

RAPPORT DE STAGE

Master 2 Gestion Intégrée des Maladies Animales Tropicales

Promotion 2019-2020

**Étude des origines et des causes des apparitions de marques
noires sur les carapaces des tortues caouannes, *Caretta
caretta*, au large de l'île de La Réunion**

De janvier à juin 2020



Présenté et soutenu par Cécile RIVET le 10 juin 2020
Réalisé sous la direction de Monsieur Stéphane CICCIONE, directeur de
Kélonia et Mathieu BARRET, maître de stage
À SPL RMR Kélonia, Île de la Réunion

Remerciements

A Monsieur Stéphane Ciccione, directeur de Kélonia, pour m'avoir donné l'opportunité de réaliser ce stage au sein de sa structure et de m'avoir partagé ses connaissances,

A Monsieur Mathieu Barret, mon maître de stage et responsable du centre de soins, pour sa confiance et ses conseils,

Au docteur vétérinaire Monsieur Francis Schneider et son équipe du cabinet VêtoRun pour le temps consacré à mon sujet et pour le partage de leurs connaissances,

A mes professeurs encadrants, Monsieur Timothée Vergne, Monsieur Stéphane Bertagnoli, Monsieur Éric Lacazette, pour leur aide tout au long de l'étude,

A toute l'équipe du centre de soins de Kélonia, Bernardin, Bertrand, Jérémy, David, Alain, Jean-Marie, Anaïs, Cyril, Gégé ; et aux stagiaires, Lisa, Ophélie, Antoine et ma tite Léa, pour leur gentillesse, leurs conseils, leur bonne humeur quotidienne et leur amitié,

A tous les pêcheurs palangriers que j'ai pu rencontrer, pour leur écoute, leur savoir et leur gentillesse,

A mes amis de métropole et de la Réunion pour leurs encouragements,

A ma famille et à mes proches, pour leur présence et leur soutien.

Table des matières

REMERCIEMENTS	1
TABLE DES MATIERES	2
TABLE DES ILLUSTRATIONS	4
RESUME	6
INTRODUCTION	7
PARTIE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	8
1. KELONIA, L’OBSERVATOIRE DES TORTUES MARINES DE L’ILE DE LA REUNION	8
1.1. Historique et objectifs de la structure.....	8
1.2. Accueil des animaux et causes d’arrivée.....	8
1.3. Prise en charge et protocole d’arrivée	10
2. MODELE D’ETUDE : LA TORTUE CAOUANNE, CARETTA CARETTA	11
2.1. Présentation et cycle de vie de la tortue caouanne	11
2.2. Estimation de l’âge de maturité chez la caouanne.....	12
2.3. Différenciation sexuelle	13
2.4. Rôle des tortues dans les écosystèmes marins.....	14
3. LA TORTUE CAOUANNE DANS L’OCEAN INDIEN	14
3.1. Les tortues marines, des espèces migratrices	14
3.2. Ecologie spatiale de la caouanne.....	15
3.2.1. Répartition géographique	15
3.2.2. Télémétrie satellitaire	16
4. CONTEXTE DE L’ETUDE	17
4.1. Enjeux de l’étude.....	17
4.2. Structure du tégument des tortues marines.....	17
4.3. Affections de la carapace.....	18
4.4. Cas de l’étude : présentation des marques noires	18
PARTIE II : MATERIELS ET METHODES	20
1. LIEU D’ETUDE ET ECHANTILLONNAGE	20
2. PROTOCOLE D’ECHANTILLONNAGE	20
HYPOTHESE 1 : CAUSES INFECTIEUSES : PROTOCOLES BACTERIOLOGIQUES, MYCOLOGIQUES ET HISTOLOGIQUES	21
2.1. Protocoles bactériologiques et mycologiques.....	21
2.2. Protocole histologique.....	21
3. CONFORMITE ETHIQUE DU PROJET	22
4. CAMPAGNES D’INFORMATIONS AVEC LES PECHEURS PALANGRIERS	23
HYPOTHESE 2 : CAUSES NON INFECTIEUSES	23
5. Relation entre les zones de pêche accidentelle et l’apparition des marques noires.....	23
6. Relation entre la taille de la carapace des tortues caouannes du SOOI et l’affection	24
IMPACT DE LA CRISE SANITAIRE DU COVID-19	24

PARTIE III : RESULTATS DE L'ETUDE	25
HYPOTHESE 1.....	25
1. CAUSES INFECTIEUSES : ANALYSES BACTERIOLOGIQUES, MYCOLOGIQUES ET HISTOLOGIQUES	25
1.1. Bilans bactériologiques et mycologiques du centre de soins.....	25
1.2. Résultats d'analyses bactériologiques et mycologiques des échantillons	26
1.3. Résultats d'analyses histologiques des échantillons.....	27
2. SUIVI DE L'EVOLUTION DES SURFACES NOIRCIES	28
HYPOTHESE 2.....	29
3. CAUSES NON INFECTIEUSES	29
3.1. Corrélation des zones de capture de pêche accidentelle avec l'apparition des marques noires	29
3.2. Relation entre la taille des tortues et l'apparition des marques noires	30
 PARTIE IV : DISCUSSION	 32
CONCLUSION	36
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	38
WEBOGRAPHIE	42
TABLE DES ANNEXES.....	43

Table des illustrations

FIGURE 1: NOMBRE ANNUEL DE TORTUES MARINES, TOUTES ESPECES CONFONDUES, ARRIVEES AU CENTRE DE SOIN DE KELONIA ENTRE 2006 ET 2020 – (DONNEES DU CENTRE DE SOIN)	9
FIGURE 2: CYCLE DE VIE SYNTHETISE DE LA TORTUE CAOUANNE CARETTA CARETTA (INSPIRE ET MODIFIE DE MUSICK ET LIMPUS (1997) ; DALLEAU ET AL (2016)).....	12
FIGURE 3 : REPARTITION DES ZONES DE PONTES DE LA TORTUE CAOUANNE (Cc) DANS L’OCEAN INDIEN. (DALLEAU ET AL., 2016 ; SWOT REPORT, 2020)	15
FIGURE 4: SUIVI SATELLITAIRE DE 9 CAOUANNES IMMATURES EQUIPEES DE BALISES ARGOS ET RELACHEES DEPUIS LA REUNION (OCTOBRE 2019 A AVRIL 2019). CHAQUE COULEUR CORRESPOND AU TRAJET D’UNE TORTUE. (©CEDTM)	16
FIGURE 5: TRAJET DE 22 CAOUANNES BALISEES ET RELACHEES DEPUIS L’ÎLE DE LA REUNION. LES CERCLES NOIRS REPRESENTENT LA DERNIERE LOCALISATION EN DATE DE SUIVI SATELLITAIRE. (FEVRIER 2014 A MARS 2015). (©PROJET COCALOCA-R9).....	16
FIGURE 6: EXEMPLE DE CARAPACE SAIN (NON TOUCHEE PAR LES PLAQUES NOIRES) D’UNE CAOUANNE (©CECILE RIVET).....	19
FIGURE 7: EXEMPLE DE CARAPACE DE CAOUANNE AFFECTEE PAR LES MARQUES NOIRES (DONNEE DU CENTRE DE SOINS)	19
FIGURE 8: ZONES D’AVANCEMENT THEORIQUES DE L’AFFECTION (Z1: ZONE 1, Z2: ZONE 2, Z3: ZONE 3) (©CECILE RIVET).....	19
FIGURE 9: PHOTOS D’ECAILLES PRELEVEES PAR BIOPSIE AU PUNCH. ZOOM GAUCHE : PRELEVEMENT SUR ECAILLE AFFECTEE AVEC (1) COUPE TRANSVERSALE ET (2) COUPE FRONTALE (DIAM ENV. 7MM) DE L’ECHANTILLON TOUCHE. ZOOM DROIT : PRELEVEMENT SUR ECAILLE SAIN AVEC (3) COUPE FRONTALE (DIAM ENV. 7MM) ET (4) COUPE TRANSVERSALE DE L’ECHANTILLON SAIN. (©CECILE RIVET)	22
FIGURE 10: REPRESENTATION DES COURANTS MARINS DE L’OCEAN INDIEN ORIENTANT LES TRAJETS DE MIGRATION DES CAOUANNES (Cc) ADULTES, ET LA DISPERSION DES CAOUANNES JUVENILES. (SWOT REPORT, 2020)	23
FIGURE 11: EVOLUTION DE LA PREVALENCE (EN %) DES GERMES ISOLES ET RETROUVES DANS LES BASSINS DU CENTRE DE SOINS DE KELONIA DE 2016 A 2019. (©VETORUN).....	25
FIGURE 12: REPARTITION DES DIFFERENTS AGENTS FONGIQUES IDENTIFIES DANS LES BASSINS DU CENTRE DE SOINS DE KELONIA EN 2019 (©VETORUN).....	25
FIGURE 13: SUIVI DE L’EVOLUTION DU NOIRCISSEMENT DE LA CARAPACE DE LA TORTUE CAOUANNE MONA SEMAINE PAR SEMAINE. PERIODE DE FIN FEVRIER A DEBUT MAI. (©CECILE RIVET & MATHIEU BARRET) 28	
FIGURE 14: REPARTITION SPATIALE DES LIEUX DE CAPTURES DE TORTUES CAOUANNES ATTEINTES (ROUGE) ET SAINES (BLEU) DANS LA ZONE SOOI. LOGICIEL R STUDIO. (©CECILE RIVET)	29
FIGURE 15: REPARTITION SPATIALE DES LIEUX DE CAPTURES DE TORTUES CAOUANNES ATTEINTES (ROUGE) ET SAINES (VERT) DANS LA ZONE SOOI. LOGICIEL QGIS. (©CECILE RIVET).....	29
FIGURE 16: ZOOM FIGURE 15 : DELIMITATION FICTIVE SPATIALE EN DEUX ZONES DES LIEUX DE CAPTURES DE TORTUES CAOUANNES ATTEINTES (ROUGE) ET SAINES (VERT) AU LARGE DE LA REUNION. (©CECILE RIVET)	30
FIGURE 17: SCATTER-PLOT REPRESENTANT LA RELATION LINEAIRE ENTRE LA TAILLE DES TORTUES ET LE POURCENTAGE DE SURFACE NOIRCIE DES CARAPACES DE TORTUES CAOUANNES. SOUS R STUDIO. (©CECILE RIVET).....	30
TABEAU 1: LISTE DES PRINCIPAUX GERMES RELEVES SUR LA CARAPACE DE TORTUES CAOUANNES ET OLIVATRES PAR ECOUVILLONNAGE SUR ECAILLES SAINES ET AFFECTEES. (©CECILE RIVET) -----	26

Résumé

Dans le sud-ouest de l’océan Indien, une hyperpigmentation de la carapace des tortues caouannes, *Caretta caretta*, est à l’origine de mon étude. Les tortues marines, espèces emblématiques des écosystèmes marins, sont de plus en plus menacées par les effets directs, -pêche, braconnage-, et indirects, -pollution, changement climatique-, des activités humaines. Outre ces nombreuses menaces pouvant engendrer leur extinction, la pathologie représente actuellement une des premières causes de mortalité des tortues. Depuis 2006, des marques noires envahissant la carapace de la majeure partie des tortues caouannes sont observées au centre de soins de Kélonia à La Réunion. Jusqu’à présent, mis à part les déformations de la couche kératinisée de l’écaille, les ulcères et les écailles surnuméraires, observées sur certains cas de tortues, aucun autre signe pathologique relatif à l’état de la carapace des tortues caouannes n’a été décrit dans la littérature. Ainsi, l’évaluation de facteurs de risques potentiels pouvant jouer un rôle dans la formation de ces noircissements d’écailles fait l’objet de cette étude. Pour répondre au mieux à cette problématique, deux hypothèses, -l’une cause infectieuse et l’autre cause non-infectieuse-, ont été mises en place. Par différentes analyses, nous n’avons pas relevé d’agents pathologiques infectieux suffisamment récurrents et pertinents pour pouvoir supposer leur rôle dans ce noircissement des carapaces. Il semblerait donc que l’environnement, dégradé par l’intervention humaine, notamment par les déversements épisodiques d’hydrocarbures dans les océans, -jusqu’à présent non testés-, représente le facteur de risque principal du noircissement des écailles des carapaces des tortues caouannes étudiées pour ce projet. D’autres aspects doivent cependant être recherchés afin de poursuivre cette étude et fournir une analyse plus approfondie de ce phénomène pour à terme, contribuer à la conservation de cette espèce dans le monde.

Mots clés : tortues caouanne *Caretta caretta*, carapace, marques noires, pathologie, facteurs de risques, activités humaines, environnement.

Abstract

In the south-west area of the Indian Ocean, a hyperpigmentation of some shells of loggerhead sea turtles *Caretta caretta* stands at the basis of my study. Emblematic species of marine ecosystems, sea turtles are more and more threatened by direct effects like fishing and poaching, or indirect ones like pollution or climate change, provoked by humans. In parallel to all these dangers, illnesses currently represent one of the mayor causes of sea turtles mortality. Since 2006, black patches spreading on the shell of the majority of the loggerhead sea turtles have been observed at the Kélonia sanctuary on Reunion Island. Up to now, apart from deformations of the keratinized scute layer, ulcers or extra scutes observed on a certain number of turtles, there was no other pathological sign linked to the turtles’ shell aspect described in scientific literature. That is why the appraisal of potential risk factors that could play a role in the formation of this blackness on scutes is at the centre of this study. To answer in a best possible way to that issue, two hypotheses have been launched: one of infectious grounds and the other of non-infectious ones. We have not collected infectious pathological agents that were sufficiently regular and relevant to be able to underline their part in the blackness of shells. So, it could be possible that the environment damaged by humans, especially with the spreading of hydrocarbons which has not been tested until now, is the main risk factor of the blackness of the loggerhead sea turtle shell under study. Therefore, other issues will have to be conducted to develop this study and produce a deeper analysis of this phenomenon in order to finally contribute to the preservation of this species throughout the world.

Keywords: loggerhead sea turtles *Caretta caretta*, shell, black patches, pathology, risk factors, human damage, environment.

Introduction

Les tortues marines, sont des espèces migratrices mondialement réparties qui ornent nos océans et appartiennent à une lignée d'évolution datant de 110 à 150 millions d'années (Bowen et al., 1993). Ce sont des vertébrés ectothermes ayant un corps recouvert d'écailles et possédant une carapace formée d'un plastron ventral et d'une dossière. On peut compter actuellement sept espèces de tortues marines réparties en deux sous-groupes : le premier, la famille des Dermochelyidae, représentée par une seule espèce, la tortue luth, *Dermochelys coriacea* (Dc) (Vandelli, 1761), caractérisée par l'absence de carapace osseuse et rigide remplacée par une peau épaisse, constituée de tissus conjonctifs gras et de cartilage, tendue sur un ensemble de carènes osseuses (Hirayama, 1997) ; le deuxième, la famille des Cheloniidae qui comprend les six autres espèces de mer possédant une carapace dure formée de plaques kératinisées, ou écailles, et d'os agrégés (Wyneken, 2003) : la tortue caouanne *Caretta caretta* (Cc), la tortue verte *Chelonia mydas* (Cm), la tortue imbriquée *Eretmochelys imbricata* (Ei), la tortue de Kemp *Lepidochelys kempii* (Lk), la tortue olivâtre *Lepidochelys olivacea* (Lo) et la tortue à dos plat *Natator depressa* (Nd).

