



Evaluation de l'impact des activités humaines sur la santé du mouflon méditerranéen

E Barge, M-T Poirel, S Benabed, C Itty, R Palme, T Buronfosse, S Storms, P Marchand, M Garel, G Bourgoïn



36èmes Rencontres du GEEFSM, réserve d'Orlu, France - 13-16 septembre 2018

Introduction

Activités humaines & stress

- ▶ Augmentation des activités récréatives en espaces naturels
- ▶ Homme perçu comme un prédateur
- ▶ Etudes sur le dérangement dû à l'Homme
 - Changements comportementaux : augmentation de la vigilance, fuite, changement d'habitat, déplacement du rythme d'activité.
 - Augmentation des hormones de stress

Introduction

Stress & immunité

- ▶ Relations complexes entre les hormones du stress & l'immunité :

	ACTIVATION	SUPPRESSION
Stress aigu	Voies Th1 et Th2	
Stress chronique	Voie Th2 Inflammation Régulation	Voie Th1

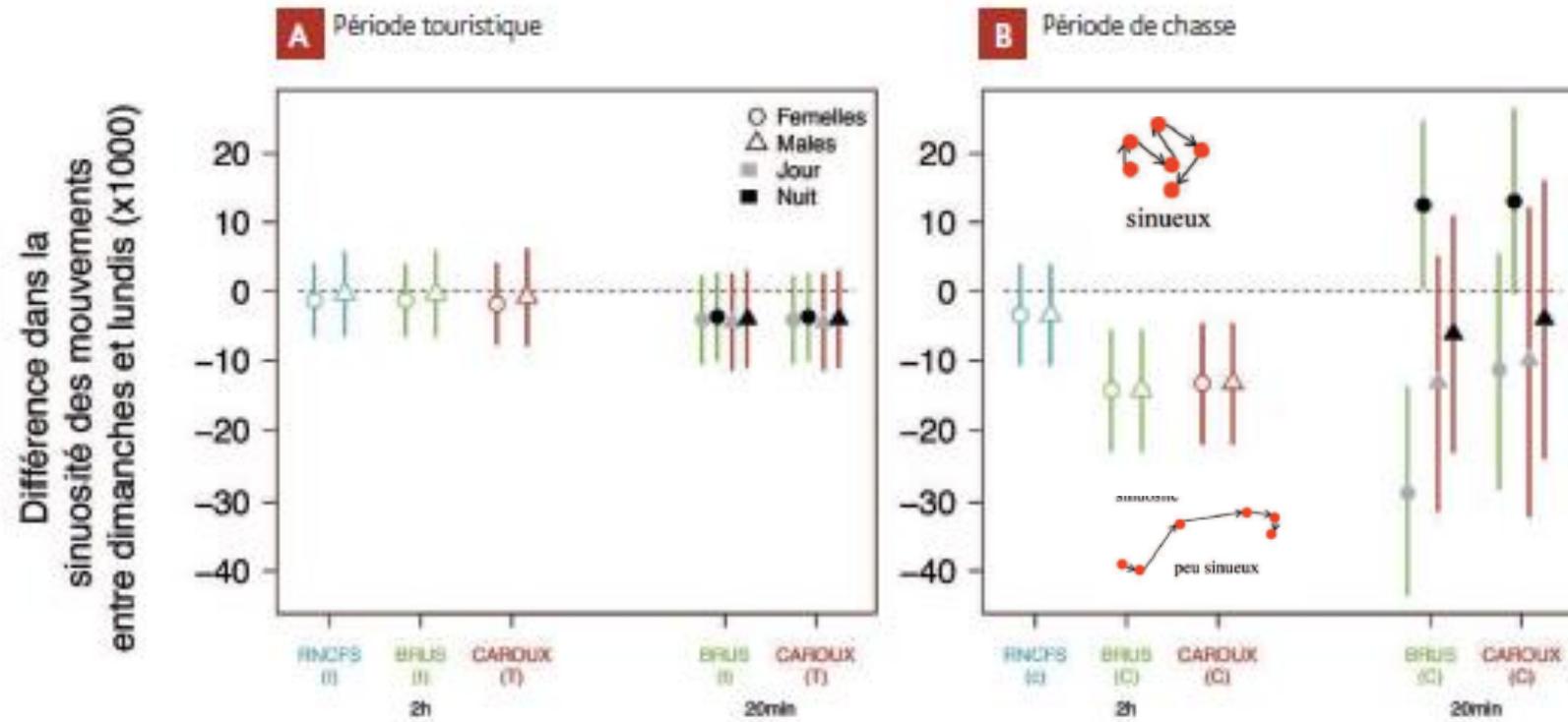
- ▶ MAIS activation parfois délétère : maladies auto-immunes, tumeurs

Stress chronique → dérèglement de l'immunité

- ▶  Immunité   infections bactériennes, parasitaires

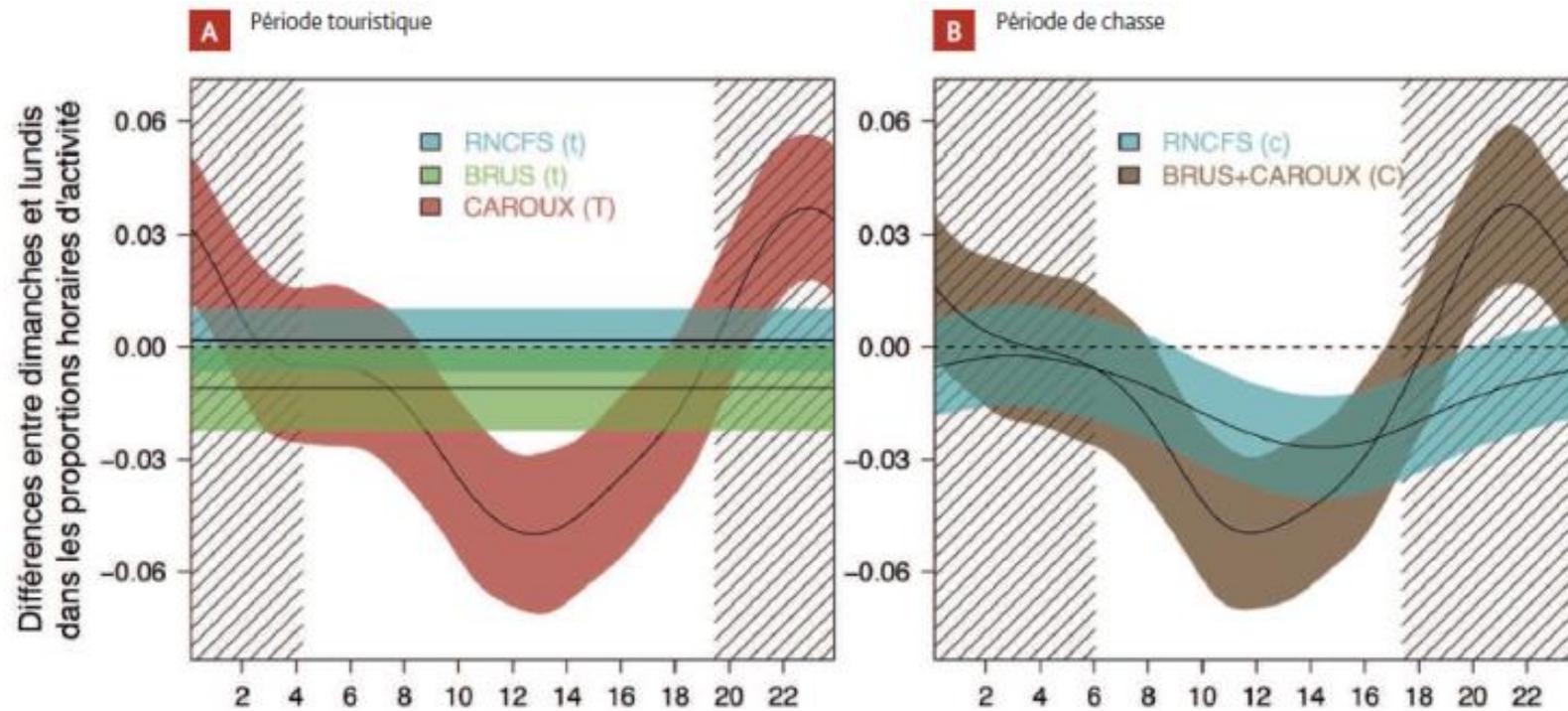
Introduction

- Etude de Marchand et al (2014):



Introduction

- ▶ Etude de Marchand et al (2014):



Conclusion: Les mouflons soumis à des pressions anthropogéniques fortes sont capables de moduler leurs réponses comportementales en fonction du facteur de stress et du risque encouru

Objectifs de notre étude ...

