PRX), et un grand nombre de cellules présentant à leur surface les molécules du CMH-II+, mais très peu de cellules CD3+. **C)** Protocole D : Régression tumorale chez les diables TD6-Tp et TD7-Sy, corrélée à une forte infiltration de la tumeur par les cellules CMH-II+ et CD3+, les cellules CD8+ étant plus abondantes que les cellules CD4+, 4 semaines après la thérapie. **D)** Contrôle sans immunisation (TD8-Mk). Une biopsie de la tumeur gauche prélevée 4 semaines après thérapie montrent une tumeur bien établie, pratiquement sans infiltration de cellules immunitaires. Colorations standard à l'hémalun-éosine (H&E), et par immunohistochimie utilisant des anticorps anti-périaxine (PRX), anti-CMH-II, anti-CD3, anti-CD8 et anti-CD4. Barre = 5 μm. Traduit et adapté à partir de Tovar *et al.*, 2017.

En juin 2017, lors du suivi post-repeuplement près d'un an après la réintroduction de diables à Stony Head, trois diables relâchés ont présenté des tumeurs confirmées comme étant une DFTD, sans signe d'infiltration lymphocytaire. Il

est possible que les anticorps produits soient non protecteurs, ou seulement partiellement protecteurs. Dans le second cas, on pourrait imaginer un ralentissement de la croissance tumorale, ce qui permettrait aux individus atteints de survivre plus longtemps, et ainsi de participer à au moins une saison de reproduction supplémentaire. Pour l'heure, les chercheurs récoltent encore des données de terrain sur les diables affectés et surveillent ainsi l'évolution des tumeurs, afin de comprendre quelles étaient les failles du vaccin et tenter de les surmonter dans de nouveaux essais *in vitro* (Pye, données non publiées).

Des découvertes récentes en médecine humaine sur des molécules de contrôle immunitaire dans le cadre des cancers, montrent que le blocage de l'interaction entre la protéine *Programmed Death 1* (PD1) et son ligand PD-L1 (notée PD1:PD-L1) permet de promouvoir la réponse anti-tumorale. *Programmed Death Ligand* (PD-L1) est une molécule de surface impliquée dans la signalisation cellulaire des cellules tumorales. Son expression est augmentée en présence d'IFN- γ . Flies et al. (2016) se sont penchés sur le rôle de ces molécules dans le cadre de la DFTD, étant donné que d'une part, les cellules tumorales traitées aux IFN- γ sont utilisées dans les formulations vaccinales, et que d'autre part, la reconnaissance des cellules tumorales par le système immunitaire entraîne la production IFN- γ dans le microenvironnement tumoral. Ils ont découvert que si les PD-L1 sont rarement exprimées dans des tumeurs primaires, elles sont néanmoins exprimées à la surface de cellules non-tumorales présentes dans le microenvironnement des tumeurs métastatiques, et que l'interaction PD1:PD-L1 peut être bloquée *in vitro* par des anticorps monoclonaux. Ainsi, la DFTD est capable d'exploiter l'interaction PD1:PD-L1 pour échapper à la réponse immunitaire. Cette découverte souligne d'une part l'importance de déterminer les mécanismes d'évasion immunitaire utilisés par la DFTD pour apporter une réponse vaccinale la plus adaptée possible, et d'autre part la nécessité de bloquer les PD-L1 avant administration du vaccin comprenant des cellules tumorales traitées aux IFN- γ , qui apporte à ce-jour la meilleure réponse disponible face à la maladie.

L'élaboration d'un vaccin efficace reste un enjeu clé dans la lutte contre la DFTD. Même avec l'utilisation d'individus réintroduits à l'état sauvage, les conditions expérimentales posent des contraintes fortes (nombre relativement limité d'individus, nombreux facteurs non-contrôlés, incertitude quant à la recapture des individus, etc.). De plus, il s'agit d'une maladie très dynamique du point de vue génétique : certaines lignées tumorales sont aujourd'hui ancrées de façon pérenne dans le paysage de la

Tasmanie, mais chaque année les généticiens découvrent de nouvelles lignées ou sous-lignées, qui peuvent être trouvées très localement ou au contraire répandues, qui peuvent perdurer dans le temps ou s'éteindre rapidement, virulentes ou atténuées. Par conséquent, la protection induite par une formulation vaccinale donnée peut ne pas conférer de protection croisée, mais une protection spécifique à une lignée donnée, menant à des échecs vaccinaux (Kreiss et al. 2015).

2. Elaboration de biomarqueurs précliniques spécifiques de la DFTD

Un autre enjeu qui pourrait aider à la gestion de la population d'assurance est l'élaboration de biomarqueurs précliniques, qui permettraient de déterminer si un individu est atteint de DFTD avant même qu'il développe des tumeurs. Cet outil serait un avantage considérable dans les mouvements de diables captifs entre les différents compartiments de la population d'assurance. En effet, chaque diable captif, selon son lieu de captivité, son âge et ses conditions d'hébergement, est soumis à un niveau de biosécurité particulier. Par exemple, un individu né en captivité sera manipulé ou déplacé dans des conditions de biosécurité moindres qu'un individu prélevé à l'état sauvage. Actuellement, la quarantaine peut durer de 15 mois à 2 ans. Or, *Sarcophilus harrisii* est une espèce dont l'espérance de vie est relativement courte. Par conséquent, certains individus peuvent passer la plus grande partie de leur vie d'adulte en quarantaine, ce qui limite fortement leur contribution au programme de reproduction. Un marqueur préclinique pourrait contribuer à réduire significativement cette période de quarantaine, et permettre à chaque individu captif d'exprimer au maximum son potentiel reproductif. D'un point de vue pathologique, un marqueur préclinique pourrait également permettre de déterminer avec plus de précision la période d'incubation de la maladie, entre l'inoculation des cellules et le développement des tumeurs (Hayes et al. 2017).

Karu et al. 2016 ont adopté une approche métabolomique dans l'étude la DFTD. Il s'agit de déterminer quelles sont les principales perturbations métaboliques liées à la DFTD, et ainsi établir un profil des perturbations qui permettraient, de façon rétrograde, d'aboutir au diagnostic de DFTD. Plusieurs biomarqueurs ont été trouvés en plus grande quantité chez les individus atteints de DFTD, en particulier des segments peptidiques formant la fibrinostatine (**Figure 30**). Cette molécule posséderait une activité anti-tumorale, en lien avec des effets anti-angiogéniques sur

la prolifération des cellules endothéliales et l'adhésion. Elle a également été identifiée comme marqueur du cancer de l'estomac. D'autres marqueurs, comme la créatinine, le cortisol, et des lipides, se trouvaient en quantité significativement différente, mais leur métabolisme étant également lié à l'état nutritionnel (alimentation, temps écoulé depuis le dernier repas, réserves énergétiques, etc.), aucune conclusion certaine ne peut en découler.