La quasi-totalité du cycle de vie des tortues marines se déroule en mer (Bolten, 2003). Seuls la ponte et le développement embryonnaire ont lieu en milieu terrestre sur des plages sablonneuses sur lesquelles les femelles reproductrices creusent des nids et y déposent leurs œufs. Après une période d'incubation d'environ 2 mois (Phelan et Eckert, 2006), les nouveaux nés émergent du sable, rejoignent l'océan et une nage frénétique se met en place afin de favoriser leur dispersion vers le large avec l'aide des courants océaniques. Chez la tortue caouanne, le cycle de développement se déroule principalement dans la zone océanique dans l'océan Atlantique (Bolten, 2003) et Pacifique (Bowen et al., 1995; Boyle et al., 2009) mais il demeure inconnu cependant pour le moment dans l'océan Indien.

Ces animaux marins sont exposés à une diversité de dangers auxquels ils doivent faire face. En effet, depuis de nombreuses années, les tortues marines sont confrontées au changement global, c'est-à-dire aux effets directs (pêches, dégradation des habitats, braconnage, déchets plastiques) et effets indirects (changement climatique) de l'activité de l'homme. Au-delà de ces nombreuses menaces pouvant fortement engendrer leur extinction, la pathologie représente actuellement une des premières causes d'échouage des tortues (Flint et al., 2010).

Depuis 2006, des marques noires sont observées sur la carapace de la majorité des tortues caouannes arrivant au centre de soins de Kélonia, qui est l'observatoire de tortues marines de l'île de la Réunion. Pour le moment, mise à part la dégradation imposante de l'écaille des tortues, aucun autre signe clinique n'a été associé à cette affection. Hormis l'apparition d'anomalies du nombre d'écailles, de déformations de la structure de la couche kératinisée chez certains cas de tortues (Cherepanov, 2013 ; Zimm et al., 2017) et d'ulcères envahissant la couche de kératine de la carapace (Orós, 2005), aucun autre cas pathologique relatif à l'état de la carapace des tortues marines, notamment celle de la caouanne, n'a été décrit dans la littérature.

Le but de mon stage a ainsi été de déterminer l'origine de l'apparition de cette substance noire qui envahit la carapace des tortues caouannes en dégageant les facteurs de risques potentiels de cette apparition. Des approches épidémiologiques descriptives et étiologiques ainsi que des analyses par tests statistiques ont été réalisées pour répondre au mieux à cette problématique et mener à bien ce projet.

Partie I : Synthèse bibliographique

1. Kélonia, l'observatoire des tortues marines de l'île de la Réunion

1.1. Historique et objectifs de la structure

Kélonia est un centre d'observation et de conservation des tortues marines situé sur la côte ouest de l'île de la Réunion, localisée dans le sud-ouest de l'océan Indien (21°9'9435"S 55°16'47399"E). Avant d'être un musée dédié aux tortues, l'emplacement où est aujourd'hui construit Kélonia était d'abord une chaufournerie dans les années 1940, consacrée à l'industrialisation de la chaux et à l'extraction du corail. Puis suite à l'interdiction d'extraction de corail, s'installa quelques temps plus tard, en 1977, une exploitation qui détenait un élevage de tortues destiné à la production de chair, à la consommation de viande de tortue et à la commercialisation des écailles et des carapaces. Tout ceci pris fin en 2003 lorsque les tortues furent officiellement considérées comme une espèce en voie de disparition et dès lors devenues protégées ; le centre de Kélonia fut ainsi inauguré en août 2006.

Cette structure est divisée en deux secteurs, la partie muséographique destinée aux visiteurs, et le centre de soin comprenant le pôle scientifique. Les principales missions du centre sont notamment de faire découvrir la biologie et l'écologie des tortues marines, sensibiliser le grand public à la conservation du patrimoine naturel et culturel associé aux tortues de mer, dénoncer l'impact des activités humaines sur la biodiversité marine, d'apporter les soins nécessaires aux tortues en détresse, qu'elles soient blessées ou malades, en vue de les relâcher à terme dans leur milieu naturel. Toutes ces actions et programmes sont ainsi mis en œuvre afin de promouvoir le développement durable de ces espèces.

Le pôle scientifique de Kélonia participe avec l'aide de scientifiques internationaux à des programmes d'étude, de recherche et de conservation des tortues marines à La Réunion et dans l'océan Indien. Parmi ces collaborateurs, on peut notamment s'appuyer sur le Centre d'Etude et de Découverte des Tortues Marines (CEDTM) ; ils constituent à eux deux un pôle majeur de recherche biologique étudiant entre autres, la répartition des sites de pontes dans l'océan Indien, le suivi de populations, les aires d'alimentation et habitats des tortues et de nouvelles techniques d'identification (Carpentier et al., 2016). D'autres, tels que l'IFREMER (L'Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer), la Réserve Marine de la Réunion, le Conservatoire Botanique National de Mascarin, les Centres Nationaux de la Recherche Scientifique (CNRS) de Montpellier et Strasbourg, font également partie des partenaires contribuant à l'élaboration des plans d'actions relatifs à la conservation des populations de tortues marines.

1.2. Accueil des animaux et causes d'arrivée

Aujourd'hui, Kélonia accueille quatre des cinq espèces de tortues marines retrouvées dans l'ouest de l'océan Indien. On compte parmi elles la tortue verte (*Cm*), la tortue caouanne (*Cc*), la tortue imbriquée (*Ei*) et la tortue olivâtre (*Lo*). En raison des difficultés de transports et de prise en charge concernant la taille et le poids de la tortue luth (*Dc*) (Chen et al., 2015), celle-ci n'a pu être rapportée sur le centre de soins. De plus, ce reptile se nourrit principalement de méduses et est capable de plonger à plus de 1000 mètres de profondeur grâce à sa régulation thermique rapide (Lescure, 2001), ce qui rend sa capture accidentelle d'autant plus rare.

Depuis les années 90, l'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (FAO) a estimé que 25% des stocks de poissons ont connu ou connaissent encore une surexploitation par les pêcheries. En 2016, 88% de la production totale de poissons, soit 151 sur 171 millions de tonnes,

était destinée à la consommation humaine directe (FAO). L'augmentation des activités de pêche provoquent ainsi une dégradation des communautés d'animaux benthiques et de leur habitat.

En effet, les prises accidentelles, ou by-catch, sont tout d'abord appelées ainsi du fait que de nombreuses espèces, qu'elles soient pélagiques ou benthiques, s'accrochent au même engin bien qu'elles ne soient pas des cibles commerciales pour les pêcheurs (Sheryan, 2003 ; Lewison et al., 2004). Les engins de pêche peuvent être soit traditionnels soit industriels : le chalut, un filet massif pouvant être placé en zone benthique ou à la surface de l'eau, ou la palangre qui est représentée par des dizaines de lignes de pêche munies d'un hameçon, déroulées à partir du bateau puis trainées sur des centaines de mètres. Les espèces concernées par la pêche accidentelle et faisant l'objet d'études, sont principalement les cétacés, les oiseaux, certains élasmodontes et les tortues marines.

Les causes d'arrivées de tortues sont nombreuses de par le monde (Flint et al., 2010), notamment à Kélonia : les filets fantômes (filets oubliés, perdus ou abandonnés à la dérive), les collisions avec les bateaux, l'échouage sur les plages notamment dû à la pollution (mazout, plastique), les maladies (infections, atteinte des poumons). Toutefois, les captures accidentelles sont reconnues comme étant un des facteurs majoritaires responsables des problèmes de pêcheries actuels au niveau mondial (Lewison et al., 2004) ; c'est également le cas pour les tortues rapportées au centre de Kélonia.

A titre d'exemple, de janvier 2006 à janvier 2020, sur un total de 368 tortues rapportées au centre de soins de Kélonia, toutes espèces confondues, on retrouve (Figure 1) :

- 235 caouannes (*Cc*) dont 215 ont été pêchées accidentellement
- 36 imbriquées (*Ei*) dont 13 ont été victimes de pêches accidentelles
- 32 olivâtres (*Lo*) dont 30 sont issues de la prise accidentelle
- 65 tortues vertes (*Cm*) dont 8 ont été pêchées accidentellement

Cependant, il est important de noter que les chiffres listés précédemment ne prennent pas en compte les tortues nées à Kélonia, ou récupérées lors de l'étude des nids. En effet, ces dernières sont assez nombreuses car depuis l'année 2007 environ, deux tortues vertes (*Cm*) reviennent pondre tous les trois ans à l'île de la Réunion (Osiris, 2019). Lorsque des tortues pondent sur l'île, les nids sont soit mis sous surveillance durant toute la durée d'incubation des œufs, soit déplacés sur la plage artificielle du centre de Kélonia si la zone de ponte est considérée comme défavorable du fait de la pression anthropique locale (touristes, animaux domestiques...) ou des conditions naturelles (inondations, marées, cyclones...).

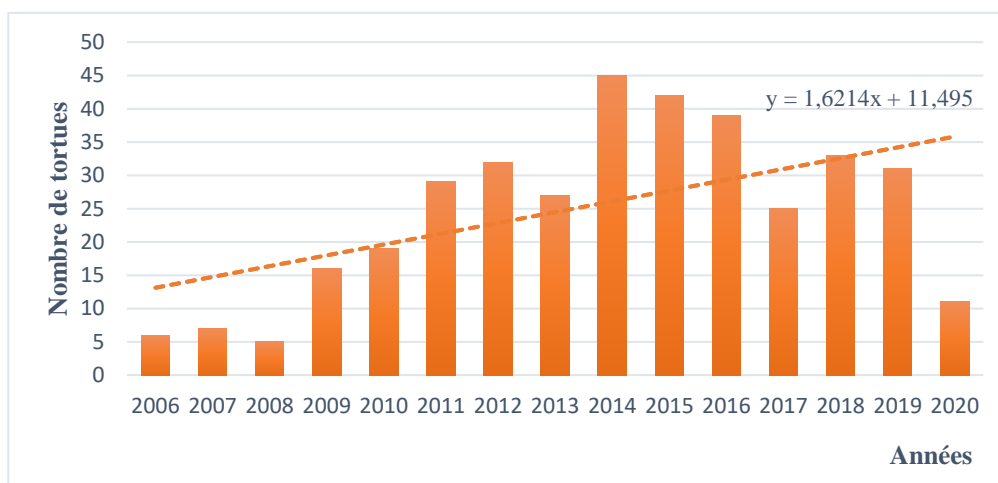


Figure 1: Nombre annuel de tortues marines, toutes espèces confondues, arrivées au centre de soins de Kélonia entre 2006 et 2020 – (données du centre de soins)

De plus, il est également nécessaire de préciser que le nombre de tortues recensées pour cette année 2020 n'est pas total étant donné que l'année n'est pas encore terminée, il faudra donc compter un nombre plus élevé d'ici quelques mois.

Ainsi, durant la période entre 2006 et 2020, environ 72% des tortues ont été ramenées au centre car elles ont été pêchées accidentellement. Comme le montre la courbe de régression linéaire croissante, on peut observer que le nombre d'arrivées de tortues au centre de soin augmente globalement chaque année. En effet, depuis 2013, Kélonia et le CEDTM entrent en contact 1 à 2 fois par an avec les pêcheurs palangriers de la Réunion, volontaires de ramener les tortues à quai, afin d'échanger informations et techniques quant à la prise en charge des tortues suite à une capture accidentelle. Les campagnes d'information avec les pêcheurs ont notamment représenté un pan de la partie terrain de mon stage.

Ces opérations consistaient à sensibiliser un maximum de pêcheurs à ramener à quai les tortues pêchées accidentellement et de ne pas les remettre à l'eau avec l'hameçon dans l'œsophage. L'organisation d'une matinée-rencontre avec les pêcheurs m'a permis de leur exposer mon projet de stage en leur montrant quelques photos de cas de tortues atteintes par cette affection : des marques noires sur la carapace. L'augmentation d'arrivées de tortues chaque année peut alors s'expliquer par le fait que les marins pêcheurs ont mesuré l'importance de ramener au centre de soins de Kélonia les tortues pêchées accidentellement, par la multiplication des échanges ainsi qu'à leur association dans les programmes de recherches (COCALOCA-R9, 2016). De plus, l'intensification des techniques de pêches et la surexploitation des pêcheries (Lewison et al., 2004) peuvent être des facteurs à prendre en compte dans la prise récurrente non intentionnelle de tortues marines.

1.3. Prise en charge et protocole d'arrivée

Lorsqu'un pêcheur attrape accidentellement une tortue, il avertit dans les plus brefs délais les responsables du centre de soins afin de prévoir à la date de fin de la campagne de pêche, qu'un soigneur vienne récupérer l'animal. Les coordonnées GPS de pêche ainsi que la date de capture de la tortue sont demandées au capitaine du bateau lors de la récupération de la tortue.

A leur arrivée au centre de soins, les tortues marines sont pesées, mesurées (prise de la longueur droite (LD) et de la longueur courbe (LC) de la carapace), éventuellement baguées et opérées afin de leur extraire l'hameçon avant d'être mises en quarantaine dans un bac au centre. La mesure de la LC est réalisée avec un mètre ruban et avec un pied à coulisse pour la LD. Ces longueurs s'étendent le long des écailles vertébrales à partir de l'écaille prénucale, de la base du cou à la jonction entre la peau et l'écaille, jusqu'à la jonction des deux dernières écailles marginales postérieures, ou supracaudales.

D'une part, ces mesures servent à déterminer approximativement le stade de maturité de l'animal, et d'autre part à suivre sa croissance durant son séjour à Kélonia. Par la suite, des photographies des deux profils, indispensables à la photo-identification de la tortue (cf. partie 3.2.1), de la carapace et des écailles préfrontales sont effectuées. Des prélèvements de selles sont réalisés pour faire une coprologie, puis des prélèvements de peau de nageoires postérieures pour les analyses génétiques et isotopiques. Des prises de sang sont également réalisées pour détecter d'éventuelles déshydratations, anémies ou malnutritions (dosage vitamine B12 et folates). Un protocole médicamenteux (antibiotiques, antiparasitaires, bains d'eau douce) est alors mis en place (cf. annexe 1).

Enfin, des soins journaliers ou hebdomadaires sont nécessaires pour permettre une bonne convalescence des animaux. Lorsqu'elles ont retrouvé un bon état général, notamment un bon appétit, et qu'elles ne nécessitent plus de soins quotidiens, elles sont transférées vers un bassin de convalescence, ayant été au préalable vermifugées. Pour finir, si les éventuelles lésions sont bien cicatrisées, les paramètres hématologiques et coprologiques sont corrects et les examens vétérinaires favorables,

l'animal peut être relâché dans son milieu naturel. Cependant, si les tortues présentent des troubles irréversibles compromettant leur chance de survie dans la nature tels qu'une paralysie, une malformation, un défaut de vue ou une amputation d'un membre, elles ne pourront malheureusement pas regagner l'océan.

Le protocole et la prise en charge d'arrivée des caouannes possédant une carapace affectée par des taches noires est similaire à celui décrit précédemment. Dans le cadre du projet de stage, il a été convenu avec le vétérinaire qui effectue le suivi des tortues terrestres et marines de Kélonia, qu'en parallèle du protocole d'arrivée habituel, serait ajouté un protocole d'échantillonnage consistant à faire des écouvillons dans un premier temps, sur une partie saine d'écailles de la carapace et sur une partie d'écailles affectées par les taches noires. Ces écouvillons seront ensuite envoyés au laboratoire du cabinet vétérinaire VétoRun de Saint-Pierre pour pouvoir faire des analyses bactériologiques et mycologiques. Afin de réaliser des analyses histologiques, des coupes d'écailles ont également été prélevées par la technique de biopsie au punch et envoyées au laboratoire GIP LABOCEA en métropole. Cette partie méthodologie sera présentée et expliquée en partie II.