- ▶ Mesurer et comparer le stress de mouflons soumis à des activités humaines contrastées
- ▶ Evaluer l'immunité des mouflons en réalisant des comptages parasitaires
- ▶ Mettre en relation le stress et l'immunité

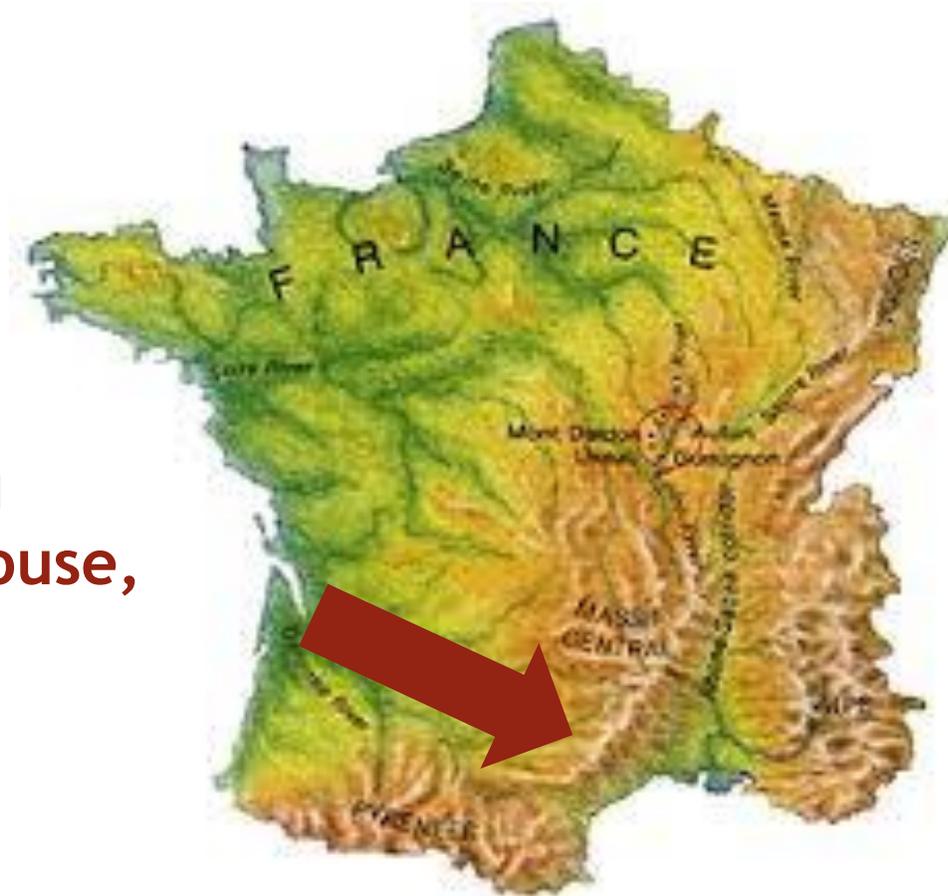
... & hypothèses

1. Stress & comptages parasitaires plus élevés :
 - ❖ Zone de chasse > zone de réserve
 - ❖ Zone touristique > zone de réserve.
 - ❖ Période de chasse > période touristique pour les zones dérangées
2. Corrélation positive entre le marqueur du stress et les données parasitaires

I. Matériels & méthodes

A. Zone d'étude

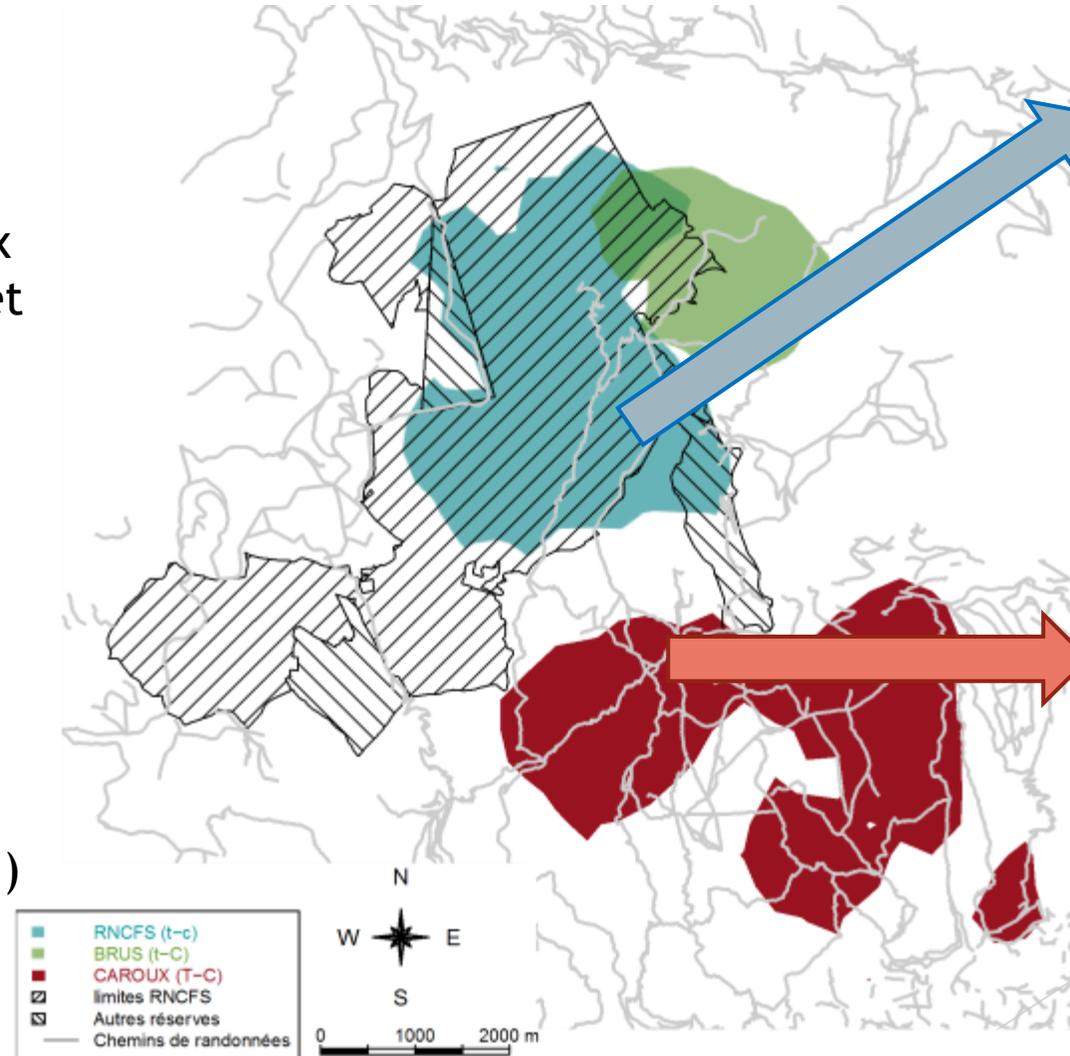
**Massif du
Caroux Espinouse,
Hérault**



I. Matériels & méthodes

A. Zone d'étude

- 17 000 ha
- Altitudes : 150m-1124m
- Végétation : plateaux avec des graminées et des arbustes, plantations de résineux, forêts de feuillus
- Climats variés
- 2500 mouflons
- Réintroduction entre 1956 et 1960 de 19 individus (9 ♂ & 10 ♀)