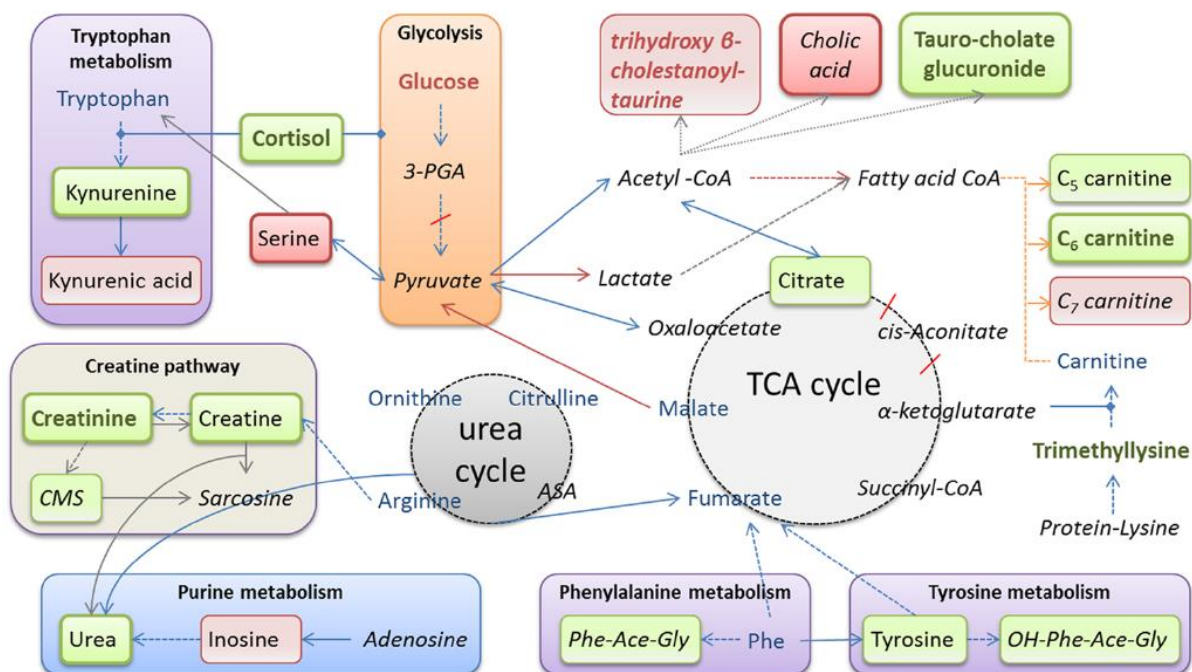


Figure 30 : Carte des voies métaboliques incorporant les modifications liées à la DFTD. Les métabolites élevés dans le cadre de la DFTD sont encadrés en rouge, avec un fond rouge. Les métabolites diminués sont encadrés en vert, avec un fond vert. Les métabolites dont les noms sont en gras montrent les associations significatives avec le volume tumoral : le texte rouge est corrélé avec une élévation de la taille de la tumeur, et le texte vert avec une diminution. ASA : acide arginosuccinique ; CMS : carbamoyl-sarcosine ; Phe-Ace-Gly : phénylacétylglycine ; Phe : phénylalanine ; taurocholate glucuronide : taurochenodeoxy-choleate glucuronide. L'identité des métabolites écrits en italique n'a pas été déterminée selon des méthodes standards. Les métabolites dont le nom est écrit en bleu ont été trouvés dans le métabolome, mais pas de façon différentielle entre les individus sains et affectés. Les flèches pleines désignent les conversions en une étape ; les flèches pointillées comportent au moins deux étapes. Les flèches rouges et les lignes interrompues de rouge désignent les changements métaboliques attendus dans les cancers. Les lignes terminées par un losange indiquent l'effet métabolique sur le dernier métabolite. Traduit à partir de Karu *et al.*, 2016.

Hayes *et al.* (2017), quant à eux, ont étudié les niveaux sanguins d'ERBB3, un marqueur physiologiquement exprimé par la crête neurale en développement et les cellules de Schwann. Leur hypothèse est que cette molécule, surexprimée par les cellules tumorales de la DFTD, pourrait potentiellement voir ses niveaux sériques élevés lors d'invasion tissulaire locale et à distance par des cellules tumorales. Ils ont effet trouvé une corrélation entre la présence de la maladie et une élévation de la

quantité sanguine de ERBB3 ; mais cette élévation était également notable en cas de lymphome cutané, relativement fréquent chez les diables d'âge avancé. La positivité du test ne porte néanmoins pas à confusion, l'épidémiologie et la présentation clinique de la DFTD et du lymphome cutané étant bien distinctes. Ainsi, ERBB3 pourrait à l'avenir être utilisé comme un marqueur préclinique intéressant pour déterminer le statut sanitaire d'un individu donné vis-à-vis de la DFTD.

Le *Save the Tasmanian Devil Program* est donc un programme de conservation complet, abordant le problème posé par la DFTD de plusieurs façons complémentaires. Le suivi des populations sauvages permet d'appréhender, années après années, l'impact de la maladie sur le Diable dans son milieu naturel. La constitution d'une population captive permet de créer un réservoir d'individus sains pour renforcer les effectifs sauvages et maintenir la diversité génétique, en aboutissant à des actions de réintroduction dans le milieu naturel. Enfin, l'élaboration d'un vaccin protecteur est un point fondamental pour la préservation du Diable de Tasmanie.

CONCLUSION

L'importance emblématique et économique du Diable de Tasmanie contribue sans aucun doute à l'attribution de fonds au *Save the Tasmanian Devil Program*, et ce depuis maintenant 15 ans, pour la gestion des diables sauvages et captifs ainsi que pour la recherche. Il bénéficie de soutiens politiques et financiers importants, ce qui est exceptionnel dans le domaine de la conservation de la biodiversité. Quelles sont les clés de ce succès ?

Tout d'abord, la Tasmanie fait partie de l'Australie, dont la faune est atypique. Non seulement cette faune est exotique, avec ses oiseaux colorés et ses crocodiles marins, mais elle suscite également la fascination. Nulle-part ailleurs on ne peut observer des créatures telles que les kangourous, se déplaçant en sautillant, ou des monotrèmes, comme le chimérique Ornithorynque. Rares sont les espèces à porter leur jeune dans une « poche » à travers le monde, or l'Australie en regorge. Les Australiens sont conscients du fait que leur faune est unique. Elle fait partie de leur identité et suscite la fascination des visiteurs. Par conséquent, ils ont conscience qu'il faut la préserver, au contraire d'autre pays comme la France qui semblent moins concernés par leur faune sauvage, peut-être parce qu'elle leur semble moins atypique et spectaculaire. Par conséquent, au-delà des stratégies de communication et des enjeux propres au Diable de Tasmanie, il y a une plus forte prise de conscience collective concernant la faune sauvage en Australie que dans d'autres parties du monde.

De plus, le *Save the Tasmanian Devil Program* collabore depuis plusieurs années avec diverses institutions à travers le pays et à l'étranger, ce qui en fait un programme ayant une approche pluridisciplinaire et globale du problème que pose la DFTD. L'implication des universités dans ce vaste projet qu'est la conservation du diable de Tasmanie engendre une activité de recherche importante, ce qui le rend plus visible dans le monde scientifique et lui donne de la crédibilité.

Un projet de conservation aspirant à réintroduire des individus à l'état sauvage ne peut que difficilement obtenir du succès sans avoir l'appui, le soutien et la participation des citoyens. Ainsi, le STDP implique et éduque les tasmaniens dans son projet, notamment à travers le *Volunteer Program* et le *Roadkill Program*, basés sur la participation active et volontaire des citoyens. Leur implication leur permet de se sentir

utiles et concernés, ce qui facilite l'éducation. Ce programme implique aussi énormément les médias dans des actions pour augmenter sa visibilité, en particulier au moment des réintroductions (avant, en préparant les communautés locales ; pendant, en délivrant des images fortes ; et après, en donnant des mises à jour). Ceci se traduit par la présence fréquente d'équipes de radio et de télévision, parfois internationales, mais aussi de journalistes de presse écrite et par l'utilisation fréquente de nouveaux médias tels que les réseaux sociaux.

La *Devil Facial Tumour Disease* nous donne un modèle permettant d'étudier et de mieux comprendre le rôle de l'immunité dans les processus cancéreux, et des stratégies d'évasion immunitaire utilisées par ces derniers. Le STDP, quant à lui, délivre un bon exemple de coopération, de collaboration et de communication permettant de conférer au Diable de Tasmanie une image positive, suscitant un intérêt bienveillant de la part du grand public, et réveillant une volonté collective de contribuer à la conservation de ce marsupial en danger.

Toutefois, près de 15 ans après sa constitution, le *Save the Tasmanian Devil Program* voit son succès mitigé. Le suivi des populations sauvages apporte des données épidémiologiques permettant d'infirmier les premières modélisations démographiques qui prédisaient des extinctions locales de certaines populations sauvages. Les sites affectés les plus anciens voient en effet leur population se stabiliser. Cette tendance pourra être confirmée ou infirmée grâce aux suivis qui seront réalisés les prochaines années. La constitution et la gestion de la population captive est également un succès, entre autres grâce à l'outil génétique « *Devil Tools and Tech* » développé par l'Université de Sydney qui permet de maintenir un maximum de diversité génétique dans la population captive. Enfin, la phase la plus récente du programme, à savoir des actions de repeuplement, connaît des résultats positifs puisque les diables introduits dans les deux dernières années s'adaptent et se reproduisent. Les données collectées à chaque repeuplement permettent d'optimiser le suivant ; c'est ainsi que lors de la dernière réintroduction à Mont William, tous les diables se sont adaptés à leur environnement et aucun n'est mort d'un accident de la voie publique, ce qui est un progrès considérable par rapport aux réintroductions précédentes.