2. Modèle d'étude : la tortue caouanne, *Caretta caretta*

2.1. Présentation et cycle de vie de la tortue caouanne

La tortue caouanne a été décrite pour la première fois par Linnaeus en 1758 sous le nom de *Testudo caretta*. C'est l'une des six espèces de tortues de mer à carapace dure qui forme la famille des Chéloniides (ordre des Testudines) et la deuxième tortue la plus répandue dans le monde après la tortue Verte (*Cm*). Ce reptile doit son nom commun anglais « Loggerhead sea turtle » à sa tête et son bec qui sont relativement plus grands que chez les autres tortues de mer. Son cou est trapu et comme toutes les espèces de tortues marines, sa tête n'a pas la capacité de se rétracter (COSEPAC, 2010). La caouanne est une espèce majoritairement carnivore tout au long de son cycle biologique ; elle se nourrit essentiellement de mollusques, notamment de céphalopodes, et de crustacés, mais aussi d'éponges, de poissons et d'algues (Lescure, 2001).

Le corps des tortues caouannes est enfermé dans une carapace à deux ouvertures, une antérieure et une postérieure, l'une laissant passer la tête et les pattes avant, l'autre la queue et les pattes arrières. La carapace est formée de deux parties : la partie dorsale, cordiforme et de couleur brune orangée, est plus longue que large et est formée de plaques osseuses (ostéodermes), -ou dossière-, recouvertes d'écailles fortement kératinisées, minces et contigües. Ces plaques osseuses sont soudées et forment une boîte rigide qui s'appuie sur la colonne vertébrale. Des ponts osseux permettent de rattacher la dossière à la partie ventrale de la structure de la carapace de la tortue appelée le plastron. La disposition et le nombre d'écailles caractérisent une espèce de tortues ; la caouanne possède 5 plaques vertébrales et 5 paires de plaques costales entourées d'environ 25 plaques marginales bordant la périphérie de la carapace. A l'âge adulte, sa carapace peut mesurer entre 90 et 100 cm et l'animal peut peser entre 60 et 160 kg (Lescure, 2001).

La tortue caouanne est une espèce marine à croissance lente et possédant une longévité élevée (Bolten, 2003). Son schéma de vie est assez complexe et englobe une partie terrestre extrêmement limitée où seuls la ponte et le développement embryonnaire s'y produisent, et une partie marine où la caouanne juvénile commence par s'orienter vers les aires d'alimentation des zones côtières ou néritiques (moins de 200m de profondeur), ainsi qu'en haute mer ou zone océanique (plus de 200m de profondeur) (Figure 2). La zone océanique présenterait l'avantage d'une moindre exposition aux prédateurs (Peckham et al., 2011).

Ainsi, après une période d'incubation de 2 mois (Phelan et Eckert, 2006), les tortues marines rejoignent l'océan et peuvent selon l'espèce suivre 3 cycles de vie (Bolten, 2003).

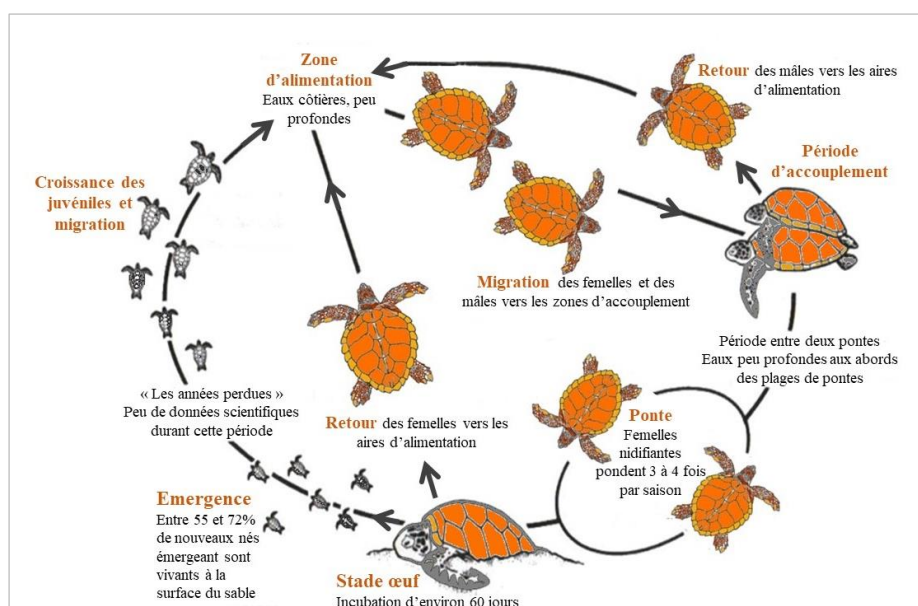


Figure 2: Cycle de vie synthétisé de la tortue caouanne *Caretta caretta* (Inspiré et modifié de Musick et Limpus (1997) ; Dalleau et al (2016)).

L'intégralité du premier type de cycle de vie des tortues se déroule en milieu néritique. Le deuxième type de cycle est le plus répandu chez les tortues et c'est celui que suivent notamment les tortues caouannes ; elles effectuent la première partie de la phase juvénile en milieu océanique et rejoignent ensuite le milieu néritique pour terminer leur développement. Cette transition ontogénique semble se déclencher lorsque les tortues atteignent une certaine taille. En effet, cette taille est variable en fonction des individus, de même pour la taille à maturité sexuelle (Avens et al., 2015). Il a été montré par Mansfield et Putman (2013) qu'en moyenne les caouannes reviennent vers les zones néritiques lorsqu'elles atteignent une longueur courbe de carapace (LC) de 42 à 64 cm dans les bassins de l'Atlantique et d'environ 67 cm dans l'océan Pacifique (cf. annexe 2). Le troisième et dernier stade se déroule principalement en milieu océanique, un schéma de vie correspondant typiquement au cycle de la tortue luth, toutefois suivi dans certains cas par les caouannes (Hawkes et al., 2006) et les tortues olivâtres (Plotkin, 2010).

2.2. Estimation de l'âge de maturité chez la caouanne

Les rares données sur l'âge de maturité des tortues font partie intégrante de la compréhension de la dynamique des populations des tortues marines menacées (Avens et al., 2015). L'âge auquel une tortue marine atteint la maturité sexuelle affecte directement le potentiel reproducteur de cet individu, et entre autres, le taux de croissance intrinsèque de la population. Pour les tortues marines, l'âge et la maturité étaient en grande partie conjecturaux jusqu'aux années 80, puis la surveillance des populations a commencé peu à peu à fournir des estimations d'âge basées sur des études de marquage-recapture (Limpus, 1979) et des études de captivité semi-naturelle (Frazer et Schwartz, 1984). Ces études ont révélé que l'âge de maturité des caouannes sauvages se situe à 25 ans, alors que celui des caouannes en captivité est estimé à 6/7 ans (Caldwell, 1962).

En effet, les estimations d'âge des caouannes divergent depuis quelques années dans la littérature scientifique. Grâce à la technique de squelettochronologie, qui consiste à compter les stries

de croissance des espaces inter-écailles de la carapace, Frazer et Ehrhart (1984) estiment l'âge de maturité des tortues caouannes sauvages de 12 à 30 ans en se basant sur la longueur droite (LD), de carapace moyenne relevée sur toutes les femelles nidifiantes, de 92 cm. Parham et Zug (1997), utilisant la même technique pour leur étude en Géorgie, ont estimé qu'une tortue caouanne avait atteint l'âge de maturité entre 22 et 30 ans, équivalant à une longueur courbe (LC) de carapace de 92 cm. Par exemple pour les tortues caouannes de Méditerranée, Casale et al. (2011) estiment qu'une tortue ayant une longueur courbe de carapace d'environ 80 cm a atteint la majorité sexuelle, et équivalait à 23 à 29 ans. De plus, Avens et al. (2015) considèrent qu'une femelle caouanne atteint la maturité sexuelle entre 22 et 38 ans, équivalant à une LC d'environ 90,5cm, et qu'un mâle lui est mature entre 37 et 42 ans, correspondant à une LC de 95 cm environ.

Par conséquent, il est difficile de généraliser cette estimation d'âge de maturité chez la caouanne à l'échelle de toutes les régions du monde étant donné les conditions environnementales et influences biologiques qui pèsent sur les tortues marines (Avens, 2015). Pour ce projet de stage sur les tortues caouannes au large de l'île de la Réunion, nous utiliserons la courbe de croissance de Parham et Zug (1997) qui situe l'âge moyen de maturité sexuelle aux environs de 25-30 ans (cf. annexe 3).

2.3. Différenciation sexuelle

Les critères de différenciation sexuelle des tortues marines correspondent à des caractères sexuels secondaires présents uniquement chez les adultes car ils n'apparaissent qu'à la maturité sexuelle. Trois critères anatomiques externes permettent de distinguer les tortues mâles adultes des femelles adultes (Wyneken, 2001). En effet, les mâles possèdent une queue plus longue que les nageoires postérieures en comparaison à celle des femelles qui est beaucoup plus courte. Le cloaque se trouvant à l'extrémité ventrale de la queue, permet au mâle lors de l'accouplement de contourner la carapace de la femelle. Ensuite, le plastron est plat chez la femelle et légèrement concave chez le mâle, un critère à prendre toutefois avec précaution car un état d'embonpoint excessif peut fausser le diagnostic. Enfin, les griffes des nageoires inférieures du mâle sont plus développées que celles de la femelle, lui permettant de s'agripper à elle pendant l'accouplement.

Néanmoins, la différenciation sexuelle chez les immatures est plus complexe. La longueur de la queue peut fournir une indication mais ne certifie pas le sexe de l'animal. D'autres techniques non-invasives peuvent être utilisées telles que la laparoscopie ou le dosage d'hormones stéroïdes (œstradiol et testostérone) dans le liquide amniotique des nouveaux nés (Gross et al., 1995).

Aussi, la température au cours de l'incubation des œufs conditionne le sexe des embryons des reptiles (Hawkes et al., 2009). Il est cependant possible qu'un biais de sex-ratios apparaisse, en faveur des femelles dans les zones où la température augmente, notamment vers le centre du nid, et vers les mâles là où elle diminue, notamment vers les œufs situés sur les extrémités du nid (Hawkes et al., 2009). Ce phénomène est connu sous le terme de TSD (Temperature-dependent Sex Determination), différent selon l'espèce et caractérisé par la présence d'une température dite pivot, engendrant un sex-ratio mâles/femelles équilibré, et d'une large gamme de températures dites TRT (Transitional Range of Temperatures) correspondant aux températures donnant les deux sexes (Wibbels, 2003).

Diverses études ont estimé les températures pivots des tortues marines. En général chez les caouannes, ces températures se produisent sur un intervalle relativement étroit de 27,7 à 31°C (Wibbels, 2003). Le climat, les populations auxquelles appartiennent les caouannes ainsi que les contraintes biologiques et physiologiques de chaque étude, peuvent jouer un rôle dans la différence de températures pivots observées au cours de l'incubation des embryons de tortues caouannes. Par exemple, la température pivot d'incubation des caouannes en Floride est de 29°C, c'est-à-dire qu'au-delà de 29°C

ce sont majoritairement des femelles qui émergeront du nid et en-dessous, ce seront majoritairement des mâles (Wyneken et Lolavar, 2015).

2.4. Rôle des tortues dans les écosystèmes marins

Les océans renferment certains des écosystèmes les plus productifs de la planète, jouent un rôle essentiel dans la régulation du climat et constituent un réservoir important de biodiversité (Mora et al., 2011). Les écosystèmes marins sont cependant confrontés au changement global qui a des effets directs ou indirects sur le métabolisme de la faune et la flore marine, sur les cycles de vie des espèces, sur les relations entre les proies et les prédateurs et sur les modifications des habitats (Cury, 2019).

Les tortues marines faisant partie de la mégafaune marine dont la survie aujourd'hui est gravement menacée, jouent un rôle dans la structure et le maintien de la fonction des écosystèmes marins (Bjorndal and Jackson, 2003). Or, la dernière évaluation de l'état de santé des populations de tortues caouannes par le Marine Turtle Specialist Group de l'Union Internationale pour la Conservation de la Nature (IUCN) a identifié la tortue caouanne comme une espèce vulnérable à l'échelle mondiale (Casale and Tucker, 2015).

Bien que la compréhension du rôle écologique de la caouanne soit extrêmement limitée, c'est la plus étudiée de toutes les espèces de tortues marines (Bjorndal and Jackson, 2003). Les caouannes se nourrissent d'un grand nombre d'espèces, en particulier d'espèces de petites tailles, et sont elles même la proie d'un large éventail de prédateurs. Les tortues marines servent de substrat et de transport pour un grand nombre d'épibiontes. Par exemple, les caouannes nichant en Géorgie comptent 100 espèces d'épibiontes (Frick et al., 1998) et des caouannes nichant au Mexique transportent une trentaine de taxons d'algues au total dont 12 espèces sur une seule tortue (Senties et al., 1999). De plus, les tortues marines peuvent transférer des quantités substantielles de nutriments, des zones d'alimentations riches en nutriments, aux plages de nidification pauvres en nutriments.

Les tortues de mer sont aussi de véritables espèces emblématiques pour le grand public et permettent de promouvoir la conservation et l'équilibre de la biodiversité marine. Ce sont des animaux qualifiés d'espèce « parapluie », c'est-à-dire que leur préservation pourrait favoriser la protection d'un grand nombre d'autres espèces partageant les mêmes habitats (Bourjea, 2014). En raison de tous leurs rôles indispensables dans l'écosystème marin, ces espèces sont également appelées « espèces porte-drapeaux » (Campbell, 2003).

3. La tortue caouanne dans l'océan Indien

3.1. Les tortues marines, des espèces migratrices

Les tortues marines font parties des plus grands reptiles et sont les seuls reptiles qui présentent des migrations de longues distances comparables à celles réalisées par des vertébrés terrestres et aviaires (Plotkin, 2003). Le sud-ouest de l'océan Indien (SOOI), notamment la région de Madagascar, l'île de la Réunion et les îles environnantes, est considéré comme l'un des points chauds de la biodiversité terrestre et marine de la planète (Myers et al., 2000). On retrouve dans le SOOI cinq des sept espèces de tortues marines : la tortue imbriquée (*Ei*) qui est la plus septentrionale, les tortues caouanne (*Cc*) et luth (*Dc*) les plus australes, la tortue verte (*Cm*) étant l'espèce la plus abondante dans la région et la tortue olivâtre (*Lo*) dont les pontes sont assez rares. Les distributions de ces différentes espèces sont liées à leur préférence thermique et à la localisation des aires d'alimentation (Vander Zander, 2014).

La distribution de la caouanne s'étend au niveau mondial et est divisée en dix unités régionales de gestion, Regional Management Unit (RMU), qui sont des unités promouvant la protection des tortues marines au niveau des zones de nidifications (SWOT, 2020). Quatre d'entre elles se trouvent dans le bassin de l'océan Indien, la plus grande étant dans le nord-ouest sur les côtes de l'île de Masirah (20.5°N, 58.8°E), une des îles d'Oman avec environ 60 000 pontes observées en moyenne annuellement (Figure 3), et à Socotra (12°31'N, 53°55'E), une des îles du Yémen.

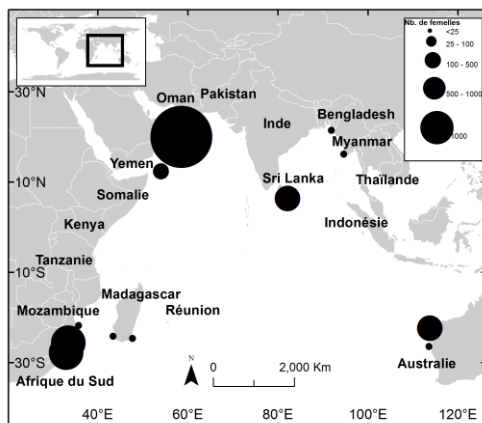


Figure 3 : Répartition des zones de pontes de la tortue caouanne (*Cc*) dans l'océan Indien. (Dalleau et al., 2016 ; SWOT report, 2020)

L'Afrique du Sud est aussi un site de ponte de l'océan Indien avec 3 900 pontes par an observées, de même pour le Mozambique avec 900 pontes constatées par an. Cependant, il y a très peu d'informations concernant les nidifications des caouannes à Madagascar ; le nombre de pontes devrait être faible (Casale, 2015 ; Nel et al., 2015). D'autres sites secondaires existent au nord de l'océan Indien (Sri Lanka et Birmanie).