Réserve

- Chasse interdite
- Randonnée & accès limités



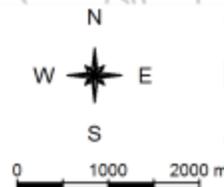
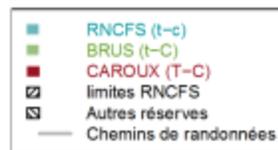
Plo des Brus

La chasse :

- De septembre à février
- Battue : mercredi, samedi, dimanche et jours fériés
- Chasse à l'approche les autres jours

Le tourisme :

- D'avril à août
- Fréquentation x5 le weekend
- Environ 30 000 visiteurs/an

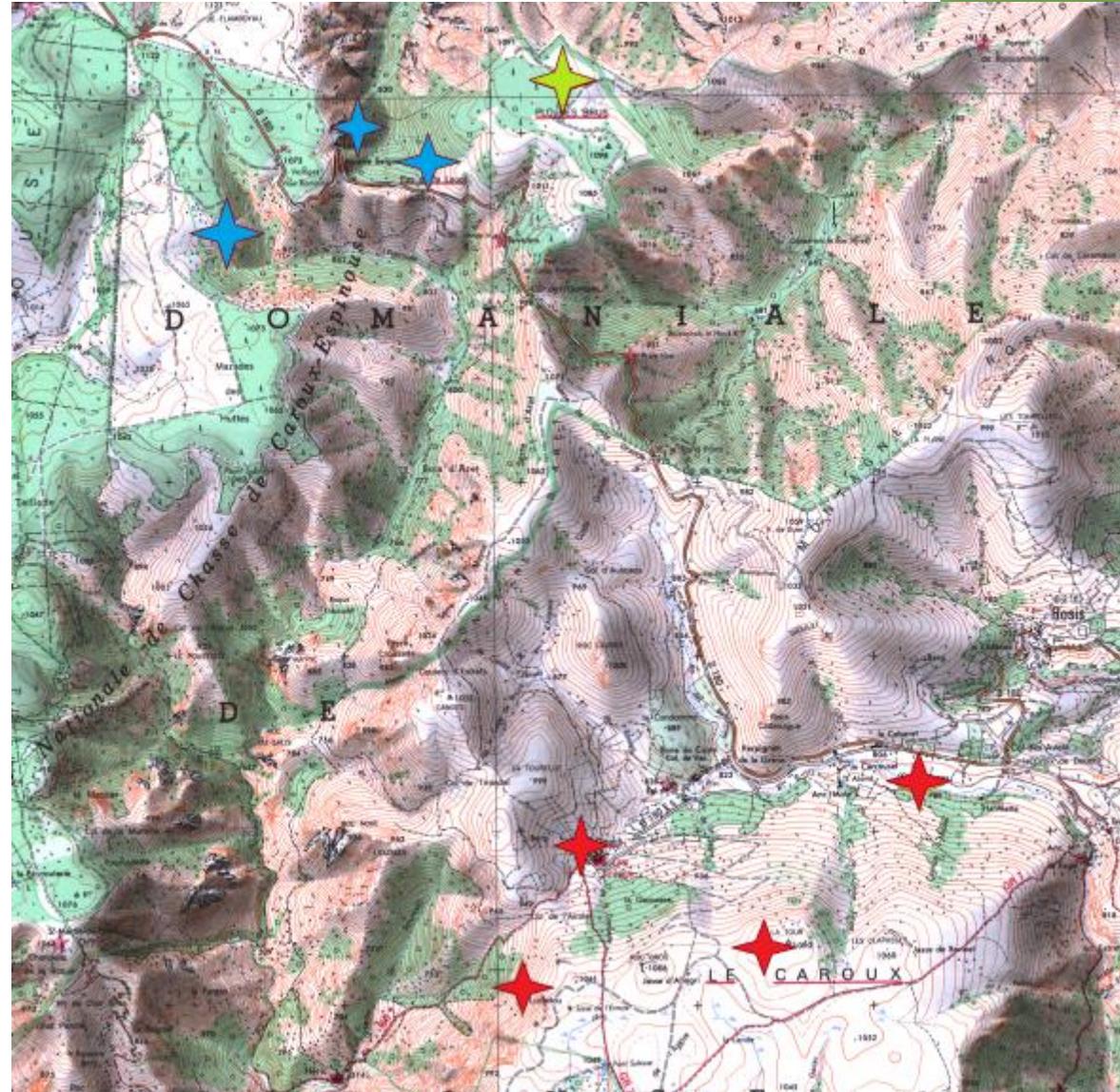


Plateau du Caroux



B. Collecte des prélèvements

- ▶ Au sol
- ▶ Le mardi : reflet de la concentration basale en métabolites fécaux du cortisol
- ▶ A 3 périodes de l'année
- ▶ Réfrigération à $+4^{\circ}\text{C}$
- ▶ Congélation à -20°C , max. 10h après collecte



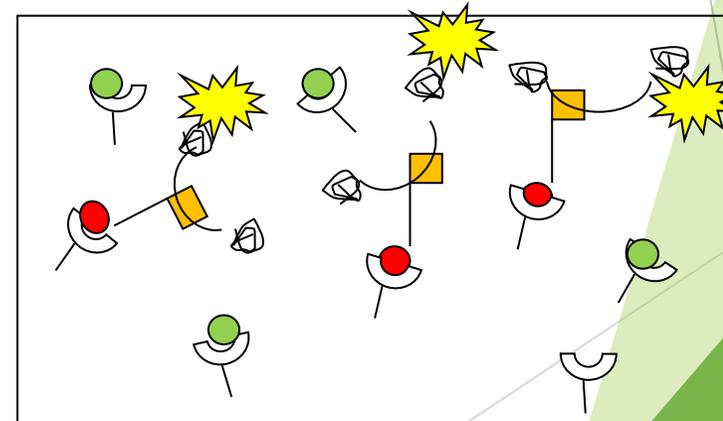
C. Analyses biochimiques

- ▶ Extraction des métabolites réalisées par nos soins



- ▶ Dosages immuno-enzymatiques réalisés à l'Université de Médecine Vétérinaire de Vienne

- Préparation de la plaque de microtitration
- Incubations et lavages
- Lecture de l'absorbance