Cependant, bien que ces mesures soient nécessaires, le Diable ne pourra pas être tiré d'affaire sans l'élaboration d'un vaccin protecteur. La découverte récente de

diabes immunisés ayant développé des tumeurs compatibles avec la DFTD est indéniablement une mauvaise nouvelle pour le programme de conservation. Face à la complexité de ce cancer atypique, de nouvelles stratégies vaccinales doivent être élaborées pour déjouer l'évasion immunitaire mise en place par la DFTD. De plus, la réintroduction de diabes sains dans des zones affectées par la maladie pose des questions d'ordre éthique tant qu'un vaccin protecteur n'a pas été produit.

En France, certaines réintroductions ont été menées avec succès à l'instar de rapaces comme le Vautour fauve ou le Vautour percnoptère. Mais l'implication du grand public est une ressource encore peu exploitée, la biologie de la conservation semblant être un domaine relativement peu connu par les citoyens non-directement concernés par le sujet. La France et le reste de l'Europe possèdent une faune sauvage variée, certes moins exotique mais qui a le mérite d'exister. Malheureusement, elle est souvent ignorée et laissée de côté par le grand public. Ainsi, le STDP peut servir de modèle et nous, européens, pouvons en tirer quelques leçons afin d'éduquer le grand public et le sensibiliser à la faune sauvage qui l'entoure, et de cette façon promouvoir les efforts de conservation nécessaires au maintien du paysage sauvage européen.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

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

Je soussigné, **Guillaume LE LOC'H**, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **Lorette HIVERT** intitulée «**Avancées sur l'étude et le contrôle de la maladie tumorale faciale du diable de Tasmanie : Impact en matière de conservation** » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

Fait à Toulouse, le 10 novembre 2017
Docteur **Guillaume LE LOC'H**
Maître de Conférences
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse



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



Vu :
Le Président du jury :
Professeur **Christophe PASQUIER**



Mlle **Laurette HIVERT**
a été admis(e) sur concours en : 2012
a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le : 23/06/2016
a validé son année d'approfondissement le : 02/11/2017
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

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

BIBLIOGRAPHIE

- Archer M., Baynes A., 1972. Prehistoric mammal faunas from two small caves in the extreme south-west of Western Australia. *Journal of the Royal Society of Western Australia*, **55**: 80-89
- Beeton N., McCallum H., 2011. Models predict that culling is not a feasible strategy to prevent extinction of Tasmanian devils from facial tumour disease: Modelling removal of diseased devils. *Journal of Applied Ecology*, **48** (6): 1315-1323, doi: 10.1111/j.1365-2664.2011.02060.x
- Behmke S., Fallon J., Duerr A.E., Lehner A., Buchweitz J., Katzner T., 2015. Chronic lead exposure is epidemic in obligate scavenger populations in eastern North America. *Environment International*, **79**: 51-55, doi: 10.1016/j.envint.2015.03.010
- Belov K., 2012. Contagious cancer: Lessons from the devil and the dog. *BioEssays*, **34** (4): 285-292, doi: 10.1002/bies.201100161
- Benoff S., Jacob A., Hurley I.R., 2000. Male infertility and environmental exposure to lead and cadmium. *Hum. Reprod. Update*, **6** (2): 107-121
- Boonstra R., 2005. Equipped for life: the adaptative role of the stress axis in male Mammals. *Journal of Mammalogy*, **86** (2): 236-247, doi: 10.1644/BHE-001.1
- Bradshaw C.J., Brook B.W., 2005. Disease and the devil: density-dependent epidemiological processes explain historical population fluctuations in the Tasmanian devil. *Ecography*, **28** (2): 181-190
- Brown G.K., Kreiss A., Lyons A.B., Woods G.M., 2011. Natural Killer cell mediated cytotoxic responses in the Tasmanian devil. *PLoS ONE*, **6** (9): e24475, doi: 10.1371/journal.pone.0024475
- Brown G.K., Tovar C., Cooray A.A., Kreiss A., Darby J., Murphy J.M., Corcoran L.M., Bettiol S.S., Lyons A.B., Woods G.M., 2016. Mitogen-activated Tasmanian devil blood mononuclear cells kill devil facial tumour disease cells. *Immunology and cell biology*, **94** (7): 673-679
- Bruniche-Olsen A., Jones M.E., Austin J.J., Burridge C.P., Holland B.R., 2014. Extensive population decline in the Tasmanian devil predates European settlement and devil facial tumour disease. *Biology Letters*, **10** (11): 20140619, doi: 10.1098/rsbl.2014.0619
- Buchmann O. L. K., Guiler E.R., 1977. Behaviour and ecology of the Tasmanian devil, *Sarcophilus harrisii*. In: *The biology of Marsupials*. The MacMillan Press LTD, London : Ed. B. Stonehouse and D. Gilmore, 155-168
- Caldwell A., Siddle H.V., 2017. The role of MHC genes in contagious cancer: the story of Tasmanian devils. *Immunogenetics*, **69** (8-9): 537-545, doi: 10.1007/s00251-017-0991-9
- CBSG, 2008. *Tasmanian Devil PHVA Final Report* (Rapport non publié). IUCN/SSC/ Conservation Breeding Specialist Group, Apple Valley, MN

- Cheng Y., Heasman K., Peck S., Peel E., Gooley R.M., Papenfuss A.T., Hogg C.J., Belov K., 2017. Significant decline in anticancer immune capacity during puberty in the Tasmanian devil. *Scientific Reports*, **7**: 44716, doi: 10.1038/srep44716
- Cockburn A., Scott M.P., Scotts D.J., 1985. Inbreeding avoidance and male-biased natal dispersal in *Antechinus* spp. (Marsupialia: Dasyuridae). *Animal Behaviour*, **33**: 908-915
- Deakin J.E., Bender H.S., Pearse A.-M., Rens W., O'Brien P.C.M., Ferguson-Smith M.A., Cheng Y., Morris K., Taylor R., Stuart A., Belov K., Amemiya C.T., Murchison E.P., Papenfuss A.T., Marshall Graves J.A., 2012. Genomic restructuring in the Tasmanian Devil Facial Tumour: Chromosome painting and gene mapping provide clues to evolution of a transmissible tumour. *PLoS Genetics*, **8** (2): e1002483, doi: 10.1371/journal.pgen.1002483
- Department of Health & Human Services, 2017. What are single nucleotide polymorphisms (SNPs)? In: *Genomic Research*. Lister Hill National Center for biomedical communications, U.S. National Library of Health and Human Services
- DPIPWE, 2014a. Tasmanian Devil, *Sarcophilus harrisii* [En ligne]. Parks and Wildlife Services Tasmania, Disponible sur <http://www.parks.tas.gov.au/?base=387> (consulté le 06 septembre 2017)
- DPIPWE, 2014b. *Wild Devil Recovery Project Proposal* (Rapport non publié)
- DPIPWE, 2016a. Tasmanian devil wild release monitoring update - January 2016 [En ligne]. Save the Tasmanian Devil Program, Disponible sur <http://www.tassiedevil.com.au/tasdevil.nsf/TheProgram/CA651D1BB702B4A5CA257F680004B2D1?OpenDocument> (consulté le 18 septembre 2017)
- DPIPWE, 2016b. Combining traditional trapping with satellite data to track devils at Stony Head [En ligne]. Save the Tasmanian Devil Program, Disponible sur <http://www.tassiedevil.com.au/tasdevil.nsf/news/E496EB029C6329AECA25803E0011DF58> (consulté le 18 septembre 2017)
- DPIPWE, 2017. Wild Devil Recovery Update [En ligne]. Save the Tasmanian Devil Program, Disponible sur <http://www.tassiedevil.com.au/tasdevil.nsf/news/B46E280ACB9A745ACA25816100022A38> (consulté le 18 septembre 2017)
- Ecke F., Singh N.J., Arnemo J.M., Bignert A., Helander B., Berglund Å.M.M., Borg H., Bröjer C., Holm K., Lanzone M., Miller T., Nordström Å., Räikkönen J., Rodushkin I., Ågren E., Hörnfeldt B., 2017. Sublethal lead exposure alters movement behavior in free-ranging Golden Eagles. *Environmental Science & Technology*, **51** (10): 5729-5736, doi: 10.1021/acs.est.6b06024
- Eisenberg I.F., Collins L.R., Wemmer C., 1975. Communication in the Tasmanian Devil (*Sarcophilus harrisii*) and a survey of auditory communication in the Marsupialia. *Zeitschrift für Tierpsychologie*, **37**: 379-399
- Eisler R., 1988. *Lead hazards to fish, wildlife and invertebrates: a synoptic review* (Biological Report No. 14). U.S. Fish and Wildlife Service, Patuxent Wildlife Research Center, Laurel, Maryland, U.S.A.
- Australian Government, 1999. Environment Protection and Biodiversity Conservation Act [En ligne] Federal Register of Legislation, Disponible sur www.legislation.gov.au (consulté le 19 juin 2017)