Chez les tortues marines, le stade juvénile pélagique suit le stade nouveau-né et prend fin avec la migration des zones pélagiques vers les zones benthiques. Ce stade est le plus méconnu de tous et renvoie donc au terme de « lost years » car les observations des juvéniles au cours de cette phase sont rares (Mansfield et al., 2014 ; Briscoe et al., 2016).

3.2. Ecologie spatiale de la caouanne

3.2.1. Répartition géographique

L'écologie spatiale des tortues adultes est aujourd'hui relativement bien connue notamment grâce aux techniques de suivi satellitaire qui ont mis en évidence les principaux schémas migratoires de nombreuses populations de tortues marines particulièrement provoqués par des courants marins (Figure 4). En effet, l'évolution des techniques de suivi électronique couplées à des expériences en laboratoires ont permis de mettre en évidence les comportements et la distribution mondiale des populations des tortues marines, notamment ceux de la caouanne dans l'océan Indien (Briscoe et al., 2016 ; SWOT report, 2020). Concernant l'océan Indien, les tortues caouannes juvéniles se dispersent de deux manières différentes dans l'océan dès la sortie du nid. Leur 1^{ère} phase de dispersion appelée « dérive passive » est médiée par les gyres océaniques et s'étend de l'hémisphère nord, depuis le plus gros site de ponte de l'île de Masirah, vers l'hémisphère sud de l'océan Indien où se trouvent également les zones d'alimentation. Ensuite, une « dérive active » est effectuée par les tortues qui sont stimulées pour aller vers les zones en eaux chaudes qui leur sont saisonnièrement plus favorables (Hawkes et al., 2007) (cf. partie II figure 10).

Depuis plus de 40 ans, des données spatialisées sur les tortues marines sont collectées à différentes échelles dans la région de l’océan Indien. Elles sont aujourd’hui stockées dans la base de données de référence TORSOOI (Tortues Marines du Sud-Ouest de l’Océan Indien). TORSOOI est une base de données de standardisation de protocoles de collectes pour l’étude et la conservation des tortues marines dont le but est de sécuriser les données dans le cadre de programmes d’étude et de suivi des tortues marines et ainsi de faciliter le partage d’informations entre scientifiques de différents pays. Depuis 2005, Kélonia collecte des photos de tortues marines afin de suivre individuellement chaque tortue, en utilisant la méthode de la photo-identification qui permet d’identifier chaque individu en fonction de la configuration des écailles de leur profil de tête, ne variant pas avec l’âge, et l’intègre à la base de données régionale TORSOOI. Cependant, les caouannes ne sont pas préférentiellement photo-identifiées étant donné que la plupart des études par photo-ID portent principalement sur les tortues vertes (*Cm*) (Jean et al., 2010).

3.2.2. Télémétrie satellitaire

Nos connaissances sur l’écologie spatiale des tortues marines juvéniles s’améliorent aujourd’hui grâce à l’utilisation de trois outils : la génétique des populations qui caractérise la connectivité qui existe entre les sites de pontes et les habitats de développement (Monzón-Agrüello, 2009 ; Samblin, 2014), la simulation numérique qui permet d’étudier par modélisation la dispersion d’un grand nombre d’individus pendant de longues périodes (Putman et al., 2012), et la télémétrie satellitaire, par l’utilisation de balises type ARGOS, outil indispensable qui permet d’identifier les tracés migratoires et les zones d’alimentation des tortues adultes. Dans la zone de l’océan Indien, le trajet de migration des caouannes le plus fréquemment observé suit l’axe trans-équatorial nord-sud entre habitats d’alimentation, de reproduction et de développement (SWOT report, 2020). Depuis quelques années, Kélonia et l’IFREMER balisent des tortues caouannes qui ont été pêchées accidentellement et relâchées depuis la Réunion pour étudier leurs trajets de migrations. En effet, le comportement spatial des caouannes immatures balisées et suivies par satellites, relâchées depuis la Réunion, est majoritairement observé au nord du bassin océanique Indien (Figure 5), suggérant que ces individus pourraient être originaires des sites de pontes de l’hémisphère nord telle que l’île de Masirah (Ciccione et Bourjea, 2010).

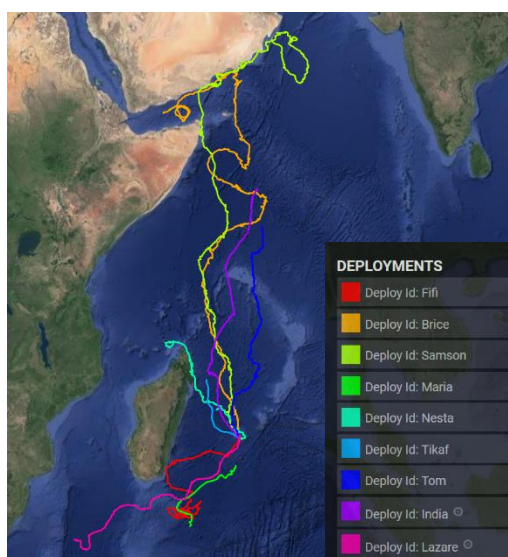


Figure 4: Suivi satellitaire de 9 caouannes immatures équipées de balises Argos et relâchées depuis la Réunion (Octobre 2019 à Avril 2019). Chaque couleur correspond au trajet d’une tortue. (©CEDTM)

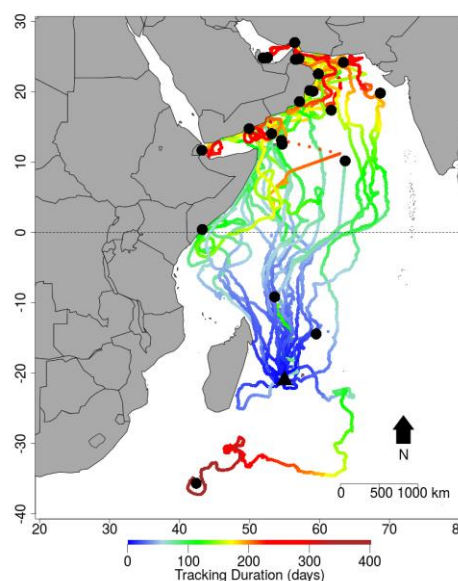


Figure 5: Trajet de 22 caouannes balisées et relâchées depuis l’Île de la Réunion. Les cercles noirs représentent la dernière localisation en date de suivi satellitaire. (Février 2014 à mars 2015). (©Projet COCALOCA-R9)

4. Contexte de l'étude

4.1. Enjeux de l'étude

L'impact d'une série de nombreuses menaces a entraîné l'inscription de six tortues marines sur sept, dont la tortue caouanne (*Cc*), sur la liste rouge de l'IUCN (International Union of Conservation of Nature) des espèces menacées. Il a été créé des outils d'analyse de risques de maladies, ou Disease Risk Analysis (DRA), conçus pour fournir une évaluation objective des risques d'apparition de maladies pour une population (Mashkour et al., 2020). Bien que la maladie soit signalée comme facteur du déclin de la population de tortues marines, aucun outils d'analyse de risques n'a pour le moment été publié pour les tortues marines. L'aspect « One Health » de l'interaction avec les tortues de mer a été étudié dans l'étude de Mashkour et al. en 2020 en collaboration avec plusieurs acteurs, notamment épidémiologistes et vétérinaires. L'approche « One Health » s'applique à la conception et la mise en œuvre de programmes, de politiques, de législations et travaux de recherche pour lesquels plusieurs secteurs communiquent et collaborent en vue d'améliorer les résultats dans différents domaines, notamment ici pour la conservation de la santé des populations de tortues marines (WHO, 2017).

La maladie est un facteur contributif voire principal dans les décès des tortues de mer et pose des contraintes dans les programmes de conservation (Herbst et al., 2003). En effet, les risques de maladies sont divisés en maladies infectieuses et non infectieuses qui sont responsables de la baisse des populations de tortues marines. Elles restent cependant principalement non spécifiques, rendant le diagnostic et la gestion des risques compliqués. Par exemple, une infection par des coccidies peut provoquer des maladies neurologiques, mais des symptômes neurologiques peuvent également être causés par un traumatisme crânien ou des causes naturelles telles que des toxines ou la proliférations d'algues (Jacobson, 2006). Concernant les pathologies infectieuses, les bactéries, virus, parasites et champignons sont détectés chez les tortues marines mais les moyens de luttés et de prévention ne sont pas encore réellement décrits dans la littérature (Manire, 2017). Quant aux maladies non infectieuses, leur émergence est notamment due à des menaces naturelles, d'origine physiologique ou humaine (pollution bio-toxique, plastique, collision avec des bateaux, pêche accidentelle) (George, 1997).

Les dangers et menaces pesant sur les tortues marines, et ainsi sur les écosystèmes marins, ne cessent d'augmenter depuis des années. L'étude et la compréhension des maladies touchant ces populations sont donc devenues urgentes et indispensables afin d'apporter des mesures de luttés et de contrôles pour préserver au maximum cette biodiversité marine nécessaire au bon fonctionnement des écosystèmes terrestres et marins.

4.2. Structure du tégument des tortues marines

Le tégument, ou carapace, forme le revêtement externe du corps des tortues marines. Il est constitué de l'association d'un épithélium superficiel d'origine épiblastique, l'épiderme, et d'un tissu conjonctif profond d'origine mésoblastique, le derme. Chez les Chéloniidae, la carapace est composée d'un plastron ventral et d'une dossière constituée de plaques osseuses imbriquées et intercalées avec du tissu cartilagineux souple, recouvertes d'une couche kératinisée, ou écailles (Wyneken, 2001). L'organisation générale de l'épiderme des tortues est similaire à celle de tout autre vertébré : à partir d'une assise génératrice, des cellules sont produites en permanence, subissent une différenciation, -ici la kératinisation-, et sont éliminées à la surface du corps.

Chez les tortues marines, l'épiderme est divisé en trois couches : la couche basale, intermédiaire et cornée. La couche cornée est la plus superficielle et est constituée de protéines fibrillaires organisées en faisceaux de filaments, la kératine α et la kératine β . Ces deux types de kératines sont arrangés de façon différente l'un par rapport à l'autre permettant ainsi de former plusieurs structures cutanées ayant

chacune des propriétés distinctes. En effet, la carapace des chéloniens est essentiellement constituée de kératine β qui lui confère force et dureté. Quant à l'épiderme situé entre les écailles, il est composé uniquement de kératine α lui permettant d'être suffisamment flexible et élastique. Ainsi, la couche cornée kératinisée constitue une barrière protectrice efficace contre l'abrasion, la déshydratation et les radiations ultraviolettes (Bouvard, 1992). Elle peut également changer de couleur et intervient dans le déterminisme sexuel, comme signal d'alerte ou pour adopter la même couleur que son environnement.

4.3. Affections de la carapace

L'intérêt pour la santé et les maladies pouvant affecter les tortues marines a augmenté depuis maintenant plusieurs années (Herbst et Jacobson, 2003). De nombreux évènements épizootiques frappent ces espèces marines tels que la fibropapillomatose (Keller et al., 2014), étant une tumeur cutanée des tortues marines, la dégradation des coraux, la prolifération d'algues toxiques, des contaminants industriels s'évasant dans l'océan. A mesure que des programmes de surveillance des maladies touchant des populations de tortues marines continuent d'être mis en œuvre, il est important d'identifier le rôle que peuvent avoir certains agents pathogènes sur la santé, et notamment l'écologie de la faune marine (Herbst et Jacobson, 2003). Dans le cas de Kélonia ou tout autre centre de soins de tortues marines, les caouannes sont des animaux s'adaptant assez bien à la captivité. Toutefois, la captivité peut confronter ces espèces à une grande variété de maladies telles que infections pulmonaires, dermatose érosive, ou infections digestives (Dodd, 1988).

Les oligo-éléments sont largement présents dans le milieu marin et résultent des activités anthropiques et de l'évacuation permanente de polluants (ATSDR, 1999). Ces composés, les débris plastiques et autres polluants peuvent induire de graves problèmes de santé chez les tortues marines (Mattei, 2015). Seules quelques études ont analysé les oligo-éléments présents dans la carapace des tortues : Sakai et al. (2000) et Day et al. (2005) ont rapporté que des concentrations de manganèse, zinc et mercure relevées sur la carapace des caouannes corrèlent avec les charges corporelles totales, indiquant que la carapace est un indicateur utile pour la surveillance des métaux lourds ingérés par les tortues marines.

Ainsi pour le moment, mise à part l'apparition d'écailles surnuméraires chez les nouveaux nés (Dodd, 1988 ; Zimm et al., 2017), des déformations de la structure kératinisée observées chez certains cas de tortues (Cherepanov, 2013) et des ulcères envahissant la couche de kératine de la carapace (Orós, 2005), aucun autre cas pathologique relatif à la carapace des tortues caouannes n'a été pour le moment démontré dans la littérature.

4.4. Cas de l'étude : présentation des marques noires

Depuis une dizaine d'années, un phénomène est observé chez la plupart des caouannes récupérées par le centre de soins de Kélonia. En effet, leur carapace est envahie de plaques noires par endroits (Figures 6 et 7). Ce projet a été lancé en 2016 par Jean et al. (cf. annexe 4) montrant qu'il y a 3 niveaux d'affection plus ou moins avancés de la carapace : la partie postérieure de la carapace est d'abord touchée, ensuite les écailles vertébrales puis costales (Figure 8).

Cette affection a un aspect et une texture différent des écailles saines. Ces marques sont semblables à des couches de cellules mortes, similaires à une dénaturation, ou décomposition, de l'écaille. Sur certains cas de tortues, il semblerait que l'affection se glisse sous la couche kératinisée provoquant la desquamation de l'écaille (cf. annexe 5). De plus, les taches noires peuvent toucher d'autres organes tels que la peau des nageoires, la tête et le cou. Aussi, aucune mortalité n'a été relevée

suite à cette affection. Hormis l'aspect physique de la carapace et des organes cités précédemment, aucun autre signe clinique n'a été relevé suite à cette affection.



Figure 4: Exemple de carapace saine (non touchée par les plaques noires) d'une caouanne (©Cécile RIVET)



Figure 5: Exemple de carapace de caouanne affectée par les marques noires (Donnée du centre de soins)

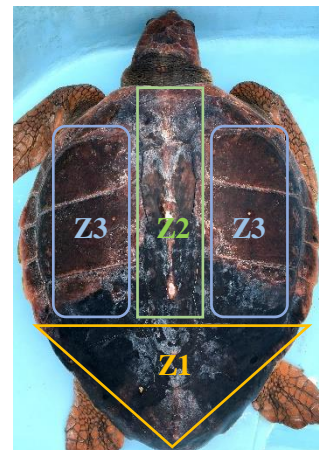


Figure 6: Zones d'avancement théoriques de l'affection (Z1: zone 1, Z2: zone 2, Z3: zone 3) (©Cécile RIVET)

Il semblerait qu'après un certain temps passé au centre de soins (cf. partie III), l'écaille se reconstruit peu à peu et reforme sa densité et couleur habituelle marron-orangé. De plus pendant environ 2 mois après leur arrivée, les tortues ne s'alimentent pas et reçoivent un traitement externe (nettoyage à la chloramine T (HALAMID®) tous les 7 jours, -désinfectant antiparasitaire externe-, et au formol dilué pour sa fonction algicide). Lors de la présentation de l'étude de Jean et al. (2016) à une conférence de l'ISTS (International Sea Turtle Society) en 2017, il a été rapporté que l'ingestion de plastique ne corrélait pas avec l'apparition de ce phénomène et qu'une bactérie, *Citrobacter freundii*, connue pour être responsable d'une maladie d'écaille chez les reptiles (Köbölkuti et al., 2008) a été identifiée lors de certaines bactériologies mais toutefois pas assez fréquemment pour dire qu'elle est responsable du noircissement des carapaces.