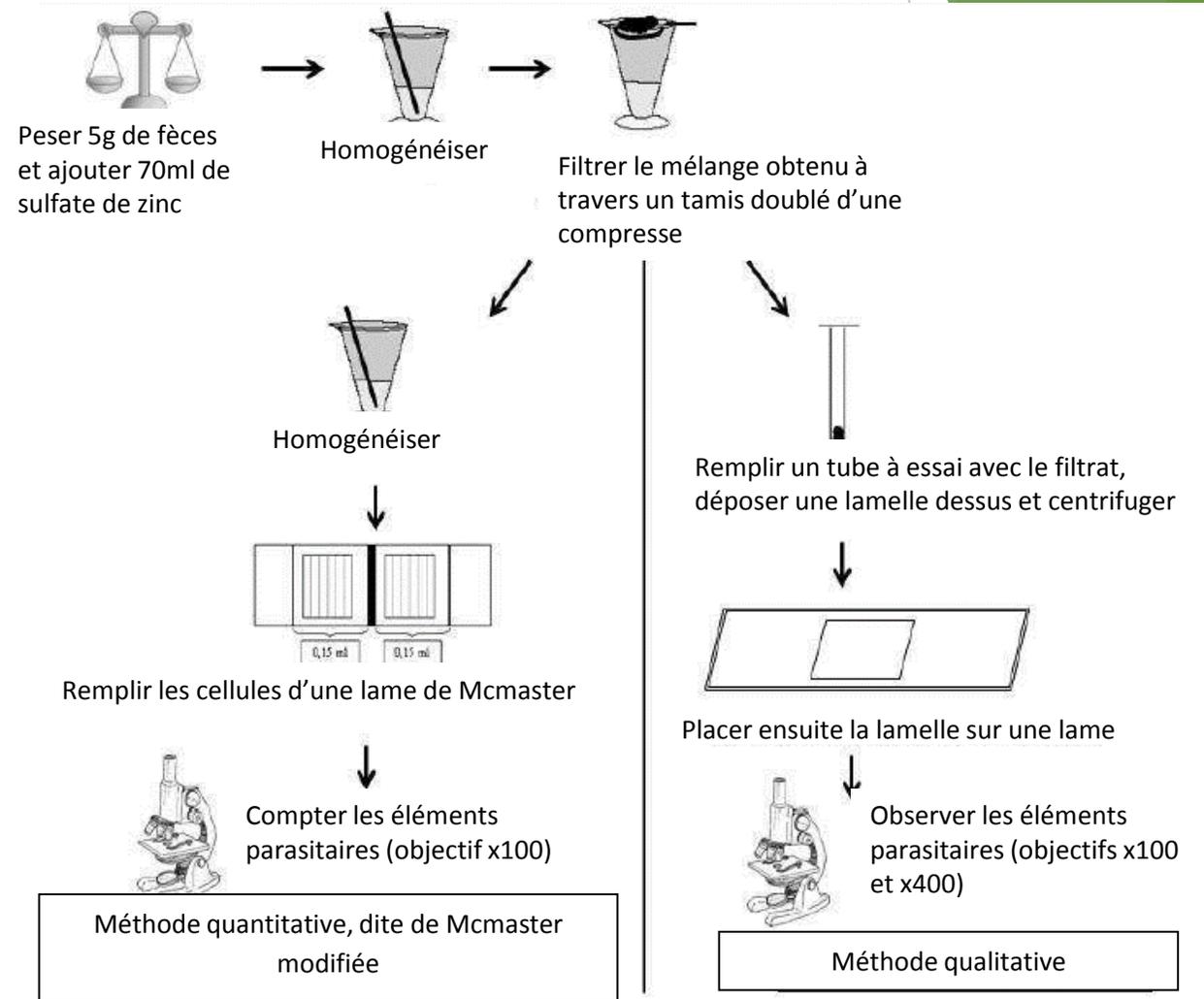
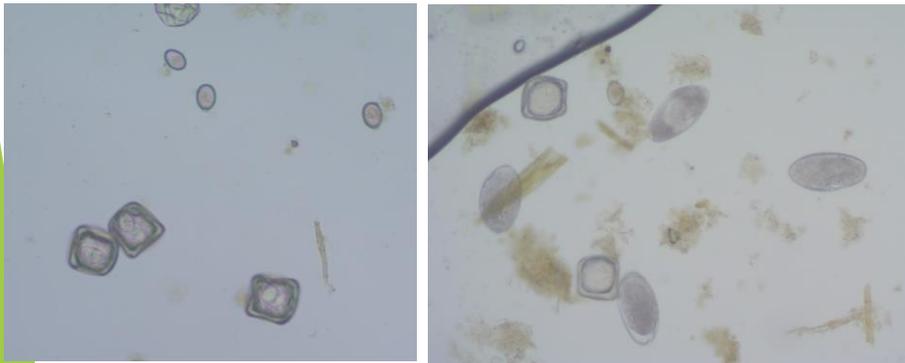
Légende

- Cortisol avec label
- Métabolites du cortisol
- Anticorps contre 11-oxoetiocholanonlone
- Enzyme et réaction lumineuse

D. Analyses parasitaires

Coproscopie

- Identifier et quantifier les œufs des parasites digestifs excrétés dans les fèces



E. Analyses parasitaires

Coproculture

- ▶ Incubation des fèces dans une étuve pendant 10-12 jours à 25 °C sous contrôle de l'humidité
- ▶ Isolement des larves
- ▶ Identification

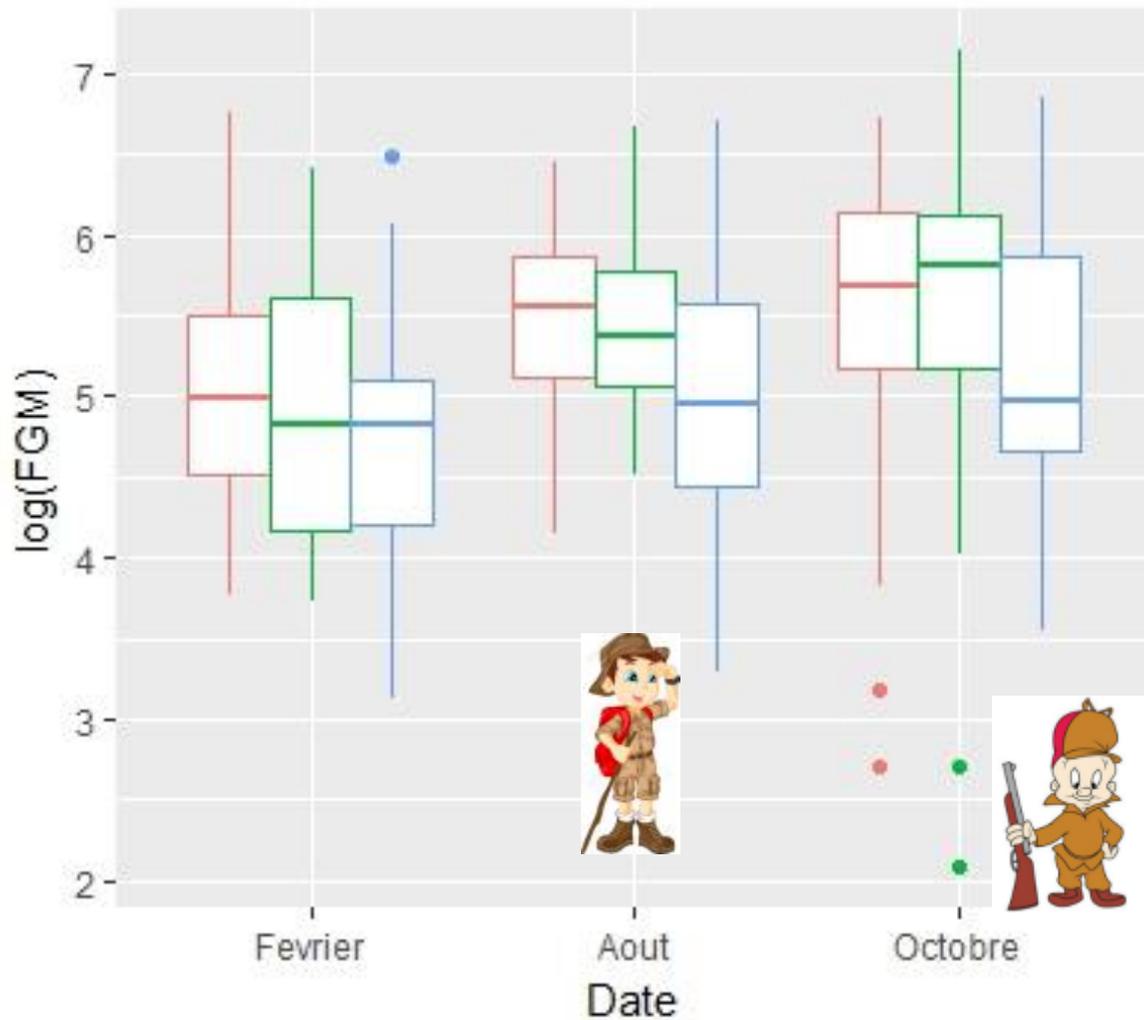


III. Résultats

Plan d'expérience		Zone			Total
		Caroux	Plo des Brus	RNCFS	
Saison	Février	25	20	30	75
	Aout	36	33	34	103
	Octobre	54	55	43	152
Total		115	108	107	330