- Epstein B., Jones M., Hamede R., Hendricks S., McCallum H., Murchison E.P., Schönfeld B., Wiench C., Hohenlohe P., Storfer A., 2016. Rapid evolutionary response to a transmissible cancer in Tasmanian devils. *Nature Communications*, **7**: 12684, doi: 10.1038/ncomms12684
- Ewer R.F., 1969. Some observations on the killing and eating of prey by two dasyurid marsupials: the mulgara, *Dasyercus cristicaudata*, and the Tasmanian devil, *Sarcophilus harrisii*. *Zeitschrift für Tierpsychologie*, **26** :23-38
- Fa J.E., Funk S.M., O'Connell D., 2011. Zoo conservation biology. Cambridge University Press, Cambridge, 336 p. (Coll. Ecology, biodiversity and conservation)
- Flies A.S., Lyons A.B., Corcoran L.M., Papenfuss A.T., Murphy J.M., Knowles G.W., Woods G.M., Hayball J.D., 2016. PD-L1 is not constitutively expressed on Tasmanian Devil Facial Tumor cells but is strongly upregulated in response to IFN- γ and can be expressed in the tumor microenvironment. *Frontiers in Immunology*, **7** (581): 1-13, doi: 10.3389/fimmu.2016.00581
- Flora G., Gupta D., Tiwari A., 2012. Toxicity of lead: a review with recent updates. *Interdisciplinary Toxicology*, **5** (2): 47-58 , doi: 10.2478/v10102-012-0009-2
- Foundation for National Parks and Wildlife, 2016. *Virtual Fences - Saving our Wildlife*
- Fox D., 2007. *Vulpes vulpes* [En ligne]. Animal Diversity Web, Disponible sur http://animaldiversity.org/accounts/Vulpes_vulpes/ (consulté le 19 mai 2017)
- Frankham R., 2010. Inbreeding in the wild really does matter. *Heredity*, **104** (2): 124–124
- Garcia R.A., Cabeza M., Rahbek C., Araujo M.B., 2014. Multiple dimensions of climate change and their implications for biodiversity. *Science*, **344** (6183): 1247579, doi: 10.1126/science.1247579
- Grueber C.E., Reid-Wainscoat E.E., Fox S., Belov K., Shier D.M., Hogg C.J., Pemberton D., 2017. Increasing generations in captivity is associated with increased vulnerability of Tasmanian devils to vehicle strike following release to the wild. *Scientific Reports*, **7** (1): e2161 , doi: 10.1038/s41598-017-02273-3
- Guiler E.R., 1970b. Observation on the Tasmanian Devil, *Sarcophilus harrisii* (Marsupialia : Dasyuridae): reproduction, breeding and growth of the pouch young. *Australian Journal of Zoology*, **18**: 63-70
- Guiler E.R., 1978. Observations on the Tasmanian Devil, *Sarcophilus harrisii* (Dasyuridae: Marsupialia) at Granville Harbour, 1966-75. *Papers and Proceedings of the Royal Society of Tasmania*, **112**: 161-188
- Hamede R., Bashford J., Jones M., McCallum H., 2012a. Simulating Devil Facial Tumour Disease outbreaks across empirically derived contact networks: Simulating DFTD outbreaks in contact networks. *Journal of Applied Ecology*, **49** (2): 447-456, doi: 10.1111/j.1365-2664.2011.02103.x
- Hamede R., Lachish S., Belov K., Woods G., Kreiss A., Pearse A.-M., Lazenby B., Jones M., McCALLUM H., 2012b. Reduced effect of Tasmanian Devil Facial Tumor Disease at the disease front: Reduced Effect of Tasmanian Devil Facial Tumor Disease. *Conservation Biology*, **26** (1): 124-134, doi: 10.1111/j.1523-1739.2011.01747.x

- Hamede R.K., McCallum H., Jones M., 2008. Seasonal, demographic and density-related patterns of contact between Tasmanian devils (*Sarcophilus harrisii*): Implications for transmission of Devil Facial Tumour Disease. *Austral Ecology*, **33** (5): 614-622, doi: 10.1111/j.1442-9993.2007.01827.x
- Hamede R.K., McCallum H., Jones M., 2013. Biting injuries and transmission of Tasmanian Devil Facial Tumour Disease. *Journal of Animal Ecology*, **82** (1): 182-190, doi: 10.1111/j.1365-2656.2012.02025.x
- Hawkins C.E., Baars C., Hesterman H., Hocking G.J., Jones M.E., Lazenby B., Mann D., Mooney N., Pemberton D., Pyecroft S., Restani M., Wiersma J., 2006. *Emerging disease and population decline of an island endemic, the Tasmanian devil, Sarcophilus harrisii*. *Biological Conservation*, **131** (2): 307-324, doi: 10.1016/j.biocon.2006.04.010
- Hayes D.A., Kunde D.A., Taylor R.L., Pyecroft S.B., Sohal S.S., Snow E.T., 2017. ERBB3: A potential serum biomarker for early detection and therapeutic target for Devil Facial Tumour 1 (DFT1). *PLOS ONE*, **12** (6): e0177919, doi: 10.1371/journal.pone.0177919
- Hesterman H., Jones S.M., Schwarzenberger F., 2008a. Reproductive endocrinology of the largest dasyurids: Characterization of ovarian cycles by plasma and fecal steroid monitoring. Part I. The Tasmanian devil (*Sarcophilus harrisii*). *General and Comparative Endocrinology*, **155** (1): 234-244, doi: 10.1016/j.ygcn.2007.05.013
- Hesterman H., Jones S.M., Schwarzenberger F., 2008b. Pouch appearance is a reliable indicator of the reproductive status in the Tasmanian devil and the spotted-tailed quoll. *Journal of Zoology*, **275** (2): 130-138, doi: 10.1111/j.1469-7998.2008.00419.x
- Hewavisenti R.V., Morris K.M., O'Meally D., Cheng Y., Papenfuss A.T., Belov K., 2016. The identification of immune genes in the milk transcriptome of the Tasmanian devil (*Sarcophilus harrisii*). *PeerJ*, **4**e1569, doi: 10.7717/peerj.1569
- Hobday A.J., Minstrell M.L., 2008. Distribution and abundance of roadkill on Tasmanian highways: human management options. *Wildlife Research*, **35** (7): 712, doi: 10.1071/WR08067
- Hogg C., 2017. *Metapopulation Advisory Committee Report* (Rapport non publié). M.A.C., Sydney, NSW, Australie
- Hogg C.J., Grueber C.E., Pemberton D., Fox S., Lee A.V., Ivy J.A., Belov K., 2017. « Devil Tools & Tech »: A synergy of conservation research and management practice: conservation research & management practice. *Conservation Letters*, **10** (1): 133-138, doi: 10.1111/conl.12221
- Hogg C.J., Lee A.V., Srb C., Hibbard C., 2016. Metapopulation management of an Endangered species with limited genetic diversity in the presence of disease: the Tasmanian devil *Sarcophilus harrisii*. *International Zoo Yearbook*, doi: 10.1111/izy.12144
- Hollings T., Jones M., Mooney N., Mccallum H., 2014. Trophic cascades following the disease-induced decline of an apex predator, the Tasmanian Devil: Ecosystem effects of Devil Facial Tumor Disease. *Conservation Biology*, **28** (1): 63-75, doi: 10.1111/cobi.12152
- Holz P., Little P., 1995. Degenerative leukoencephalopathy and myelopathy in dasyurids. *Journal of Wildlife Diseases*, **31** (4): 509-513