Il est également important de noter que quelques tortues olivâtres (*Lo*) récupérées par Kélonia, sont aussi atteintes par ces marques noires. Toutefois, étant donné le nombre limité d'olivâtres affectées et récupérées (cf. partie II), on s'est principalement basé sur les tortues caouannes pour réaliser cette étude.

Le but de mon stage a donc été de déterminer l'origine de l'apparition de cette substance noire qui envahit la carapace des tortues caouannes en dégagant les facteurs de risques potentiels de cette apparition. Lors de cette étude, nous avons tout d'abord étudié comme première hypothèse si des causes infectieuses (bactéries ou mycoses) peuvent être responsables de cette apparition. Pour cela, des analyses bactériologiques, mycologiques et histologiques ont été réalisées. Par la suite, nous avons testé statistiquement comme deuxième hypothèse si des causes non infectieuses, d'origine humaines, environnementales ou physiologiques, peuvent être des facteurs jouant un rôle dans la formation de ces taches noires. Nous avons étudié pour cela si la zone de capture de pêche accidentelle est corrélée avec l'apparition des marques noires, en s'appuyant notamment sur la migration des caouannes médiée principalement par courants océaniques, et si une donnée physiologique des individus, telle que la taille, peut contribuer à l'apparition de ce phénomène.

Partie II : Matériels et méthodes

L'acquisition de données et leur traitement permettent de poser des diagnostics plus précis et de signaler des maladies émergentes ainsi que leurs effets directs et indirects sur les populations de tortues marines. L'analyse des risques des maladies (DRA) de la faune marine implique la collaboration de partis multidisciplinaires engageant notamment les scientifiques, médecins, vétérinaires et politiciens concernés afin d'élaborer des stratégies et mesures de lutte essentielles à la surveillance de la santé et de la conservation des populations de tortues marines. C'est pour cela qu'un des buts majeurs de ce projet de stage est basé sur l'évaluation de facteurs de risques pouvant provoquer l'apparition de ces marques noires.

1. Lieu d'étude et échantillonnage

Les tortues caouannes ont été récupérées suite à des pêcheries accidentelles entre 2006 et 2020 dans la zone sud-ouest de l'océan Indien. Ces pêcheries ciblent essentiellement les grands pélagiques tels que le thon, le marlin ou l'espadon. La zone d'étude regroupe donc toute la zone océanique autour des îles de La Réunion et Maurice, les côtes de Madagascar, notamment le canal du Mozambique, et le rayon autour des îles éparses du nord-est de Madagascar (îles Glorieuses et Tromelin). Sur un total de 368 tortues pêchées accidentellement sur cette période, 267 d'entre elles sont des caouannes et des olivâtres. Sur ces 267 tortues, 134, -dont 122 caouannes (*Cc*) et 12 olivâtres (*Lo*)-, d'entre-elles ont été comptabilisées pour cette étude. En effet, à l'ouverture du centre Kélonia en 2006, les règles et échantillonnages n'étaient pas totalement établis pour ce suivi, et de ce fait, l'évolution d'un grand nombre de tortues n'a pas été suivie par prises photographiques et les échantillons nécessaires n'ont pas été prélevés, ce qui explique pourquoi le nombre total de tortues caouannes et olivâtres n'a pu être pris en compte durant cette étude. Il est également important de signaler que le nombre total de tortues marines prévu initialement pour cette étude a été influencé par la crise sanitaire actuelle du COVID-19, partie qui sera détaillée ultérieurement.

2. Protocole d'échantillonnage

Le protocole d'échantillonnage et la prise en charge d'arrivée des caouannes possédant une carapace affectée par des taches noires est similaire à celui décrit précédemment pour toutes les espèces de tortues marines arrivant au centre de soin (cf. partie 1.3). Dans le cadre du projet de stage, il a été convenu avec le vétérinaire qui effectue le suivi des tortues terrestres et marines de Kélonia, qu'en parallèle du protocole d'arrivée habituel, seraient ajoutés des échantillonnages supplémentaires consistant à faire des écouvillons dans un premier temps, sur une partie saine d'écailles de la carapace et sur une partie d'écailles affectées par les taches noires avant la mise en bassin de la tortue dans le centre de soins. Dans un second temps, deux prélèvements histologiques d'écailles touchées et saines ont également été effectués par la technique de biopsie au punch. Puis, un suivi photographique hebdomadaire des tortues atteintes a été réalisé afin de suivre visuellement l'évolution de la surface des marques noires présentes sur la carapace.

La quantification de la surface des zones noircies a également été établie. Chacune des écailles qui a été touchée est comptée et pondérée par le pourcentage de l'écaille noircie. Le calcul est le suivant :

$$Surface\ noircie = \left(\frac{(n1 * 1) + (n2 * 0,75) + (n3 * 0,5) + (n4 * 0,25)}{15} \right) * 100$$

Nous nous basons ici sur un nombre total de 15 écailles sur la carapace en comptant : les 5 écailles vertébrales et les 10 écailles costales. n1 représentant le nombre total d'écailles noircies à 100%, n2 le nombre d'écailles touchées à 75%, n3 le nombre d'écailles atteintes à 50% et n4 le nombre d'écailles touchées à 25%.

HYPOTHESE 1 : Causes infectieuses : protocoles bactériologiques, mycologiques et histologiques

2.1. Protocoles bactériologiques et mycologiques

Les prélèvements d'échantillons d'écailles par écouvillonnage, sur milieu de transport (UTM), sont à visée diagnostique et épidémiologique. Pour les écouvillons « marques noires », une zone bien noircie a été choisie, de même pour les écouvillons des parties saines qui ont été réalisés sur une partie de la carapace non affectée de couleur marron-orangé. Une fois effectués, les tubes sont transférés au laboratoire du cabinet vétérinaire VétORun de Saint-Pierre pour les analyses mycologiques et bactériologiques.

A réception des écouvillons, le laboratoire procède aux mises en culture de chaque échantillon en l'isolant individuellement. Pour la mycologie, l'échantillon sur l'écouvillon est étalé sur une gélose de Sabouraud (milieu classique de culture permettant d'isoler et d'identifier les levures et/ou moisissures pathogènes) ajoutée de Chloramphénicol (antibiotique bactériostatique utilisé lorsque les prélèvements sont fortement contaminés). L'ensemencement est mis à incuber pour une durée minimale d'une semaine. Concernant la bactériologie, l'échantillon est étalé sur le fond d'une boîte de pétri contenant de la gélose BCP (BromoCrésol Pourpre, milieu classique non-sélectif utilisé pour la culture des bacilles à Gram négatif non exigeants) additionnée de gélose COS (Columbia + 5% de sang de mouton, milieu nutritif destiné à faciliter la croissance de microorganismes exigeants), puis mis à incubation pendant 24h.

L'identification et l'analyse se font au laboratoire VétORun via l'utilisation de galeries API (ensemble de petits tubes prêts à l'emploi permettant l'identification de microorganismes par réalisation de tests biochimiques miniaturisés) ; et si absence de résultats, les échantillons sont envoyés au laboratoire Bio-Chêne Vert en métropole pour une identification par spectrométrie MALDI-TOF qui permet d'obtenir un profil cartographique propre à chaque germe analysé.

2.2. Protocole histologique

Afin de faire des analyses histologiques, des coupes d'écailles ont également été prélevées par la technique de biopsie au punch (Figure 9). Le punch biopsique est un instrument jetable comportant une lame cylindrique coupante de 2 à 8 mm de diamètre, 7mm pour ce projet, ; il est enfoncé dans la carapace en faisant un mouvement de rotation jusqu'à pénétration complète de la partie coupante, jusqu'à la surface du derme osseux afin de prélever des couches d'épaisseur d'environ 1 à 1,5mm. Pour cette étape, il est préférable de nettoyer au minimum la partie de l'écaille à prélever pour éviter la présence d'algues sur l'échantillon, et de ne pas choisir une zone de la carapace déjà accidentée afin de ne pas contaminer l'échantillon avec les tissus sous-jacents (Keller et al., 2014). L'échantillon d'écaille prélevé est ensuite envoyé au laboratoire GIP LABOCEA en métropole pour l'analyse qui nous est retransmise par la suite.

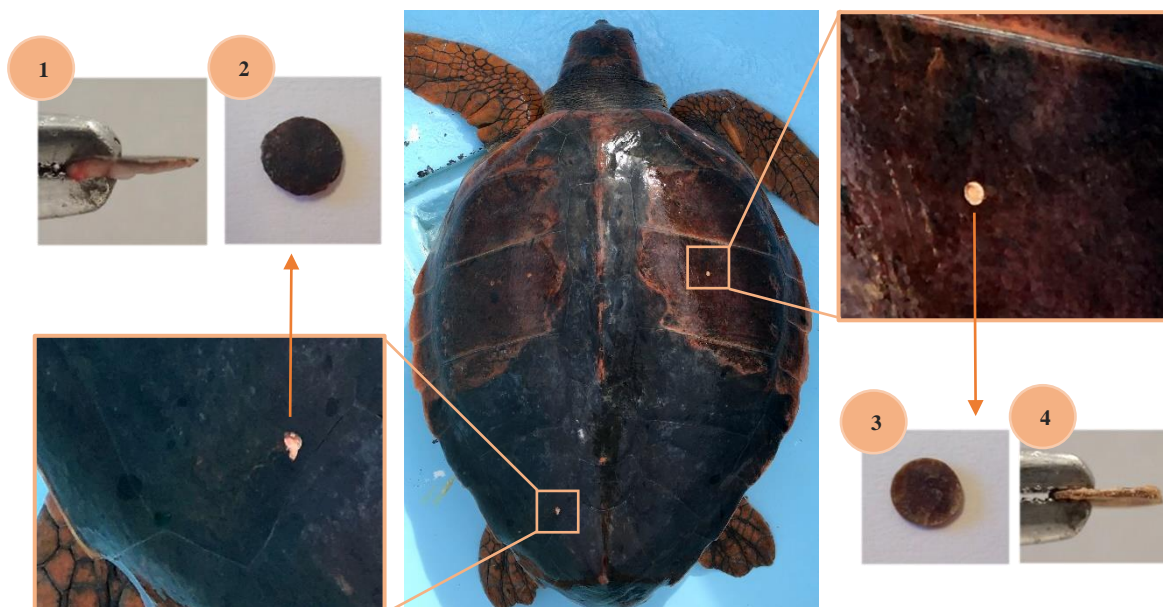


Figure 7: Photos d'écailles prélevées par biopsie au punch. Zoom gauche : prélèvement sur écaille affectée avec (1) coupe transversale et (2) coupe frontale (diam env. 7mm) de l'échantillon touché. Zoom droit : prélèvement sur écaille saine avec (3) coupe frontale (diam env. 7mm) et (4) coupe transversale de l'échantillon sain.
(©Cécile RIVET & Mathieu BARRET)

On peut ajouter que lorsque l'affection diminue, que l'écaille se reconstruit peu à peu et reforme sa dureté et sa couleur d'origine (cf. partie III), un prélèvement supplémentaire par punch biopsique est effectué sur la zone nouvellement formée pour comparer la nouvelle épaisseur d'écaille reformée à celle anciennement touchée par l'affection.

Enfin, chaque semaine, un suivi photographique, de chaque tortue arrivée atteinte par l'affection, a été mis en place afin de suivre l'évolution de l'affection. La carapace des tortues doit être de préférence mouillée, les photos doivent être prises sans flash afin d'éviter les reflets et la tortue doit occuper la totalité de l'écran.

3. Conformité éthique du projet

L'organisation Kélonia est en conformité avec la réglementation sur l'expérimentation animale (rattachement au comité d'éthique le CYROI, agrément en tant qu'établissement utilisateur d'animaux à des fins scientifiques, mise en place d'une structure chargée du bien-être animal). Le directeur du site Kélonia et capacitaire, -garant de la bonne prise en charge et soins des animaux de Kélonia-, Monsieur Stéphane Ciccione, ainsi que les procédures expérimentales, suivent les recommandations du groupe de spécialistes des tortues marines de l'UICN et de la SCC (Species Survival Commission). Comme dit précédemment, le centre dispose également d'un vétérinaire qui assure les opérations ainsi que tout autre acte vétérinaire. De plus, Kélonia bénéficie d'une autorisation d'ouverture d'un centre de soins (Arrêté n°09 – 1405 /SG/DRCTCV du 11 mai 2009 : Autorisation d'ouverture d'un centre de soins) et le personnel destiné à manipuler les animaux est expérimenté et diplômé. (Avis du CSRPN, Conseil Scientifique Régional du Patrimoine Naturel de la Réunion, n°2017-02, pour la mise en œuvre du PNA d'animaux sauvages, les tortues marines).

4. Campagnes d'informations avec les pêcheurs palangriers

Les campagnes d'informations et d'échanges avec les pêcheurs palangriers ont représenté une partie importante du stage. Elles consistaient non seulement à la sensibilisation des pêcheurs à ramener à quai les tortues accidentellement pêchées, à pérenniser les liens avec eux et également à un partage de connaissances et de culture. L'initiative de protéger les populations de tortues marines en aidant le centre Kélonia, et ainsi de contribuer aux nombreux programmes de recherches, provenait de la plupart des pêcheurs. De plus, l'organisation de rencontres avec les pêcheurs m'a permis d'exposer mon projet en leur montrant des photos de tortues affectées par les taches noires. Un message entendu par nombre d'entre eux qui, depuis la campagne d'informations de mi-février, ont ramené à quai à ce jour, malgré la situation sanitaire actuelle, une dizaine de tortues prises dans les palangres dans le but de les sauver.

HYPOTHESE 2 : Causes non infectieuses

5. Relation entre les zones de pêche accidentelle et l'apparition des marques noires

Afin d'étudier s'il y a un lien entre le lieu de capture de pêche accidentelle des tortues avec la formation des taches noires, des statistiques descriptives et analytiques ont été réalisées sous le logiciel R Studio. Les coordonnées GPS des lieux de capture de tortues, en degrés décimaux (Latitude/Longitude), et la surface de noircissement, en pourcentage, sont les deux variables d'intérêt pour cette partie. Premièrement, un total de 120 tortues a été comptabilisé. Le nombre total d'individus pour ces tests statistiques diffère du nombre total de tortues décrit précédemment (cf. partie II.1.), car les coordonnées GPS de captures n'ont pas toutes été transmises ou relevées pour chaque cas de tortue dans les années précédentes.

Grâce aux logiciels R Studio et QGIS (Système d'Information Géographique), j'ai pu cartographier la répartition spatiale des lieux de pêches des tortues capturées atteintes par l'affection ou pas. Par la suite, dans le but de savoir si les tortues sont plus ou moins affectées potentiellement dans une zone particulière par rapport à une autre, des délimitations fictives de deux zones ont été réalisées afin de comparer si la moyenne de la surface de noircissement des tortues de la zone 1 est significativement différente de la moyenne de la surface noircie des tortues pêchées en zone 2. Les zones ont été délimitées en fonction d'un intervalle de coordonnées GPS, suivant le flux migratoire prédictif des caouannes dans les courants marins (Figure 10) (cf. partie III 3.1.).

Deux hypothèses statistiques, basées sur un seuil de probabilité critique $\alpha = 0,05$, seront émises pour chacun des tests : l'hypothèse nulle, H_0 , signifiant que toute p-value supérieure à cette valeur seuil permet de ne pas rejeter cette hypothèse et ainsi de supposer qu'il n'y a pas de différences significatives entre les variables étudiées. L'hypothèse alternative, H_1 , supposant qu'il existe une différence significative entre les variables étudiées au risque de 5% (p-value < 0,05).