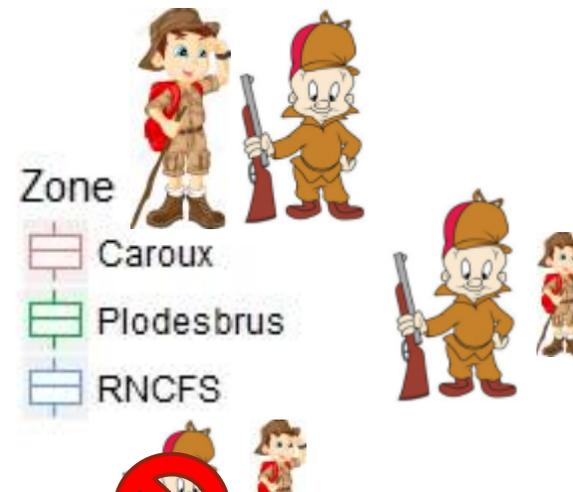


A. Analyses biochimiques



Résultats:

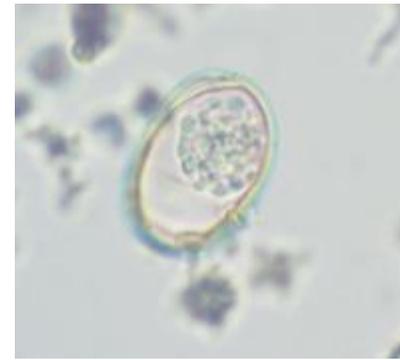
- Caroux & Plo des Brus > RNCFS
- Août & Octobre > Février



Métabolites fécaux du cortisol significativement plus élevés dans :
→ les zones
ET
→ les périodes
où les activités humaines sont présentes

B. Analyses parasitaires

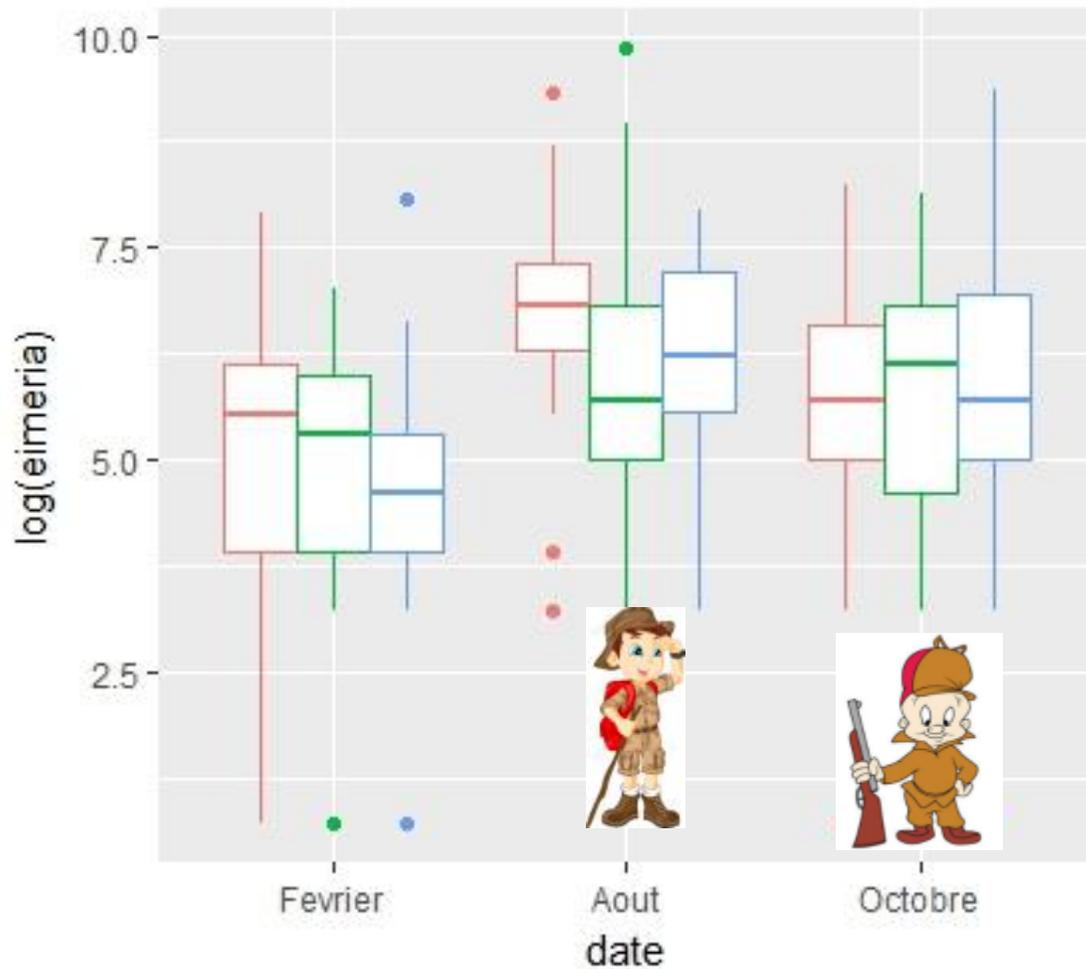
Coproscopie



Espèces	Prévalence (%)	Abondance d'excrétion		
		Médiane	1 ^{er} quartile	3 ^{ème} quartile
Eimeria sp.	97,6	300	150	900
Strongles digestifs	81,5	50	25	100
Trichuris sp.	22,4	0	0	0
Moniezia sp.	2,1	0	0	0
Dicrocoelium lanceolatum	2,7	0	0	0
Giardia sp.	0,6	0	0	0
Larves de protostrongylidés	53,7			25

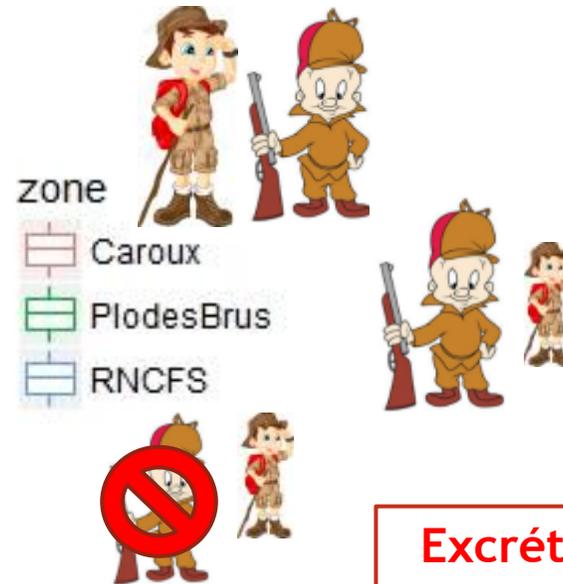


Modèle *Eimeria* sp.