- Howson L.J., Morris K.M., Kobayashi T., Tovar C., Kreiss A., Papenfuss A.T., Corcoran L., Belov K., Woods G.M., 2014. Identification of dendritic cells, B cell and T cell subsets in Tasmanian devil lymphoid tissue; evidence for poor immune cell infiltration into Devil Facial Tumors: Dcs, B Cell, and T Cell Subsets in the Tasmanian Devil. *The Anatomical Record*, **297** (5): 925-938, doi: 10.1002/ar.22904
- Hudson P.J., Dobson A.P., Lafferty K.D., 2006. Is a healthy ecosystem one that is rich in parasites? *Trends in Ecology & Evolution*, **21** (7): 381-385, doi: 10.1016/j.tree.2006.04.007
- Huxtable S.J., Lee D.V., Wise P., Program S., 2015. Metapopulation management of an extreme disease scenario. *Advances in Reintroduction Biology of Australian and New Zealand Fauna*. CSIRO Publ. : Eds. D. Armstrong, M. Hayward, D. Moro, P. Seddon. 141-154
- Inger R., Per E., Cox D.T.C., Gaston K.J., 2016. Key role in ecosystem functioning of scavengers reliant on a single common species. *Scientific Reports*, **6** (1): : e29641, doi: 10.1038/srep29641
- Hawkins, C.E., McCallum, H., Mooney, N., Jones, M. & Holdsworth, M., 2008. *Sarcophilus harrisii* [En ligne]. The IUCN Red List of Threatened Species, Disponible sur <http://www.iucnredlist.org/details/40540/0> (consulté le 09 juin 2017)
- IUCN, SSC, 2013. *Guidelines for reintroductions and other conservation translocations*. 1ère édition. Gland, Suisse. 57p. ISBN 978-2-8317-1609-1
- Jackson S., 2007. *Australian mammals, Biology and captive management*. CSIRO Publ., Melbourne. 548p. ISBN 978-0-643-09507-6
- Jones M.E., 1998. The function of vigilance in sympatric marsupial carnivores: the eastern quoll and the Tasmanian devil. *Animal Behaviour*, **56** (5): 1279-1284, doi: 10.1006/anbe.1998.0893
- Jones M.E., 2003a. Carnivore concerns: problems, issues and solutions for conserving Australia's marsupial carnivores. In: *Predators with pouches: the biology of carnivorous marsupials*. CSIRO, Collingwood, Vic, 422-434
- Jones M.E., 2003b. Disease decimates the devil. *Wilderness News*, **164**: 14-15
- Jones M.E., Barmuta L.A., 2000. Niche differentiation among sympatric Australian dasyurid carnivores. *Journal of Mammalogy*, **81** (2): 434-447
- Jones M.E., Cockburn A., Hamede R., Hawkins C., Hesterman H., Lachish S., Mann D., McCallum H., Pemberton D., 2008. Life-history change in disease-ravaged Tasmanian devil populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **105** (29): 10023-10027
- Jones M.E., Paetkau D., Geffen E., Moritz C., 2004. Genetic diversity and population structure of Tasmanian devils, the largest marsupial carnivore. *Molecular Ecology*, **13** (8): 2197-2209, doi: 10.1111/j.1365-294X.2004.02239.x
- Jones M.E., Rose R.K., 1996. *Preliminary assessment of distribution and habitat associations of the spotted-tailed quoll (Dasyurus maculatus maculatus) and eastern quoll (D. viverrinus) in Tasmania to determine conservation and reservation status*. Report to the Tasmanian Regional Forest Agreement Environment and Heritage Technical Committee, Tasmanian Public Land Use Commission, Hobart, Tasmania

- Karu N., Wilson R., Hamede R., Jones M., Woods G.M., Hilder E.F., Shellie R.A., 2016. Discovery of biomarkers for Tasmanian Devil Cancer (DFTD) by metabolic profiling of serum. *Journal of Proteome Research*, **15** (10): 3827-3840, doi: 10.1021/acs.jproteome.6b00629
- Kreiss A., Brown G.K., Tovar C., Lyons A.B., Woods G.M., 2015. Evidence for induction of humoral and cytotoxic immune responses against Devil Facial Tumor Disease cells in Tasmanian devils (*Sarcophilus harrisi*) immunized with killed cell preparations. *Vaccine*, **33** (26): 3016-3025, doi: 10.1016/j.vaccine.2015.01.039
- Kreiss A., Cheng Y., Kimble F., Wells B., Donovan S., Belov K., Woods G.M., 2011a. Allorecognition in the Tasmanian devil (*Sarcophilus harrisi*), an Endangered marsupial species with limited genetic diversity. *PLoS ONE*, **6** (7): e22402, doi: 10.1371/journal.pone.0022402
- Kreiss A., Fox N., Bergfeld J., Quinn S.J., Pyecroft S., Woods G.M., 2008. Assessment of cellular immune responses of healthy and diseased Tasmanian devils (*Sarcophilus harrisi*). *Developmental & Comparative Immunology*, **32** (5): 544-553, doi: 10.1016/j.dci.2007.09.002
- Kreiss A., Tovar C., Obendorf D.L., Dun K., Woods G.M., 2011b. A murine xenograft model for a transmissible cancer in Tasmanian devils. *Veterinary Pathology*, **48** (2): 475-481, doi: 10.1177/0300985810380398
- Kreiss A., Wells B., Woods G.M., 2009. The humoral immune response of the Tasmanian devil (*Sarcophilus harrisi*) against horse red blood cells. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, **130** (1-2): 135-137, doi: 10.1016/j.vetimm.2009.02.003
- Kuruppath S., Bisana S., Sharp J.A., Lefevre C., Kumar S., Nicholas K.R., 2012. Monotremes and marsupials: Comparative models to better understand the function of milk. *Journal of Biosciences*, **37** (4): 581-588, doi: 10.1007/s12038-012-9247-x
- Lachish S., Jones M., McCallum H., 2007. The impact of disease on the survival and population growth rate of the Tasmanian devil. *Journal of Animal Ecology*, **76** (5): 926-936, doi: 10.1111/j.1365-2656.2007.01272.x
- Lachish S., McCallum H., Jones M., 2009. Demography, disease and the devil: life-history changes in a disease-affected population of Tasmanian devils (*Sarcophilus harrisi*). *Journal of Animal Ecology*, **78** (2): 427-436, doi: 10.1111/j.1365-2656.2008.01494.x
- Lachish S., McCALLUM H., Mann D., Pukk C.E., Jones M.E., 2010. Evaluation of selective culling of infected individuals to control Tasmanian Devil Facial Tumor Disease: Management of Devil Facial Tumor Disease. *Conservation Biology*, **24** (3): 841-851, doi: 10.1111/j.1523-1739.2009.01429.x
- Lachish S., Miller K.J., Storfer A., Goldizen A.W., Jones M.E., 2011. Evidence that disease-induced population decline changes genetic structure and alters dispersal patterns in the Tasmanian devil. *Heredity*, **106** (1): 172
- Ladds P., 2009. *Pathology of Australian native wildlife*. CSIRO, Collingwood, 640 p. ISBN 978-0-643-09444-4
- Ladds P., Loh R., Jones M.E., Tucker P., 2003. Probable lymphosarcoma in the Tasmanian devil (*Sarcophilus harrisi*). In: *Proceedings of the Australian Society for Veterinary pathology Annual Conference*