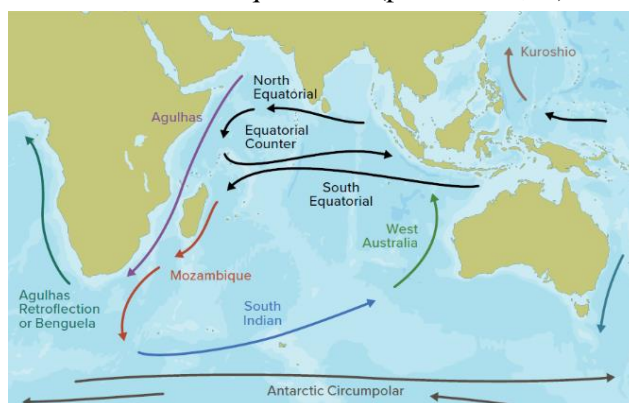


Figure 8: Représentation des courants marins de l'océan Indien orientant les trajets de migration des caouannes (Cc) adultes, et la dispersion des caouannes juvéniles. (SWOT report, 2020)

6. Relation entre la taille de la carapace des tortues caouannes du SOOI et l'affection

Dans le but de tester, dans cette deuxième partie, si l'affection est causée par des agents non infectieux d'origine physiologique, le même échantillon que précédemment, -120 tortues-, a été utilisé. Les variables d'intérêt pour ce test sont : le pourcentage de surface noircie des carapaces et la longueur courbe de la carapace (LC) de la tortue, qu'on généralisera comme étant la taille de la tortue.

A l'aide du logiciel R studio, j'ai pu identifier s'il existait hypothétiquement une relation entre la taille des tortues et la formation de l'affection. Pour se faire, un test d'indépendance entre ces deux variables quantitatives a été réalisé par le calcul du coefficient de corrélation de Spearman. Le test de Spearman renseigne sur la force de la relation entre ces deux variables et nous permettra ainsi d'émettre une hypothèse sur la potentielle relation entre la taille des tortues pêchées par accident et l'apparition des marques noires envahissant leur carapace.

Les résultats obtenus pour cette partie seront également basés sur les validations des deux hypothèses statistiques H0 et H1 présentées précédemment.

Impact de la crise sanitaire du COVID-19

Depuis fin décembre 2019, la crise sanitaire causée par le COVID-19 impacte de nombreux domaines, notamment la pêche. En effet, une baisse importante de l'activité de pêche à l'île de La Réunion a été relevée depuis le confinement de la population (IFREMER, communiqué de presse 2020). Outre l'immense impact économique, socio-politique et industriel mondial, l'émergence du COVID-19 semble avoir amélioré, pour un certain temps, la santé de la biodiversité marine, notamment des tortues de mer. Ces animaux sauvages, débarrassés de la présence humaine pendant un moment, reprennent peu à peu possession de certaines zones qu'ils avaient dû délaisser depuis des années. Par exemple, depuis le début de l'année, une dizaine de nids de tortues luth sur les plages thaïlandaises ont été repérés par les autorités, le plus gros chiffre enregistré depuis une vingtaine d'années (The Guardian report, 2020). Ou encore, des milliers de tortues olivâtres venant pondre sur la plage côtière d'Odisha en Inde, plage habituellement occupée par des centaines de touristes, ont été reportées.

Cependant, la baisse importante de pêcheries réunionnaises a donc diminué la prise accidentelle de tortues marines, et ainsi le nombre total de tortues pour ce projet. Les statistiques et analyses réalisées pour ce projet ne rendront donc pas de résultats significatifs représentant entièrement la réalité, mais révéleront plutôt un résultat de tendance par des tests et analyses. De plus, le confinement imposé impacte d'autant plus la partie terrain de cette étude qui n'est désormais malheureusement plus réalisée par mes soins, mais avec l'aide du responsable du centre de soin et des soigneurs présents sur place.

Partie III : Résultats de l'étude

HYPOTHESE 1

1. Causes infectieuses : analyses bactériologiques, mycologiques et histologiques

1.1. Bilans bactériologiques et mycologiques du centre de soins

Chaque année, le laboratoire de la clinique VéroRun réalise un bilan de toutes les bactéries et champignons retrouvés dans les bassins du centre de soins de Kélonia, sur les tortues et dans leur fèces (Figure 11). En 2019, les bactéries retrouvées majoritairement sont : *Vibrio spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter spp.*, *Enterobacter spp.* et autres. Les germes « autres » correspondent aux germes non identifiables biochimiquement, absents de la base de données du laboratoire Bio-Chêne Vert. Toutes sont des bactéries opportunistes très présentes dans l'eau qui affectent d'autant plus les tortues quand elles sont affaiblies. Elles sont toutes classées comme étant des germes d'environnement pouvant se retrouver dans la circulation sanguine et provoquer des septicémies ou autres maladies. Suite à l'isolement de bactéries ou champignons, un antibiogramme est mis en place afin de cibler les antibiotiques les plus efficaces contre ces germes.

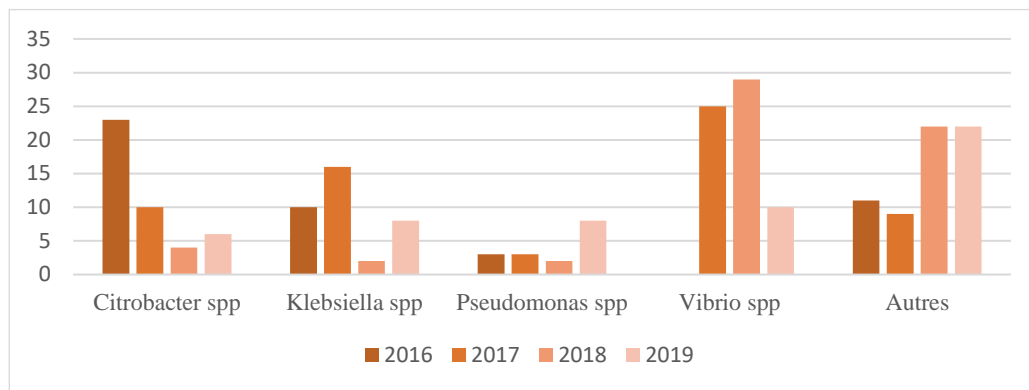


Figure 9: Evolution de la prévalence (en %) des germes isolés et retrouvés dans les bassins du centre de soins de Kélonia de 2016 à 2019 (N= 78). (©VéroRun)

Il a été montré qu'il y avait une baisse conséquente du *Vibrio spp.* en 2019, un résultat encourageant étant donné son rôle d'indicateur de la qualité de l'eau, et que le *Pseudomonas spp.* devait être surveillé au vu de son augmentation durant l'année 2019.

Concernant les résultats de mycologie sur les tortues du centre de soin de l'année 2019, l'agent fongique le plus majoritairement identifié est *Aspergillus spp.*, un champignon infectant notamment les tortues adultes immunodéprimées et provoquant des infections locales et tissulaires (Jacobson et al., 2000). Toutefois, quasiment la moitié des germes retrouvés dans les bassins n'ont pu être identifiés par le laboratoire Bio-Chêne Vert en métropole (Figure 12), des résultats qui restent cependant à confirmer car très peu de mesures d'amélioration peuvent être prises pour le moment, même si les résultats d'hygiène restent très corrects à Kélonia.

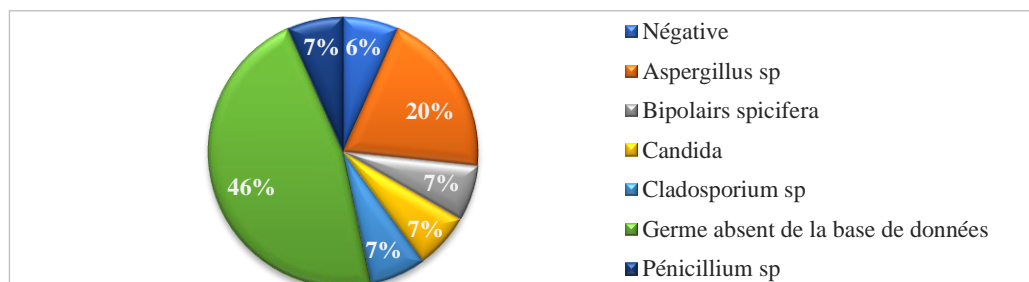


Figure 10: Répartition des différents agents fongiques identifiés dans les bassins du centre de soins de Kélonia en 2019 (N= 78) (©VéroRun)

1.2. Résultats d'analyses bactériologiques et mycologiques des échantillons

Suite aux dépôts des échantillons au laboratoire VêtoRun, à la mise en culture, à l'incubation et à l'identification des différentes souches, les résultats d'analyses nous sont retransmis. Le tableau 1 présente les principaux champignons et bactéries retrouvés sur la carapace des tortues testées au niveau d'écailles saines et d'écailles touchées par les marques noires. Sur les 134 tortues comptabilisées pour cette étude, seulement 62 d'entre elles ont subi des prélèvements de la carapace. Ainsi, sont reportés sur le tableau 1, uniquement les germes retrouvés majoritairement, -apparaissant 2 ou 3 fois dans la base de données-, sur les différentes carapaces de tortues marines.

Espèce	Année	Nom tortue	Bactériologie		Mycologie	
			Ecaille saine	Ecaille affectée	Ecaille saine	Ecaille affectée
Cc	2020	Célou	Négative	<i>Staphylococcus xylosus</i>	Négative	Négative
Cc	2020	Félix	Négative	<i>Rhodococcus fascians</i>	<i>Curvularia sp.</i>	<i>Cryptococcus sp. et Cladosporium sp.</i>
Cc	2020	Fulbert	Négative	Négative	Négative	<i>Cladosporium sp. et Penicillium sp.</i>
Cc	2020	Mona	Négative	<i>Staphylococcus sciuri</i>	Négative	Germe absent base Bio-Chêne Vert
Cc	2019	Markus	Négative	Négative	Négative	<i>Aspergillus sp.</i>
Lo	2020	Corona	<i>Staphylococcus cohnii</i>	<i>Staphylococcus cohnii</i>	Négative	Germe absent base Bio-Chêne Vert
Cc	2016	Maurice	Négative	<i>Morganella morganii</i>	Négative	Germe absent base Bio-Chêne Vert
Cc	2013	Brian II	Négative	<i>Citrobacter freundii</i>	Négative	Négative
Cc	2017	Bernardin	Négative	Négative	<i>Aspergillus sp.</i>	<i>Fusarium spp.</i>

Tableau 1: Liste des principaux germes relevés sur la carapace de tortues caouannes et olivâtres par écouvillonnage sur écailles saines et affectées. (©Cécile RIVET)

Les germes fréquemment isolés des échantillons et retrouvés, sont notamment :

- Les staphylococques (*sciuri*, *xylosus*, *cohnii*), pouvant se trouver dans un large éventail d'habitats, animaux, humains ou environnement. Ils sont définis comme espèces pathogènes et certains de leurs gènes sont dotés d'une virulence et d'une grande résistance, notamment chez les tortues terrestres et marines (Nemeghaire et al., 2014 ; Di Ianni, 2015).
- *Morganella morganii*, une bactérie opportuniste apparaissant notamment chez les individus immunodéprimés. Elle est résistante à une grande variété de traitements antibiotiques adaptés aux chéloniens. Cette résistance importante peut même parfois entraîner l'apparition de zoonoses (Di Ianni et al., 2015).
- *Citrobacter freundii*, connue pour être responsable d'une maladie d'écailles chez les reptiles (Köbölkuti et al., 2008) a été identifiée lors de certaines bactériologies.

- *Fusarium spp.* un champignon isolé à partir d'un écouvillon de lésion de carapace, connu pour être responsable d'infection tégumentaire ou invasive chez les tortues marines (Garcia-Hartmann, 2016).
- *Cladosporium sp.*, faisant parti des champignons cosmopolites les plus fréquents dans le monde dont certaines espèces sont des pathogènes de végétaux.
- *Aspergillus sp.*, un agent fongique également beaucoup retrouvé chez les tortues marines immunodéprimées, provoquant des infections superficielles et locales (cutanées) ou associées à des lésions tissulaires (ostéomyélite).
- *Penicillium sp.*, un champignon fréquemment retrouvé chez les tortues marines.
- *Cryptococcus sp.*, un agent fongique rarement trouvé chez les reptiles.

Ainsi, concernant l'isolement des bactéries retrouvées sur les échantillons de carapace, les plus fréquemment observées sur les téguments des tortues de cette étude sont les staphylocoques et *Citrobacter freundii*. De plus, de nombreuses maladies mycosiques sont également rapportées chez les reptiles (Jacobson et al., 2000). Les agents fongiques les plus communément retrouvés sont notamment *Penicillium sp.*, et *Fusarium spp.*, des champignons envahissant principalement les tortues marines immunodéprimées.

1.3. Résultats d'analyses histologiques des échantillons

Les analyses histologiques ont été effectuées au laboratoire GIP LABOCEA en Bretagne. L'examen histopathologique porte sur des biopsies d'écailles de trois tortues caouannes, -dont deux vivantes et une arrivée morte-, et une olivâtre, arrivées et récupérées à quai en février et mars 2020 (cf. annexe 6).

Concernant les deux biopsies d'écailles des tortues caouannes vivantes prises en charge fin février 2020 (Célou et Mona), après décalcification (3 jours pour les écailles altérées par les marques noires et 10 jours pour les saines), l'examen révèle pour les écailles saines un épiderme d'épaisseur comprise entre 30 et 37 μm , composé d'une couche basale de cellules cubiques hautes surmontées de cellules squameuses. L'épiderme est surmonté de lamelles de kératine massives d'environ 340 μm d'épaisseur, avec de rares amas de granules noirs mal délimités.

En revanche, concernant la biopsie d'écailles affectées par les taches noires, l'épaisseur des épidermes des deux tortues est légèrement variable et plus imposante. Elle est comprise entre 60 et 63 μm pour la tortue Mona et entre 59 et 61 μm pour la tortue Célou, présentant toutes deux une acanthose qui se caractérise par l'épaississement de la couche de cellules de la couche basale de l'épiderme causé par une surmultiplication des cellules du corps muqueux de Malpighi. De plus, la composition de ces épidermes diffère également de celui des écailles saines car il est composé de cellules épidermiques au sein desquelles on peut noter la présence de granules noirs intracytoplasmiques de nature mélanique probable. Ces épidermes sont de même surmontés de lamelles de kératine cette fois-ci beaucoup plus fines, avec une épaisseur variant entre 79 et 87 μm pour la tortue Mona et 61 et 76 μm pour la tortue Célou, composé de nombreux amas mal délimités de granules noirs.

Le laboratoire a conclu que les lésions des écailles affectées étaient caractérisées par une acanthose et une hypokératose marquées avec mélanisation (cf. annexe 6). Des lésions classées peu spécifiques et sans inflammation associée ni agent pathogène.

Quant à la caouanne arrivée morte après une pêche accidentelle, la tortue Félix, aucune anomalie n'a été notée. En effet, l'examen histopathologique révèle, après décalcification des différents échantillons, que les écailles examinées sont alésionnelles, l'épaisseur de l'épiderme est jugée conventionnelle sans atteinte dégénérative ou nécrotique des acanthocytes. La couche kératinisée

constitutive des écailles n'est pas modifiée et le derme est non densifié. La seule différence notable entre les différentes coupes prélevées est l'existence d'une pigmentation des acanthocytes et de la couche cornée et de mélanine pour les écailles tachetées de noir. Le laboratoire conclut sur une absence d'anomalies histopathologiques des écailles prélevées, y compris de celles pigmentées.