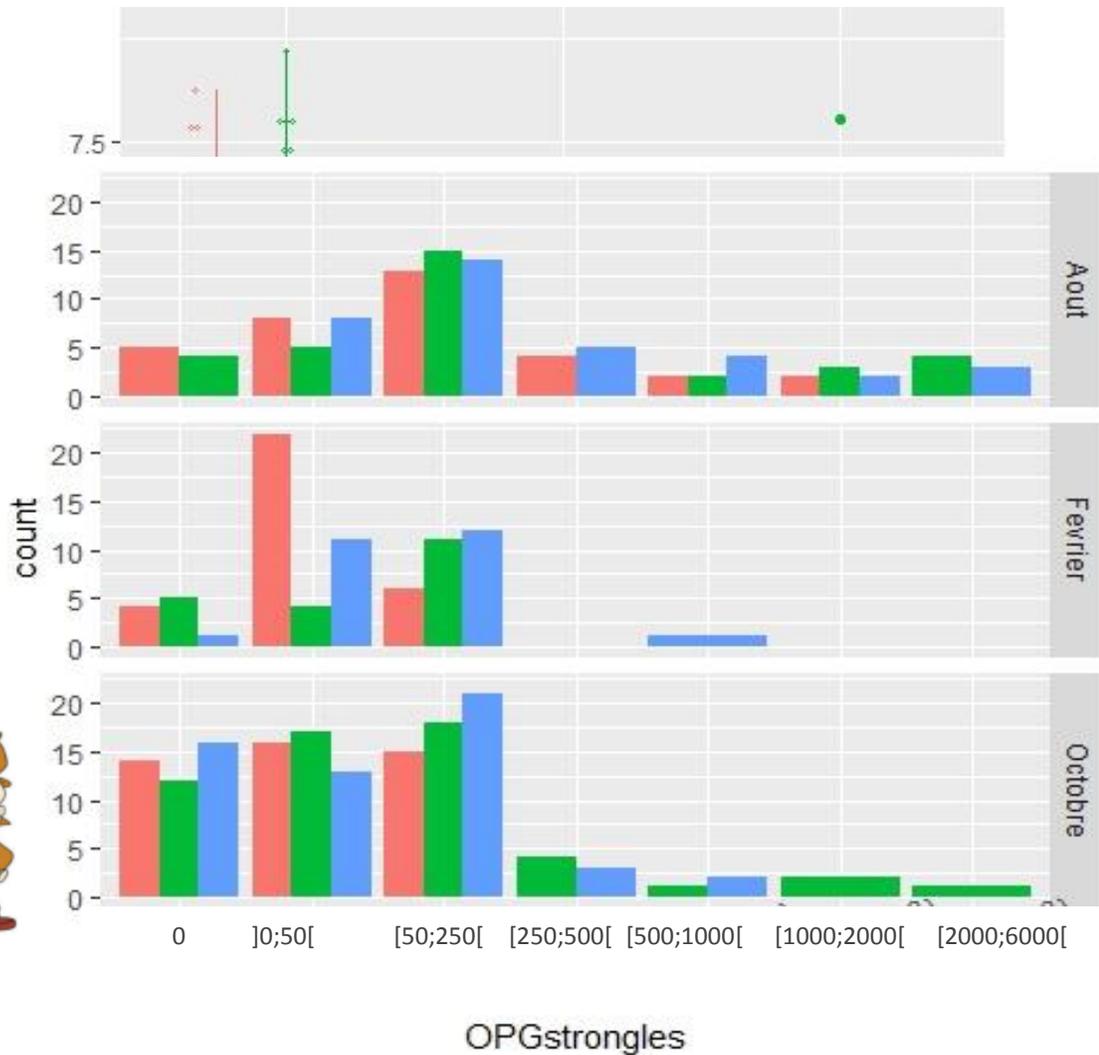
Résultats:

- Août > Février & Octobre
- Pas d'effet de la zone



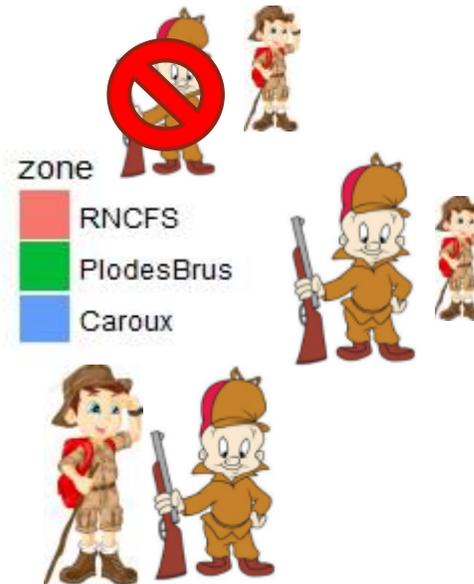
**Excrétion d'ookystes d'*Eimeria* sp.
maximale en août**

Modèle strongles digestifs



Résultats:

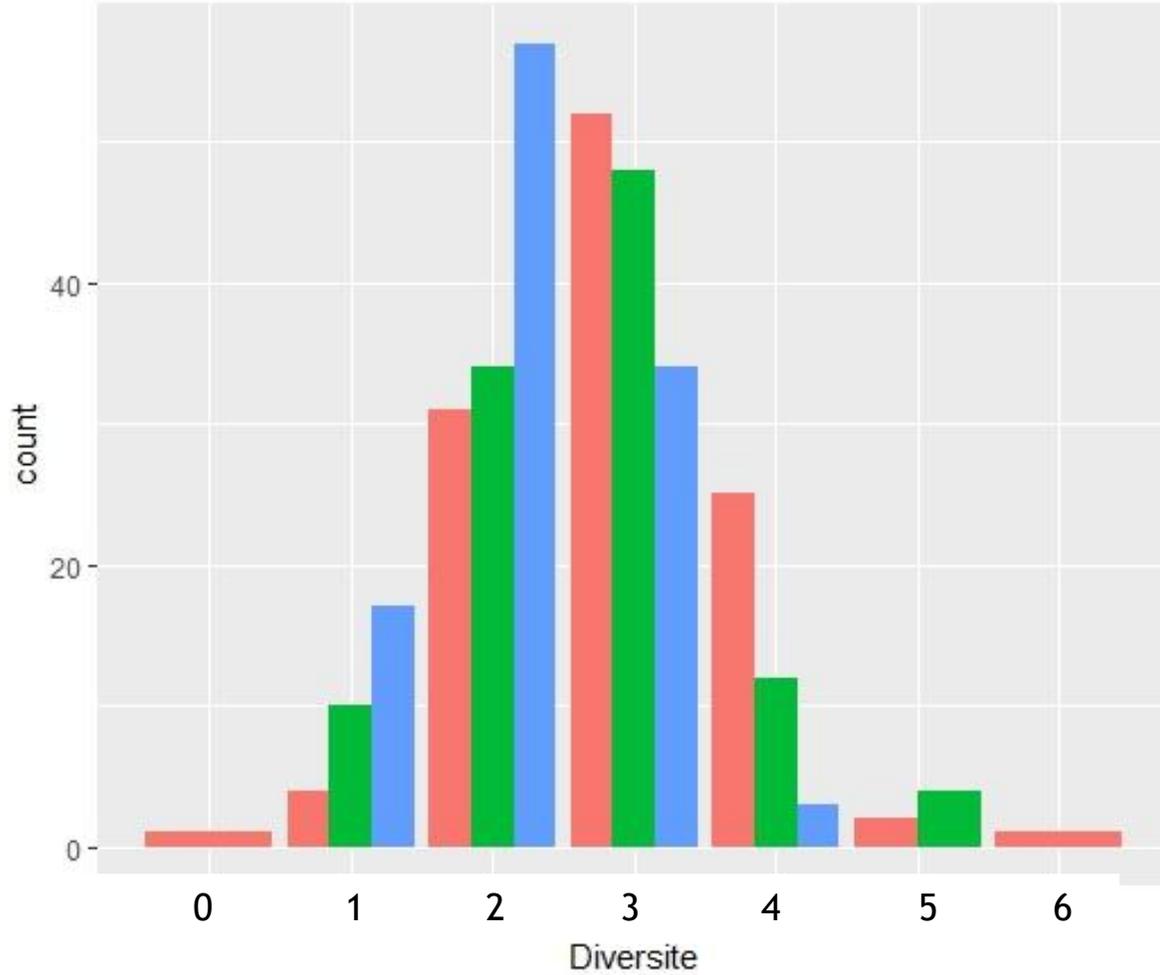
- Août > Février & Octobre
- Caroux & Plo des Brus > RNCFS