- Lane A., Cheng Y., Wright B., Hamede R., Levan L., Jones M., Ujvari B., Belov K., 2012. New insights into the role of MHC diversity in Devil Facial Tumour Disease. *PLoS ONE*, **7** (6): e36955, doi: 10.1371/journal.pone.0036955
- Loh R., Bergfeld J., Hayes D., O'hara A., Pyecroft S., Raidal S., Sharpe R., 2006a. The pathology of Devil Facial Tumor Disease (DFTD) in Tasmanian devils (*Sarcophilus harrisii*). *Veterinary Pathology*, **43** (6): 890–895
- Loh R., Hayes D., Mahjoor A., O'Hara A., Pyecroft S., Raidal S., 2006b. The immunohistochemical characterization of Devil Facial Tumor Disease (DFTD) in the Tasmanian devil (*Sarcophilus harrisii*). *Veterinary Pathology*, **43** (6): 896–903
- Markandya A., Taylor T., Longo A., Murty M.N., Murty S., Dhavala K., 2008. Counting the cost of vulture decline—An appraisal of the human health and other benefits of vultures in India. *Ecological Economics*, **67** (2): 194-204, doi: 10.1016/j.ecolecon.2008.04.020
- McCallum H., Jones M., 2006. To lose both would look like carelessness: Tasmanian Devil Facial Tumour Disease. *PLoS biology*, **4** (10): e342
- McCallum H., Jones M., Hawkins C., Hamede R., Lachish S., Sinn D.L., Beeton N., Lazenby B., 2009. Transmission dynamics of Tasmanian Devil Facial Tumor Disease may lead to disease-induced extinction. *Ecology*, **90** (12): 3379-3392, doi: 10.1890/08-1763.1
- McCallum H., Jones M., Lunney D., 2008. Lessons from the looming extinction of the Tasmanian Devil. *Pacific Conservation Biology*, **14** (3): 151–153
- McCallum H., Tompkins D.M., Jones M., Lachish S., Marvanek S., Lazenby B., Hocking G., Wiersma J., Hawkins C.E., 2007. Distribution and impacts of Tasmanian Devil Facial Tumor Disease. *EcoHealth*, **4** (3): 318-325, doi: 10.1007/s10393-007-0118-0
- Metzger M.J., Reinisch C., Sherry J., Goff S.P., 2015. Horizontal transmission of clonal cancer cells causes leukemia in soft-shell clams. *Cell*, **161** (2): 255-263, doi: 10.1016/j.cell.2015.02.042
- Metzger M.J., Villalba A., Carballal M.J., Iglesias D., Sherry J., Reinisch C., Muttray A.F., Baldwin S.A., Goff S.P., 2016. Widespread transmission of independent cancer lineages within multiple bivalve species. *Nature*, **534** (7609): 705-709, doi: 10.1038/nature18599
- Miller K., 2016. *Which stimuli elicit a flight response from Tasmanian Devils? A precursor to vehicle avoidance training to reduce road deaths after reintroduction* (Conservation and Research). Healesville Sanctuary, Healesville, Victoria, Australia
- Miller W., Hayes V.M., Ratan A., Petersen D.C., Wittekindt N.E., Miller J., Walenz B., Knight J., Qi J., Zhao F., Wang Q., Bedoya-Reina O.C., Katiyar N., Tomsho L.P., Kasson L.M., Hardie R.-A., Woodbridge P., Tindall E.A., Bertelsen M.F., Dixon D., Pyecroft S., Helgen K.M., Lesk A.M., Pringle T.H., Patterson N., Zhang Y., Kreiss A., Woods G.M., Jones M.E., Schuster S.C., 2011. Genetic diversity and population structure of the endangered marsupial *Sarcophilus harrisii* (Tasmanian devil). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **108** (30): 12348-12353, doi: 10.1073/pnas.1102838108
- Moleon M., Sanchez-Zapata J., 2015. The living dead: Time to integrate scavenging into ecological teaching. *BioScience*, **65** (10): 1003-1010, doi: 10.1093/biosci/biv101

- Moleon M., Sanchez-Zapata J.A., Margalida A., Carrete M., Owen-Smith N., Donazar J.A., 2014. Humans and scavengers: The evolution of interactions and ecosystem services. *BioScience*, **64** (5): 394-403, doi: 10.1093/biosci/biu034
- Mooney N., 2003. Deadly diseases (Propsectus). *Department of Primary Industries, Water and Environment of Tasmania*
- Morris K., Austin J.J., Belov K., 2012. Low major histocompatibility complex diversity in the Tasmanian devil predates European settlement and may explain susceptibility to disease epidemics. *Biology Letters*, **9** (1): 20120900, doi: 10.1098/rsbl.2012.0900
- Morris K., Belov K., 2013. Does the Devil Facial Tumour produce immunosuppressive cytokines as an immune evasion strategy? *Veterinary Immunology and Immunopathology*, **153** (1-2): 159-164, doi: 10.1016/j.vetimm.2013.02.008
- Murchison E.P., 2008. Clonally transmissible cancers in dogs and Tasmanian devils. *Oncogene*, **27**: 19-30, doi: 10.1038/onc.2009.350
- Murchison E.P., Schulz-Trieglaff O.B., Ning Z., Alexandrov L.B., Bauer M.J., Fu B., Hims M., Ding Z., Ivakhno S., Stewart C., Ng B.L., Wong W., Aken B., White S., Alsop A., Becq J., Bignell G.R., Cheetham R.K., Cheng W., Connor T.R., Cox A.J., Feng Z.-P., Gu Y., Grocock R.J., Harris S.R., Khrebtukova I., Kingsbury Z., Kowarsky M., Kreiss A., Luo S., Marshall J., McBride D.J., Murray L., Pearse A.-M., Raine K., Rasolonjatovo I., Shaw R., Tedder P., Tregidgo C., Vilella A.J., Wedge D.C., Woods G.M., Gormley N., Humphray S., Schroth G., Smith G., Hall K., Searle S.M.J., Carter N.P., Papenfuss A.T., Futreal P.A., Campbell P.J., Yang F., Bentley D.R., Evers D.J., Stratton M.R., 2012. Genome sequencing and analysis of the Tasmanian devil and its transmissible cancer. *Cell*, **148** (4): 780-791, doi: 10.1016/j.cell.2011.11.065
- Murchison E.P., Tovar C., Hsu A., Bender H.S., Kheradpour P., Rebbeck C.A., Obendorf D., Conlan C., Bahlo M., Blizzard C.A., Pyecroft S., Kreiss A., Kellis M., Stark A., Harkins T.T., Graves J.A.M., Woods G.M., Hannon G.J., Papenfuss A.T., 2010. The Tasmanian devil transcriptome reveals Schwann cell origins of a clonally transmissible cancer. *Science*, **327** (5961): 84-87, doi: 10.1126/science.1180616
- Murchison E.P., Wedge D.C., Alexandrov L.B., Fu B., Martincorena I., Ning Z., Tubio J.M.C., Werner E.I., Allen J., De Nardi A.B., Donelan E.M., Marino G., Fassati A., Campbell P.J., Yang F., Burt A., Weiss R.A., Stratton M.R., 2014. Transmissible dog cancer genome reveals the origin and history of an ancient cell lineage. *Science*, **343** (6169): 437-440, doi: 10.1126/science.1247167
- Myers P., 2001. Dasyuridae [En ligne]. Animal Diversity Web, Disponible sur <http://animaldiversity.org/accounts/Dasyuridae/> (consulté le 19 mai 2017)
- Nihrazn C., Colvin E., 2013. Dasyuromorphia [En ligne]. Animal Diversity Web, Disponible sur <http://animaldiversity.org/accounts/Dasyuromorphia/> (consulté le 19 mai 2017)
- North M.A., Lane E.P., Marnewick K., Caldwell P., Carlisle G., Hoffman L.C., 2015. Suspected lead poisoning in two captive cheetahs (*Acinonyx jubatus jubatus*) in South Africa, in 2008 and 2013. *Journal of the South African Veterinary Association*, **86** (1): e1286, doi: 10.4102/jsava.v86i1.1286
- Ostrander E.A., Davis B.W., Ostrander G.K., 2016. Transmissible tumors: Breaking the cancer paradigm. *Trends in Genetics*, **32** (1): 1-15, doi: 10.1016/j.tig.2015.10.001