Enfin, l'analyse histopathologique portant sur une biopsie d'écaille affectée d'une tortue olivâtre montre qu'après une décalcification de 3 jours, l'épiderme comprend des cellules épidermiques au sein desquelles on note la présence d'une faible quantité de fins granules noirs intracytoplasmiques de nature mélanique probable. Des lamelles de kératine surplombent l'épiderme et sont agencées de façon assez désordonnée avec de fins granules noirs. Le derme superficiel présente de même des amas, parfois volumineux, de granules noirs intracytoplasmiques de nature mélanique. Les laborantins ont conclu que les lésions sur l'échantillon sont caractérisées par une possible atrophie épidermique par rapport aux échantillons d'écailles affectées des caouannes avec une hypokératose marquée avec mélanisation dermique. Les lésions sont non spécifiques, sans inflammation et sans agent pathogène.

2. Suivi de l'évolution des surfaces noircies

Sur les 134 tortues comptabilisées pour cette étude, 115 d'entre-elles, soit environ 85%, sont affectées par les marques noires. Sur ces 115 touchées, on peut compter 104 caouannes (*Cc*) et 11 olivâtres (*Lo*). En moyenne sur ces 115 tortues, 36,3% de la surface de la carapace est touchée par l'affection (max = 100% ; min = 3,3 % ; écart-type = 21,56).

La figure 13 présente l'évolution des zones noircies envahissant la carapace de la caouanne Mona, arrivée fin février. Après quelques jours passés au centre de soins sous traitement (nettoyage à la chloramine T (HALAMID®) tous les 7 jours, au formol dilué et le brossage de la carapace toutes les semaines), l'écaille se reconstruit peu à peu et reforme sa densité et couleur habituelle marron-orangé. En effet, on peut observer ici pour le cas de la tortue caouanne Mona, que l'écaille commence peu à peu à se reconstruire à partir de la 5^{ème} semaine de soins.



Figure 11: Suivi de l'évolution du noircissement de la carapace de la tortue caouanne Mona semaine par semaine. Période de fin février à début mai. (©Cécile RIVET & Mathieu BARRET)

Ce phénomène de reconstruction de l'écaïlle semble se répéter approximativement au même moment pour les quatre autres caouannes suivies par photographie (cf. annexe 7). Il est à noter que le phénotype de la carapace peut varier en fonction des caouannes. En effet, la couleur de la carapace peut être plus foncée sur certaines et plus claire sur d'autres. De ce fait, sur une couleur d'écaïlle plus foncée (cf. tortues Célou et Astérix annexe 7), la reconstruction de l'écaïlle de la carapace suite à l'affection noire de la carapace est parfois moins évidente à observer que sur une carapace de phénotype clair.

HYPOTHESE 2

3. Causes non infectieuses

3.1. Corrélation des zones de capture de pêche accidentelle avec l'apparition des marques noires

Les figures 14 et 15 présentent les résultats de la répartition spatiale des lieux de capture issus de pêches accidentelles des 120 tortues marines comptabilisées pour cette hypothèse sous R Studio (figure 14) et sous QGIS (figure 15).

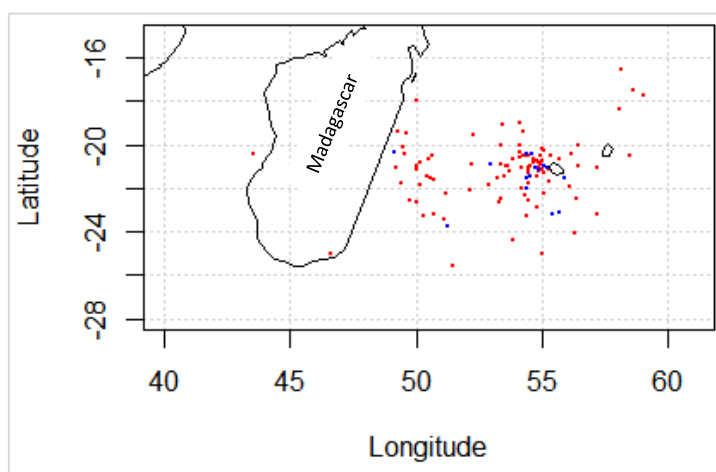


Figure 13: Répartition spatiale des lieux de captures de tortues caouannes atteintes (rouge) et saines (bleu) dans la zone SOOI. Logiciel R Studio. (©Cécile RIVET)

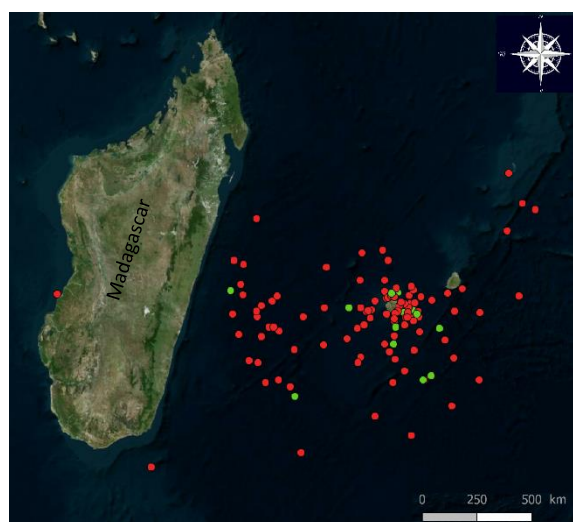


Figure 12: Répartition spatiale des lieux de captures de tortues caouannes atteintes (rouge) et saines (vert) dans la zone SOOI. Logiciel QGIS. (©Cécile RIVET)

On peut globalement distinguer que la répartition des lieux de capture des tortues atteintes et saines est hétérogène, -en prenant également en compte que la majeure partie des tortues sont atteintes, 104 touchées vs 16 saines-, et que nous ne pouvons donc pas émettre visuellement l'hypothèse que les tortues touchées par l'affection se trouvent préférentiellement dans une zone océanique par rapport à une autre. Cependant, en se basant sur les flux migratoires guidant les tortues caouannes provenant du nord (cf. partie II figure 10), nous pouvons, de manière hypothétique, délimiter fictivement deux zones de pêche (figure 16) : la zone 1 qui correspond à la zone du flux migratoire marin longeant la côte-est malgache (Lat min = -26,00 ; Lat max = -18,08 ; Long min = 47,19 ; Long max = 53,70), et la zone 2 correspondant aux éventuels déplacements volontaires des tortues vers des zones d'alimentation (Hawkes et al., 2007) (Lat min = -25,21 ; Lat max = -15,31 ; Long min = 54,17 ; Long max = 64,31).

Ces délimitations fictives des deux zones servent à comparer si la moyenne de la surface de noircissement des tortues situées en zone 1 est significativement différente de la moyenne de la surface noircie des tortues pêchées en zone 2.

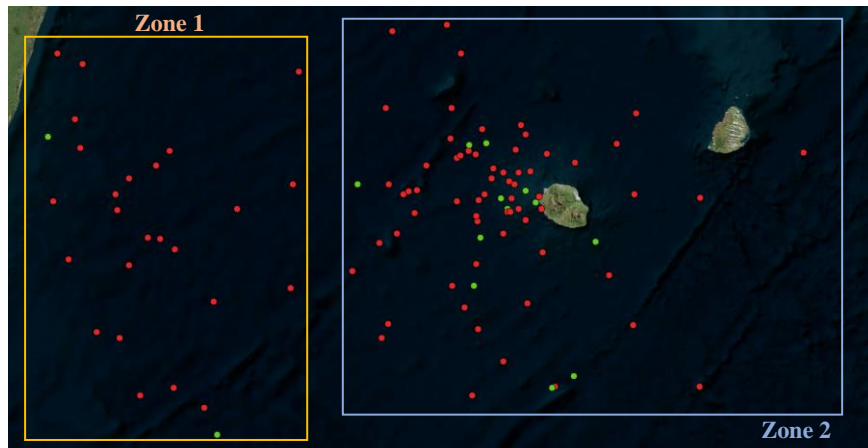


Figure 14: Zoom figure 15 : délimitation fictive spatiale en deux zones des lieux de captures de tortues caouannes atteintes (rouge) et saines (vert) au large de La Réunion. (©Cécile RIVET)

En moyenne, la carapace des caouannes pêchées accidentellement en zone 1 est touchée à 34,56% (Min = 0,00% ; Max = 95,00% ; Médiane = 31,70) et celle des tortues se trouvant en zone 2 à 30,26% (Min = 0,00% ; Max = 100% ; Médiane = 30,15). Les variances des deux échantillons sont égales (p-value = 0,9155) et ils suivent tous deux une loi normale (Shapiro-test : les deux p-values > 0,05). Ainsi, nos deux échantillons présentent des variances égales, sont indépendants et suivent une loi de normalité ; on a donc réalisé une comparaison de ces deux moyennes avec un t-test et obtenu une p-value de 0,3767.

3.2. Relation entre la taille des tortues et l'apparition des marques noires

Les variances de longueur courbe (LC) de la carapace des tortues et de la variable pourcentage de noircissement de la carapace ne présentent pas d'égalité (p-value = $2,2e^{-16} < 0,05$). De plus, la variable taille ne suivant pas une loi normale, on ne peut donc pas réaliser un coefficient de régression pour évaluer la significativité du lien linéaire entre ces deux variables numériques continues. Les variables étant indépendantes et leur relation globalement monotone par résultat obtenu par un scatter-plot sur R studio (figure 17), le test de Spearman a donc été effectué.

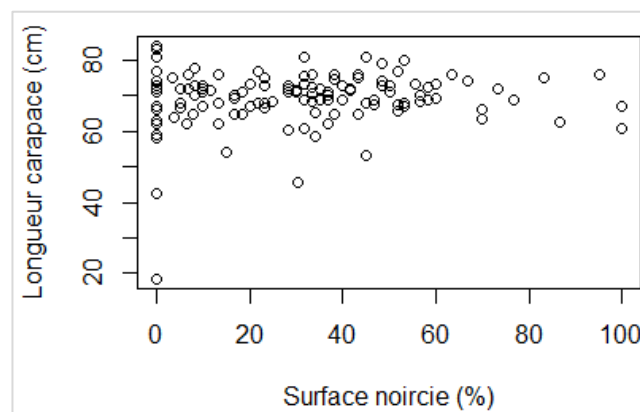


Figure 15: Scatter-plot représentant la relation linéaire entre la taille des tortues et le pourcentage de surface noircie des carapaces de tortues caouannes. Sous R studio. (©Cécile RIVET)

Le test de Spearman renseigne sur la force de la relation entre ces deux variables mais ne permet pas d'évaluer à lui seul la significativité de la dépendance monotone entre ces deux variables. Pour que la relation monotone obtenue en figure 17 soit considérée comme significative, la valeur absolue du coefficient de Spearman, comprise entre -1 et 1, doit dépasser une valeur seuil r environ égale à 0,4. Mais globalement, plus le coefficient de Spearman est proche de 1, plus la probabilité qu'il soit significativement de 0, et donc que la relation entre les deux variables soit significative, est grande.

Ici, suite au test de Spearman, on obtient une p-value de 0,2223, soit largement supérieure au seuil $\alpha = 0,05$, et un coefficient de corrélation de 0,1086, soit inférieur au seuil de corrélation $r = 0,04$ et assez éloigné de la valeur 1.

Partie IV : Discussion

Le plan « One Health » englobe la collaboration entre la santé publique, la santé animale et l'environnement afin de mettre en œuvre des programmes de conservation de l'environnement et de la santé humaine et animale. C'est une approche qui permet de promouvoir la santé interconnectée des humains, animaux et de l'environnement. Aujourd'hui, environ 75% des maladies infectieuses humaines sont zoonotiques (AVMA, 2008). La dégradation de l'environnement par l'homme, -production de toxines, produits chimiques et contaminants-, augmente le taux de maladies émergentes de la population humaine, de la faune sauvage et du bétail (Keller, 2004). En effet, la maladie peut affecter non seulement une population, mais également un habitat. Dans le cadre de l'approche « One Health », les tortues caouannes, *Caretta caretta*, sont particulièrement importantes en raison de leur longévité, de leur statut d'espèce « parapluie » et d'espèce emblématique « porte drapeau ».

Actuellement, très peu d'études se sont penchées sur les analyses de risques pouvant toucher les populations de tortues marines bien que la maladie soit signalée comme facteur contributif principal du déclin d'espèces de tortues marines et pose ainsi des contraintes dans les plans de conservation (Herbst et al., 2003). L'étude de Mashkour et al. (2020) est un des premiers projets basés sur l'évaluation des risques d'apparitions de maladies dans une population de tortues marines. En effet, ces risques sont divisés en maladies causées par des agents infectieux et maladies causées par des agents non infectieux d'origine humaine, environnementale ou physiologique.

Dans le cadre de la première partie de ce projet de stage, certains agents responsables de maladies touchant les tortues marines ont été identifiés, notamment *Citrobacter freundii* impactant les écailles des reptiles (Köbölkuti, 2008), et *Fusarium spp.*, responsable d'infection tégumentaire chez les tortues marines adultes (Garcia-Hartmann, 2016). Toutefois, ils n'apparaissent pas assez fréquemment pour confirmer leur responsabilité dans le noircissement des carapaces des tortues caouannes. De plus, étant donné que les prélèvements d'échantillons d'écailles n'ont pas été réalisés, depuis toutes ces années, par une seule et même personne, on ne peut écarter le biais d'une possible contamination de certains écouvillons. De même, lorsque qu'une tortue est pêchée accidentellement, les pêcheurs sont obligés de la manipuler en la maintenant par la carapace, sans gants ni autre protection. Étant donné le travail difficile des pêcheurs, il est évidemment impossible pour nous, stagiaires, chercheurs, soigneurs et responsables de Kélonia, de leur imposer un port de gants pour chaque manipulation de tortue pour éviter toute contamination.

De la même manière, il a été montré en 2006 par Jacobson que ces apparitions d'agents infectieux sont non spécifiques et rendent ainsi le diagnostic et la gestion des risques compliqués. Les bactéries, virus, parasites et champignons sont détectés chez les tortues marines mais les moyens de luttés et de prévention ne sont pas encore suffisamment appliqués et décrits dans la littérature (Manire, 2017). Ainsi, il est possible que des biais d'échantillonnages soient présents dans certains prélèvements et nous ne pouvons valider l'hypothèse selon laquelle des agents infectieux soient potentiellement responsables de l'apparition de ces marques noires.

Concernant les résultats histopathologiques des différentes coupes d'écailles des caouannes, certains points des analyses obtenues correspondent globalement aux résultats attendus. En effet, nous avons pu constater visuellement que l'épaisseur de la couche kératinisée de la coupe d'écaille affectée était relativement plus fine et semblait déstructurée par rapport à la coupe d'écaille saine. Les résultats du laboratoire nous confirment que pour les deux tortues récupérées vivantes, la différence d'épaisseur des lamelles de kératine est conséquente : l'épaisseur de la couche kératinisée située sur un épiderme sain est d'environ 340 µm par rapport aux lamelles de kératine touchées par l'affection variant de 61 à 87 µm d'épaisseur. De plus, la couche kératinisée affectée est encombrée par de nombreux amas noirs

mal délimités. Une hypokératose, soit une diminution significative de la kératinisation et ainsi de la couche cornée de l'épiderme, a ainsi été diagnostiquée pour les écailles comportant des lésions. L'hypokératose chez la tortue marine n'a pour le moment pas été associée à une pathologie en particulier dans la littérature (George, 1997 ; Eroume, 2010). Cependant, elle peut être la conséquence d'une hypervitaminose A. En effet, il a été montré par Eroume en 2010, qu'une hypervitaminose A, provenant d'une overdose de vitamine A, chez des tortues marines juvéniles peut provoquer des altérations cutanées telles que des vésicules, des ulcères et une hypokératose. Toutefois, il aurait fallu doser la concentration en vitamine A sur chaque tortue prise en compte afin de potentiellement lier cette hypokératose à une hypervitaminose A.