Excrétion fécale en œufs de strongles :

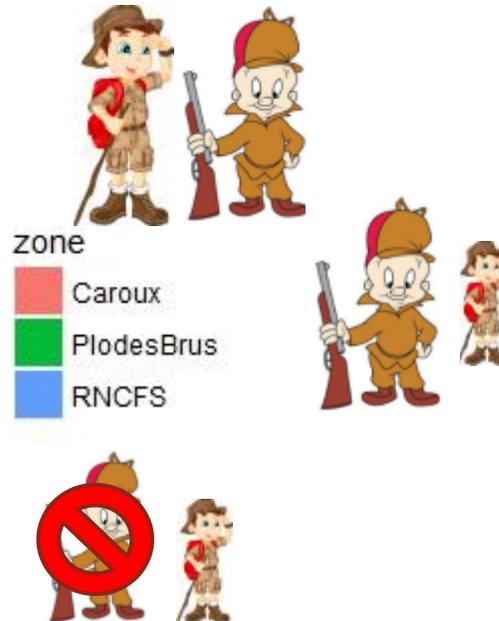
- plus importante en août
- plus importante dans les zones dérangées

Diversité parasitaire



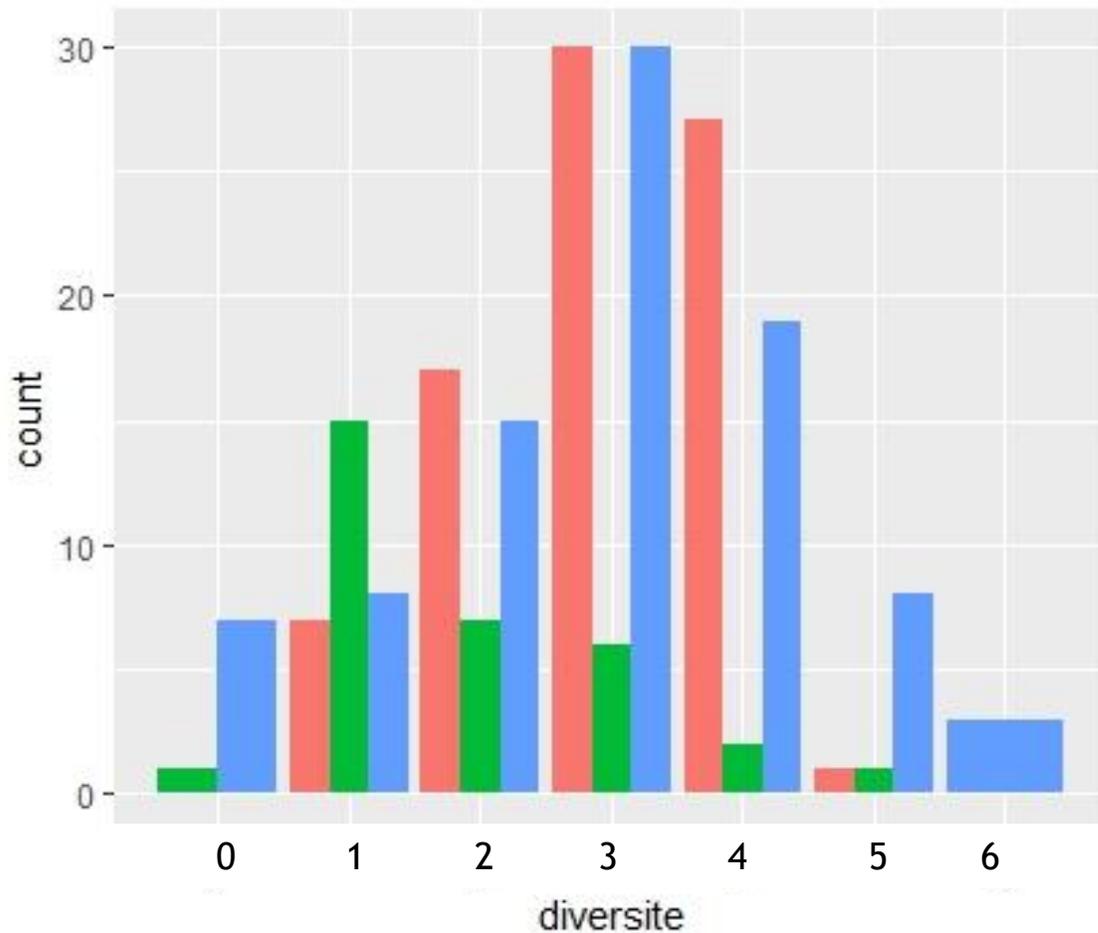
Résultats:

- Caroux & Plo des Brus > RNCFS
- Pas d'effet de la date



**Diversité parasitaire
plus importante dans les zones dérangées**

Diversité larvaire

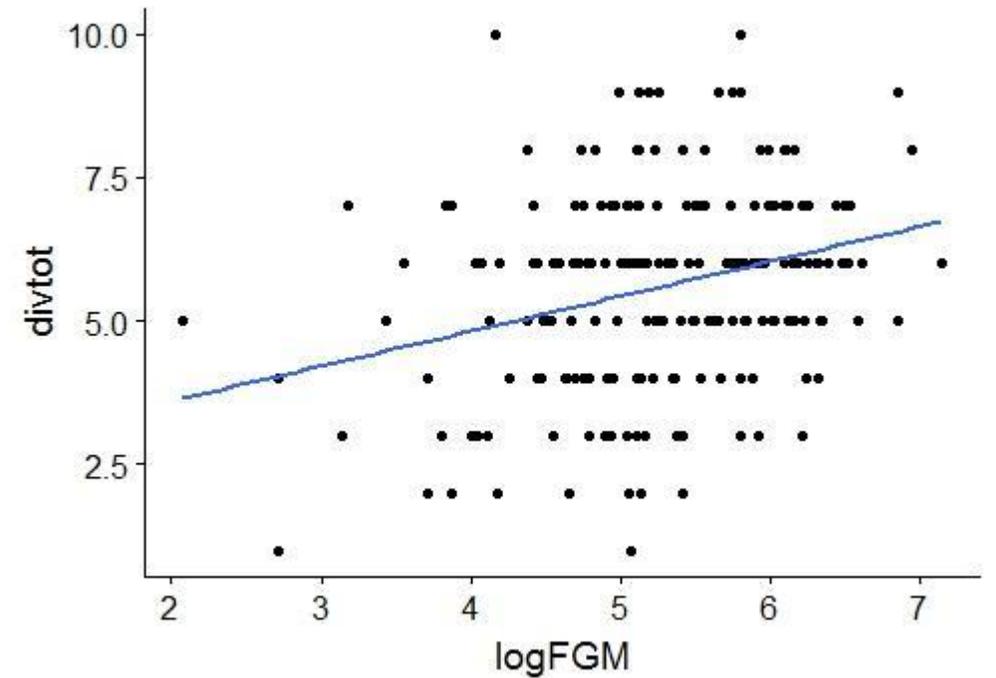
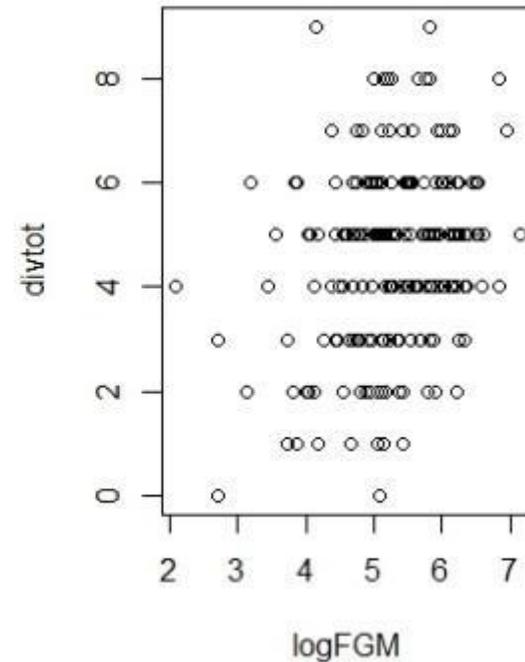
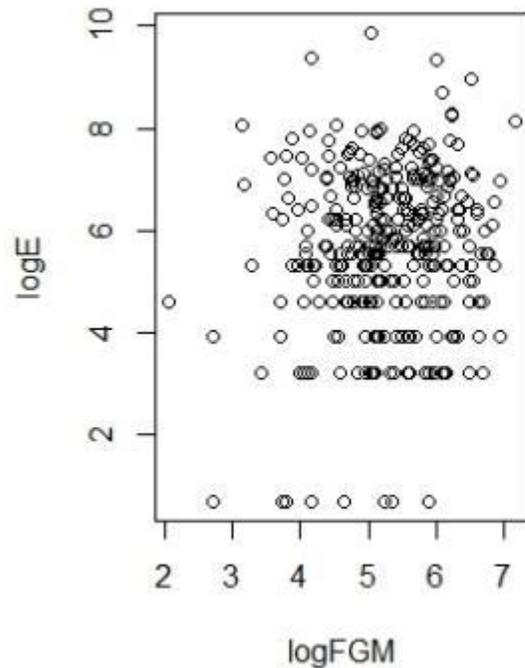