- Owen D., Pemberton D., 2011. *Tasmanian devil: a unique and threatened animal*. Allen & Unwin, Crows Nest, NSW. 225p. ISBN 978-1-74237-630-1
- Pain D.J., Amiardtriquet C., 1993. Lead poisoning of raptors in France and elsewhere. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **25** (2): 183-192, doi: 10.1006/eesa.1993.1017
- Pattee O.H., Carpenter J.W., Fritts S.H., Rattner B.A., Wiemeyer S.N., Royle J.A., Smith M.R., 2006. Lead poisoning in captive Andean condors (*Vultur gryphus*). *Journal of wildlife diseases*, **42** (4): 772–779
- Pearse A.-M., Swift K., 2006. Allograft theory: Transmission of Devil Facial Tumour Disease. *Nature*, **439** (7076): 549-549, doi: 10.1038/439549a
- Pearse A.-M., Swift K., Hodson P., Hua B., McCallum H., Pyecroft S., Taylor R., Eldridge M.D.B., Belov K., 2012. Evolution in a transmissible cancer: a study of the chromosomal changes in Devil Facial Tumor (DFT) as it spreads through the wild Tasmanian devil population. *Cancer Genetics*, **205** (3): 101-112, doi: 10.1016/j.cancer-gen.2011.12.001
- Pedersen S., Hindkjær J., Brandt C.A., Bolund L., Kølvrå S., 1994. Reverse chromosome painting. In: *In Situ Hybridization Protocols*. Humana Press, New Jersey, 23-34
- Peel E., Cheng Y., Djordjevic J.T., Fox S., Sorrell T.C., Belov K., 2016. Cathelicidins in the Tasmanian devil (*Sarcophilus harrisii*). *Scientific Reports*, **6**: 35019, doi: 10.1038/srep35019
- Pemberton D., 1990. Social organisation and behaviour of the Tasmanian devil (*Sarcophilus harrisii*). University of Tasmania, Hobart
- Pemberton D., Renouf D., 1993. A field study of communication and social behaviour of the Tasmanian devil at feeding sites. *Australian Journal of Zoology*, **41**: 507-526
- Phillips B.T., Jackson S.M., 2003. Growth and development of the Tasmanian devil (*Sarcophilus harrisii*) at Healesville Sanctuary, Victoria, Australia. *Zoo Biology*, **22** (5): 497-505, doi: 10.1002/zoo.10092
- Pretyman E.R., 1966. Harris, George Prideaux Robert (1775–1810) [En ligne]. Australian Dictionary of Biography, Disponible sur <http://adb.anu.edu.au/biography/harris-george-prideaux-robert-2161/text2767> (consulté le 05 juillet 2017)
- Pye R., Hamede R., Siddle H.V., Caldwell A., Knowles G.W., Swift K., Kreiss A., Jones M.E., Lyons A.B., Woods G.M., 2016a. Demonstration of immune responses against Devil Facial Tumour Disease in wild Tasmanian devils. *Biology Letters*, **12** (10): 20160553, doi: 10.1098/rsbl.2016.0553
- Pye R.J., Pemberton D., Tovar C., Tubio J.M.C., Dun K.A., Fox S., Darby J., Hayes D., Knowles G.W., Kreiss A., Siddle H.V.T., Swift K., Lyons A.B., Murchison E.P., Woods G.M., 2016b. A second transmissible cancer in Tasmanian devils. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **113** (2): 374-379, doi: 10.1073/pnas.1519691113
- Pye R.J., Woods G.M., Kreiss A., 2016c. Devil Facial Tumor Disease. *Veterinary Pathology*, **53** (4): 726-736, doi: 10.1177/0300985815616444
- Pyecroft S.B., Pearse A.-M., Loh R., Swift K., Belov K., Fox N., Noonan E., Hayes D., Hyatt A., Wang L., Boyle D., Church J., Middleton D., Moore R., 2007. Towards a case

- definition for Devil Facial Tumour Disease: What is it? *EcoHealth*, **4** (3): 346-351, doi: 10.1007/s10393-007-0126-0
- Rabinowitz M.B., Wetherill G.W., Kopple J.D., 1976. Kinetic analysis of lead metabolism in healthy humans. *Journal of Clinical Investigation*, **58** (2): 260
- Rodríguez J.J., Oliveira P.A., Fidalgo L.E., Ginja M.M.D., Silvestre A.M., Ordoñez C., Serantes A.E., Gonzalo-Orden J.M., Orden M.A., 2010. Lead toxicity in captive and wild mallards (*Anas platyrhynchos*) in Spain. *Journal of Wildlife Diseases*, **46** (3): 854-863, doi: 10.7589/0090-3558-46.3.854
- Rogers T., Fox S., Pemberton D., Wise P., 2016. Sympathy for the devil: captive-management style did not influence survival, body-mass change or diet of Tasmanian devils 1 year after wild release. *Wildlife Research*, **43**: 544-552, doi: 10.1071/WR15221
- Rounsevell D.E., Taylor R.J., Hocking G.J., 1991. Distribution records of native terrestrial mammals in Tasmania. *Wildlife Research*, **18** (6): 699–717
- Russel E.M., 1984. Social behaviour and social organization of marsupials. *Mammal review*, **14**: 101-154
- Savolainen P., Leitner T., Wilton A.N., Matisoo-Smith E., Lundeberg J., 2004. A detailed picture of the origin of the Australian dingo, obtained from the study of mitochondrial DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **101** (33): 12387-12390, doi: 10.1073/pnas.0401814101
- Shields W.M., 1983. Chapter 8: Optimal inbreeding and the evolution of philopatry. In: *The Ecology of Animal Movement*. Clarendon Press, Oxford, U.K.: Eds. P.J. Greenwood, I.R. Swingland
- Siddle H.V., 2017. Cancer as a contagious disease. *HLA*, **89** (4): 209-214, doi: 10.1111/tan.12980
- Siddle H.V., Kaufman J., 2013a. How the Devil Facial Tumor disease escapes host immune responses. *Onc Immunology*, **2** (8): e25235, doi: 10.4161/onci.25235
- Siddle H.V., Kaufman J., 2013b. A tale of two tumours: Comparison of the immune escape strategies of contagious cancers. *Molecular Immunology*, **55** (2): 190-193, doi: 10.1016/j.molimm.2012.10.017
- Siddle H.V., Kaufman J., 2015. Immunology of naturally transmissible tumours. *Immunology*, **144** (1): 11-20, doi: 10.1111/imm.12377
- Siddle H.V., Kreiss A., Eldridge M.D.B., Noonan E., Clarke C.J., Pyecroft S., Woods G.M., Belov K., 2007. Transmission of a fatal clonal tumor by biting occurs due to depleted MHC diversity in a threatened carnivorous marsupial. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **104** (41): 16221-16226, doi: 10.1073/pnas.0704580104
- Siddle H.V., Kreiss A., Tovar C., Yuen C.K., Cheng Y., Belov K., Swift K., Pearse A.-M., Hamede R., Jones M.E., Skjodt K., Woods G.M., Kaufman J., 2013. Reversible epigenetic down-regulation of MHC molecules by Devil Facial Tumour Disease illustrates immune escape by a contagious cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **110** (13): 5103-5108, doi: 10.1073/pnas.1219920110