Résultats:

- Août & Octobre > Février
- Pas d'effet de la zone

**Diversité larvaire
plus basse en février**

C. Lien entre le stress et les parasites



Variables	Coefficient de corrélation	p-value
logFGM ~ logE	0.08	0.1467
logFGM ~ divtot	0.27	0.0001285

Corrélation positive faible entre le logarithme des métabolites fécaux du cortisol et la diversité en parasites gastro-intestinaux.

IV. Discussion

Synthèse des résultats

▶ Métabolites fécaux du cortisol

> dans les zones et pendant les périodes d'activités humaines.

← Stress engendré par les activités humaines chez les mouflons

▶ Données parasitaires

- variations saisonnières : excrétion maximale en août, minimale en février
- différences entre les zones : excrétion & diversité parasitaire > dans les zones dérangées.

▶ Faible corrélation entre les concentrations en métabolites fécaux du cortisol et la diversité parasitaire

→ Conséquences sanitaires du stress toujours à démontrer

IV. Discussion

Facteurs de variation des métabolites fécaux du cortisol

► Facteurs environnementaux

- **Rythme circadien** (*Millspaugh & Washburn, 2004*)
- **Variations saisonnières** (*Mormède et al., 2007 ; Romero, 2002*)
 - Augmentation des concentrations en métabolites fécaux des glucocorticoïdes (FGM) en Décembre et Janvier (Température et humidité)
(*Corlatti, Palme, & Lovari, 2014 ; Huber, Palme, & Arnold, 2003*)
- **Changement de diète**
 - Si la prise alimentaire diminue, le temps de transit augmente, les FGM augmentent
(*Sejrsen et al., 2008*)

IV. Discussion

Facteurs de variation des métabolites fécaux du cortisol

► Facteurs individuels

- **Sexe & statut reproducteur** (*Reeder & Kramer, 2005*)

- [cortisol] basale : ♀ > ♂ mais résultats variables dans les études
- Stratégie pendant le rut
- Gestation, lactation

- **Âge**

- Dégénérescence du rétrocontrôle avec l'âge, [cortisol] + élevées avec l'âge (*Reeder & Kramer, 2005*)

- **Génétique**

- **Expérience individuelle**

- Habituation à des stimuli répétés, stress néonatal et réactivité de l'axe corticotrope (*Romero et al, 2015*)

IV. Discussion

Facteurs de variation des métabolites fécaux du cortisol

- ▶ Collecte et traitement des échantillons
 - ▶ Collecte au sol, sans id animaux
 - ▶ conservation
 - ▶ délai émission/prélèvement/analyse

IV. Discussion

Limites des analyses parasitaires

- ▶ Biais mesures parasitisme / Limites coproscopie:
 - ▶ Mesures prévalence et quantitative souvent peu corrélées avec infestation + variation saisonnière
 - ▶ Identification des espèces limitée (strongles, Eimeria)



Photographie ONCFS

Conclusion

- ▶ Stress engendré par les activités humaines, mais les conséquences sanitaires du stress restent à démontrer.
- ▶ Différences dans le niveau et la diversité de parasitisme selon les données utilisées : Moins de parasitisme en février, plus de parasitisme en août et dans les zones dérangées.
- ▶ Protocole expérimental à affiner

Milieu en constante évolution : Retour du loup en 2015

- ▶ ↑ stress pour cette population ?
- ▶ Conséquences pour la santé des mouflons (prédation malades/faibles vs stress) ?



Bibliographie

- ▶ Bubenik, G. A., Schams, D., White, R. G., Rowell, J., Blake, J., & Bartos, L. (1998). Seasonal levels of metabolic hormones and substrates in male and female reindeer (*Rangifer tarandus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, 120(2), 307-315
- ▶ Corlatti, L., Palme, R., & Lovari, S. (2014). Physiological response to etho-ecological stressors in male Alpine chamois: timescale matters! *Naturwissenschaften*, 101(7), 577-586.
- ▶ Huber, S., Palme, R., & Arnold, W. (2003). Effects of season, sex, and sample collection on concentrations of fecal cortisol metabolites in red deer (*Cervus elaphus*). *General and Comparative Endocrinology*, 130(1), 48-54.
- ▶ Marchand, P., Garel, M., Bourgoïn, G., Dubray, D., Maillard, D., & Loison, A. (2014). Impacts of tourism and hunting on a large herbivore's spatio-temporal behavior in and around a French protected area. *Biological Conservation*, 177, 1-11.
- ▶ Millspaugh, J. J., & Washburn, B. E. (2004). Use of fecal glucocorticoid metabolite measures in conservation biology research: considerations for application and interpretation. *General and Comparative Endocrinology*, 138(3), 189-199.
- ▶ Mormède, P., Andanson, S., Aupérin, B., Beerda, B., Guémené, D., Malmkvist, J., van Reenen, C. G. (2007). Exploration of the hypothalamic-pituitary-adrenal function as a tool to evaluate animal welfare. *Physiology & behavior*, 92(3), 317-339.
- ▶ Reeder, D. M., & Kramer, K. M. (2005). Stress in free-ranging mammals: integrating physiology, ecology, and natural history. *Journal of Mammalogy*, 86(2), 225-235.
- ▶ Romero, L. M. (2002). Seasonal changes in plasma glucocorticoid concentrations in free-living vertebrates. *General and Comparative Endocrinology*, 128(1), 1-24.
- ▶ Sejrsen, K., Hvelplund, T., & Nielsen, M. O. (Éd.). (2008). *Ruminant physiology: digestion, metabolism and impact of nutrition on gene expression, immunology and stress (Reprint)*. Wageningen: Academic Publ.

Merci à ...

- ▶ Mmes Benabed et Poirel pour leur aide, leur participation et leur soutien aux analyses parasitaires.
- ▶ Pr. Buronfosse pour sa contribution et son aide au développement des analyses biochimiques.
- ▶ Pr. Palme pour la réalisation des analyses biochimiques.
- ▶ Suzanna Storms pour sa contribution aux analyses et au développement des analyses biochimiques.
- ▶ Aux stagiaires et aux membres de l'ONCFS du Caroux Espinouse pour le travail de collecte et leur accueil.

& Merci de votre attention



Photographie ONCFS