- Siddle H.V., Marzec J., Cheng Y., Jones M., Belov K., 2010. MHC gene copy number variation in Tasmanian devils: implications for the spread of a contagious cancer. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **277** (1690): 2001-2006, doi: 10.1098/rspb.2009.2362
- STDP, 2011. *Proposal to establish a managed population of Devil Facial Tumour Disease (DFTD)-free Tasmanian devils (Sarcophilus harrisii) on Maria Island* (Rapport non publié). Department of Primary Industry, Parks, Water and Environment (DPIPWE), Hobart, Tasmanie, Australie
- STDP, 2017. About Tasmanian Devils [En ligne]. Save the Tasmanian Devil Program, Disponible sur <http://www.tassiedevil.com.au/tasdevil.nsf/About-Tasmanian-devils/611F4851DA7D24A6CA2578E1002032AF> (consulté le 06 septembre 2017)
- STDP, 2017a. *Roadkill Project - 2016 Summary* (Rapport non publié). Department of Primary Industry, Parks, Water and Environment (DPIPWE), Hobart, Tasmanie, Australie
- STDP, 2017b. *Annual Monitoring Project 2017 Summary Report* (Rapport non publié). DPIPWE, Hobart, Tasmanie, Australie
- Terborgh J., Estes J., Paquet P., Ralls K., Boyd-Heger D., Miller B., Noss R., 1999. The role of top carnivores in regulating terrestrial ecosystems. *Wild Earth*, **9**: 42-56
- Thomas O., 1912. The technical name of the Tasmanian devil. *Proceedings of the Biological Society of Washington*, **25**: 116
- Tasmanian Government, 1995. Threatened Species Protection Act [En ligne], Tasmanian Legislation, www.thelaw.tas.gov.au (consulté le 06 octobre 2017)
- Tovar C., Pye R.J., Kreiss A., Cheng Y., Brown G.K., Darby J., Malley R.C., Siddle H.V.T., Skjødt K., Kaufman J., Silva A., Baz Morelli A., Papenfuss A.T., Corcoran L.M., Murphy J.M., Pearse M.J., Belov K., Lyons A.B., Woods G.M., 2017. Regression of Devil Facial Tumour Disease following immunotherapy in immunised Tasmanian devils. *Scientific Reports*, **7**: 43827, doi: 10.1038/srep43827
- Turner W.C., Kausrud K.L., Krishnappa Y.S., Crowsigt J.P.G.M., Ganz H.H., Mapaure I., Cloete C.C., Havarua Z., Kusters M., Getz W.M., Stenseth N.C., 2014. Fatal attraction: vegetation responses to nutrient inputs attract herbivores to infectious anthrax carcass sites. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **281** (1795): 20141785, doi: 10.1098/rspb.2014.1785
- Ujvari B., Hamede R., Peck S., Pemberton D., Jones M., Belov K., Madsen T., 2016a. Immunoglobulin dynamics and cancer prevalence in Tasmanian devils (*Sarcophilus harrisii*). *Scientific Reports*, **6** (1): 25093, doi: 10.1038/srep25093
- Ujvari B., Papenfuss A.T., Belov K., 2016b. Transmissible cancers in an evolutionary context: Transmissible cancer evolution. *BioEssays*, **38**: 14-23, doi: 10.1002/bies.201670904
- Ujvari B., Pearse A.-M., Peck S., Harmsen C., Taylor R., Pyecroft S., Madsen T., Papenfuss A.T., Belov K., 2012. Evolution of a contagious cancer: epigenetic variation in Devil Facial Tumour Disease. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **280** (1750): 20121720, doi: 10.1098/rspb.2012.1720
- Van Dyck S., Strahan R. (Eds.), 2008. *The mammals of Australia*. 3rd ed. New Holland, Sydney, N.S.W. London, 887 p.

- Vogelnest L., Woods R. (Eds.), 2008. *Medicine of Australian mammals: an Australian perspective*. CSIRO Pub, Collingwood, Vic, 686 p.
- Wait L.F., Peck S., Fox S., Power M.L., 2017. A review of parasites in the Tasmanian devil (*Sarcophilus harrisi*). *Biodiversity and Conservation*, **26** (3): 509-526, doi: 10.1007/s10531-016-1256-x
- Watanabe T., Oda Y., Tamiya S., Kinukawa N., Masuda K., Tsuneyoshi M., 2001. Malignant peripheral nerve sheath tumours: high Ki67 labelling index is the significant prognostic indicator. *Histopathology*, **39** (2): 187-197, doi: 10.1046/j.1365-2559.2001.01176.x
- Wells K., Hamede R.K., Kerlin D.H., Storfer A., Hohenlohe P.A., Jones M.E., McCallum H.I., 2017. Infection of the fittest: Devil Facial Tumour Disease has greatest effect on individuals with highest reproductive output. *Ecology Letters*, **20** (6): 770-778, doi: 10.1111/ele.12776
- Wiemeyer G.M., Pérez M.A., Torres Bianchini L., Sampietro L., Bravo G.F., Jácome N.L., Astore V., Lambertucci S.A., 2017. Repeated conservation threats across the Americas: High levels of blood and bone lead in the Andean Condor widen the problem to a continental scale. *Environmental Pollution*, **220**: 672-679, doi: 10.1016/j.envpol.2016.10.025
- Wise P., 2011. *Maria Island Translocation Proposal* (Rapport non publié). STDP, DPIPWE, Tasmanie, Australie
- Woods G.M., Howson L.J., Brown G.K., Tovar C., Kreiss A., Corcoran L.M., Lyons A.B., 2015. Immunology of a transmissible cancer spreading among Tasmanian devils. *The Journal of Immunology*, **195** (1): 23-29, doi: 10.4049/jimmunol.1500131
- Woods G.M., Kreiss A., Belov K., Siddle H.V., Obendorf D.L., Muller H.K., 2007. The immune response of the Tasmanian devil (*Sarcophilus harrisi*) and Devil Facial Tumour Disease. *EcoHealth*, **4** (3): 338-345, doi: 10.1007/s10393-007-0117-1
- Wright B., Morris K., Grueber C.E., Willet C.E., Gooley R., Hogg C.J., O'Meally D., Hamede R., Jones M., Wade C., Belov K., 2015. Development of a SNP-based assay for measuring genetic diversity in the Tasmanian devil insurance population. *BMC Genomics*, **16** (1): 791, doi: 10.1186/s12864-015-2020-4
- Wright B., Willet C.E., Hamede R., Jones M., Belov K., Wade C.M., 2017. Variants in the host genome may inhibit tumour growth in Devil Facial Tumours: evidence from genome-wide association. *Scientific Reports*, **7** (1): 423, doi: 10.1038/s41598-017-00439-7

Toulouse, 2017

NOM : HIVERT

Prénom : Lorette

Avancées sur l'étude et le contrôle de la maladie tumorale faciale du Diable de Tasmanie : impacts en matière de conservation de l'espèce.

Résumé

Le Diable de Tasmanie, le plus grand carnivore marsupial au monde, est aujourd'hui en danger d'extinction. Les causes en sont le déclin démographique majeur et la perte de diversité génétique engendrés par la maladie tumorale faciale du Diable de Tasmanie (*Devil Facial Tumour Disease*), un cancer de la face transmissible et mortel. Cette thèse est une synthèse bibliographique des données accumulées et des dernières découvertes sur la DFTD qui permettent de comprendre son impact écologique et ses mécanismes immunologiques et génétiques. Elle présente également les mesures de gestion des populations sauvages et le rôle de la population captive d'« assurance » qui a pour objectif le maintien des diables et de leur diversité génétique dans le paysage tasmanien, ainsi que l'avancement de la recherche vaccinale contre cette maladie si atypique.

Mots-clés : DFTD, cancer transmissible, gestion des populations, diversité génétique, vaccin, *Sarcophilus harrisii*

Advances in understanding and managing Devil Facial Tumour Disease: impacts in terms of species conservation.

Abstract

The Tasmanian Devil, the world's largest marsupial, is an endangered species. This is explained by the major population decline and the loss of genetic diversity triggered by Devil Facial Tumour Disease, a cancer affecting the face of the animal, transmissible and lethal. This thesis is a literary review of the knowledge cumulated over the years and the latest advances about DFTD, in order to better understand its ecological impact and its immunological and genetic mechanisms. It also explains the measures implemented today to manage the wild populations and the role of the captive "insurance" population, aiming to maintain Tasmanian devils and their genetic diversity in the Tasmanian wilderness, as well as the last advancements in the elaboration of a vaccine against this unusual disease.

Key words: DFTD, transmissible cancer, population management, vaccine, genetic diversity, *Sarcophilus harrisii*