Ensuite, l'histologie a révélé que les épaisseurs d'épidermes des coupes d'écailles touchées par les marques noires et saines différaient également. Il semblerait que les épidermes d'écailles saines soient plus fins (30 à 37 μm) que les épidermes d'écailles affectées (59 à 63 μm) qui sont composés de cellules épidermiques dans lesquelles on peut observer des granules noirs intracytoplasmiques de nature mélanique probable. Le résultat d'analyse obtenu a classé les lésions comme peu spécifiques et sans inflammation associée ni agents pathogènes. Toutefois les lésions d'écailles affectées sont caractérisées par une acanthose et une hypokératose marquées avec mélanisation.

Les populations de tortues marines du monde entier coexistent avec le pétrole brut et autres contaminants relatifs aux métaux lourds et aux gaz relâchés massivement dans l'environnement. Ainsi, ces tortues marines consomment et s'encrassent de résidus pétroliers, qui par accumulation, peuvent fortement affecter leur espérance de vie (Witham et al., 1986). En effet, le cycle respiratoire des tortues marines les oblige à faire surface pour respirer, et les contraint donc à être en contact continu avec des résidus d'huile nocifs pour leur santé. Il a également été montré par Witham en 1978, que les tortues se nourrissent sélectivement dans les lignes de convergence de courants marins, surfaces où les tortues ingèrent leur nourriture ainsi que des polluants, et prolongeraient alors leur contact avec des résidus pétroliers. Chez les caouannes, toutes les espèces animales qu'elles consomment et, donc les matières étrangères, peuvent rester dans leur système digestif pendant des semaines, voire plusieurs mois (George, 1997). Dans l'étude de Witham (1978), toutes les caouannes ayant été exposées au pétrole brut relâché en mer ont présenté des signes cliniques tel que le décollement de la peau par couches, sur le cou et les nageoires. La peau de ces caouannes n'avait pas la même texture solide de l'épiderme d'origine. De plus, des changements histologiques ont aussi été relevés chez les tortues après exposition aux polluants maritimes. Une dysplasie de l'épithélium épidermique définie par une perte d'uniformité cellulaire a été rapportée ainsi qu'un changement prolifératif cellulaire anormal caractérisé par une acanthose et une hyperkératose.

En comparant avec les études décrites précédemment, nous remarquons certaines similitudes entre les problèmes rencontrés avec nos caouannes et celles de ces travaux, notamment la texture moins solide de l'épiderme atteint, les organes cibles touchés (cou et nageoires) et l'acanthose. Nous pouvons donc émettre l'hypothèse que les différences histologiques des coupes d'écailles observées chez nos caouannes sont la conséquence d'une probable contamination de celles-ci par des polluants. Cependant, nous ne pouvons que supposer et non confirmer étant donné que les dosages de contaminants n'ont pu être mis en place par manque de temps. De plus, il est important de noter que les tortues récupérées après la pêche accidentelle, peuvent passer environ deux mois au centre de soins sans manger.

Concernant la tortue caouanne Félix arrivée morte et touchée par l'affection par endroits, le résultat du laboratoire ne révèle aucune anomalie mise à part la présence de cellules mélaniques pour la coupe d'écaille pigmentée. La différence de résultats entre cette caouanne et celles précédemment décrites peut s'expliquer par le fait qu'ayant été pêchée morte, Félix a été directement placée dans un congélateur par les pêcheurs jusqu'à sa récupération par le centre de soins. De ce fait, la structure et les propriétés des écailles atteintes et saines ont certainement dû être altérées et biaisées par la température

très négative du congélateur. De plus, nous devons prendre en compte que l'analyse n'a pas été réalisée par la même personne et le même laboratoire (LABONIRIS), pouvant jouer dans la différence de résultats obtenus.

Par la suite, afin de tester si les marques noires s'estompent et disparaissent au fur et à mesure du temps uniquement grâce aux bains à la chloramine T (HALAMID®), au formol dilué et au brossage hebdomadaire des tortues, j'ai pu demander, avec l'accord du vétérinaire du centre, aux soigneurs responsables de ces tâches de ne pas traiter la tortue caouanne Célou avec le protocole habituel pour pouvoir ainsi comparer l'évolution de sa carapace avec celle de la tortue caouanne Mona. Nous n'observons cependant pas de grandes différences visuelles entre l'évolution des taches sur la carapace de Mona par rapport à celle de la tortue Célou (cf. annexe 7) et nous pouvons ainsi supposer que l'affection ne s'estompe pas forcément grâce aux soins externes hebdomadaires habituels effectués par les soigneurs. Dans son étude, Witham (1978) a également relevé qu'après environ un mois d'exposition à l'huile brute, la peau des tortues avait retrouvé sa structure et texture naturelle. Dans ce cas-là et par rapport aux informations citées au-dessus, nous pouvons appuyer l'hypothèse que les polluants relâchés en mer peuvent représenter un facteur de risque dans le noircissement des carapaces chez les caouannes.

Par ailleurs, les pathologies peuvent également être causées par des agents non infectieux d'origine humaine, environnementale ou d'origine physiologique de l'individu (Mashkour et al., 2020) ; ce qui a représenté la deuxième partie d'hypothèse du projet de stage. Leur émergence est notamment due à des menaces naturelles d'origine humaine telles que la pollution bio-toxique, les collisions avec des bateaux, la pêche accidentelle et la pollution plastique (George, 1997). Dans notre cas, les chocs avec les bateaux ne sont pas responsables de l'affection étant donné que nous n'observons pas de lésions cicatricielles sur les tortues récupérées. Afin de tester si une zone de pêche accidentelle, soit une zone océanique particulière, jouait un rôle dans la formation de l'affection sur la carapace des caouannes récupérées, nous avons délimité spatialement deux zones fictives basées sur les courants océaniques transportant les tortues caouannes.

Par ces deux zones nous avons obtenu une p-value de 0,3767, soit supérieure au seuil critique de probabilité α de 0,05, en comparant la moyenne de la surface noircie des tortues situées en zone 1 par rapport à la moyenne de la surface de noircissement des tortues se trouvant en zone 2. Un résultat indiquant que nous pouvons supposer que la surface de noircissement des carapaces ne diffère pas selon les zones géographiques où sont pêchées accidentellement les caouannes et donc, qu'il ne semble pas y avoir de corrélation entre la zone de lieux de capture accidentelle et la formation de marques noires sur leur carapace. Bien que le test statistique ait présenté un résultat significatif pour cette hypothèse, nous ne pouvons pas généraliser ou extrapoler ce résultat obtenu à l'échelle de la population des caouannes de l'océan Indien.

Une autre étude, réalisée sur les caouannes de Louisiane aux Etats-Unis, a présenté des résultats similaires à l'étude de Witham (1978) présentée précédemment, portant sur la santé des populations de tortues marines altérée par des polluants bruts. Les tortues de mer ingèrent accidentellement du pétrole non raffiné en remontant à la surface pour se nourrir (Kunito et al., 2008). Après ingestion, ce pétrole est retrouvé, comme dans l'étude précédente, dans des organes tels que les yeux, la peau, l'œsophage supérieur et les selles. Les tortues exposées à l'huile brute avaient jusqu'à quatre fois plus de globules blancs et jusqu'à moitié moins de globules rouges (Lutcavage et al., 1994).

De même, une étude très récente parue en janvier 2020 et réalisée par Wallace et al., a traité l'influence de l'extraction et du transport des hydrocarbures sur la biodiversité des fonds marins et de leurs habitats, ainsi que les menaces de ces déversements pétroliers épisodiques sur les tortues marines. Durant cette étude, ils ont estimé le nombre de marées noires incidentes de 1957 à 2017 impactant les tortues marines dans les océans du monde et ont montré que l'océan Indien était notamment touché par

de grandes nappes de marées noires. Ces marées flottantes d'hydrocarbures se trouvent relativement proches des côtes du nord de l'océan Indien : des Golfes Persique, d'Oman et d'Aden et pas loin des côtes indiennes, thaïlandaises et indonésiennes. Dans la zone sud de l'océan indien, la côte ouest de l'Australie est considérée comme l'une des plus touchées par les marées noires, et le SOOI regroupant la côte Est de Madagascar, l'île de La Réunion, Maurice et les îles éparses est également une zone touchée par cette pollution (cf. annexe 8).

L'emplacement de ces marées polluantes dans l'océan Indien semblent en effet correspondre aux zones de naissances, notamment sur les côtes d'Oman, et de navigation par courants marins des caouannes. De ce fait, nous pouvons supposer que l'activité humaine, par extractions et déversements de contaminants dans l'océan, représente un facteur de risque potentiel très dangereux pour la santé des tortues marines, et pourrait aussi, au vu des autres études antérieurement décrites, jouer un rôle dans la formation de l'affection des écailles des caouannes.

Pour finir, nous avons évalué si des données physiologiques, telle que la taille, -représentée par la longueur courbe de la carapace des caouannes (cm)-, des individus pouvaient influencer sur l'apparition des taches noires. Dans ce dernier test de Spearman nous avons décidé de ne pas distinguer les tortues atteintes et non atteintes étant donné que les tortues arrivées saines ne représentaient que 12 individus de notre échantillon total. Nous avons obtenu par ce test une faible relation entre la taille des tortues caouannes impactées ou non et la surface de noircissement des carapaces. Cependant, nous obtenons un coefficient de corrélation de Spearman 0,1086, supérieur à 0, indiquant que nos deux variables d'intérêt semblent évoluer dans le même sens. C'est-à-dire qu'il semblerait que plus la tortue soit grande, plus la surface de noircissement est étendue sur la carapace. Un paramètre à prendre en compte mais non valable étant donné que nous n'obtenons pas de différences significatives entre nos deux variables (p -value > 0,05). Pour le moment, il n'a pas encore été décrit dans la littérature chez les tortues marines, qu'à partir d'une certaine taille ou d'un certain âge, les tortues étaient propices à être plus sensibles aux maladies. Par ce résultat, nous ne pouvons valider l'hypothèse qu'une maladie non infectieuse pouvant être causée par des changements physiologiques de l'individu telle que la taille, soit responsable de l'affection observée chez les caouannes.

Durant ce projet de stage, plusieurs facteurs de risques potentiellement responsables de la cause du noircissement de la carapace des tortues caouannes de l'océan Indien ont été dégagés. Il est toutefois important de rappeler que les statistiques et analyses réalisées pour ce projet ne rendront pas de résultats significatifs représentant entièrement la réalité, mais révéleront plutôt un résultat de tendance. Ces facteurs de risques divisés en deux grandes hypothèses ont permis de poursuivre ce projet sur l'hyperpigmentation des carapaces des caouannes jusqu'à présent restée inconnue de la littérature biologique marine. Les champignons et bactéries que nous avons pu identifier se développent de façon opportuniste lorsque les tortues sont immunodéprimées, ce qui est le cas pour la plupart d'entre elles au centre de soins, cause de stress ajouté à celui de leur capture. Nous avons donc pu éloigner l'hypothèse que les germes soient responsables du noircissement des carapaces car d'une part, aucun d'entre eux n'a été retrouvé de manière assez fréquente sur la carapace des tortues, et d'autre part, la surface noircie s'estompe au fur et à mesure du temps passé au centre, -laissant place à la reconstruction de l'écaille naturelle-, malgré le stress que subissent les tortues. L'environnement semble alors être le facteur responsable principal de ce phénomène d'hyperpigmentation de carapace des caouannes puisque les cas récupérés au centre et placés dans des bassins propres et individuels guérissent systématiquement.

Conclusion

Cette étude a permis de poursuivre le projet visant à déterminer les origines et causes de la formation des marques noires sur la carapace des tortues caouannes. En cinq mois de stage, nous avons pu dégager les facteurs de risques potentiels du noircissement de la carapace en se basant sur deux types d'hypothèses. La première, savoir si la formation de l'affection était due à des maladies infectieuses d'origine bactérienne ou mycologique. La seconde, si des maladies non-infectieuses causées par des agents environnementaux, physiologiques ou d'origine humaine pouvaient être responsables de l'apparition du noircissement des carapaces.

Tout d'abord, par les différentes analyses, nous n'avons pas relevé d'agents pathologiques infectieux suffisamment récurrents et pertinents pour pouvoir supposer qu'ils jouent un rôle dans l'hyperpigmentation des écailles. Ensuite, nous savons que les tortues marines sont constamment exposées à des menaces d'origine anthropique, par la pêche accidentelle, et notamment par la pollution considérable de leur environnement. En effet, une trop grande quantité d'oligo-éléments, le plastique et les polluants pétroliers sont des facteurs influant sur la santé et les maladies des populations de tortues caouannes. De plus, sachant que la carapace des caouannes est un indicateur utile pour la surveillance des métaux lourds ingérés, il semblerait alors que l'environnement des tortues caouannes, dégradé par l'intervention des hommes, représente le facteur de risque principal des marques noires rapportées sur la majeure partie des carapaces des sujets récupérés pour cette étude.

D'autres points doivent cependant aussi être étudiés afin de poursuivre une analyse plus approfondie sur le sujet. Le dosage de contaminants, -hydrocarbures, métaux lourds, plastique-, sur la carapace, dans le sang et les fèces, ainsi que le relevé des différents paramètres sanguins, font ainsi partie des analyses prioritaires. Aussi, les relations entre les flux migratoires des tortues et les marées noires seront difficiles à mettre en œuvre mais toutefois intéressantes pour mesurer l'ampleur de l'exposition aux eaux polluées des tortues marines. Bien que l'affection n'engendre pas la mortalité des tortues, il serait intéressant d'étudier si l'alimentation peut également jouer un rôle dans ce phénomène et de poursuivre les prélèvements réalisés pour cette étude, décrits en partie II. Améliorer les connaissances sur la biologie de cette espèce dans la région sud-ouest de l'océan Indien permettrait la mise en place d'actions de conservation, par une approche One Health, et de programmes de surveillance efficaces de par le monde. Enfin, il est recommandé que les ressources et documentations sur les tortues marines et les marées noires soient hiérarchisées afin d'analyser la cooccurrence de la maladie de ces espèces marines et de la présence du pétrole brut. Ceci nous permettrait de confirmer que la pathologie de ces populations marines est causée par la dégradation de son environnement par l'intervention humaine.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ATSDR (1999). Agency for Toxic Substances and Disease Registry. U.S. Department of Health and Human Services. Atlanta, USA. Toxicological Profile for Lead (<http://www.atsdr.cdc.gov>).

Avens, L., Goshe, L.R., Coggins, L., Snover, M.L., Pajuelo, M., Bjorndal, K.A., and Bolten, A.B. (2015). Age and size at maturation-and adult-stage duration for loggerhead sea turtles in the western North Atlantic. *Mar. Biol.* 162, 1749–1767.

AVMA (2008). One health: A new professional imperative. *American Veterinary Medical Association*.

Bjorndal K.A. and Jackson J.B.C. (2003). Roles of Sea Turtles in Marine Ecosystems: Reconstructing the Past, *In The Biology of Sea Turtles Vol II*, pp 259-273.

Bolten, A.B. (2003). Variation in sea turtle life history patterns: neritic vs. oceanic developmental stages. *In The Biology of Sea Turtles Vol II*, pp 243–257.

Bourjea, J. (2014). Structure et connectivité de la mégafaune marine à l'échelle d'une région océanique: enjeux pour la gestion durable des tortues vertes dans l'océan Indien occidental.

Bouvard J. (1992). Thèse pour le titre de docteur vétérinaire : Contribution à l'étude des affections tégumentaires des tortues terrestres méditerranéennes.

Bowen, B.W., Nelson, W.S., and Avise, J.C. (1993). A molecular phylogeny for marine turtles: trait mapping, rate assessment, and conservation relevance. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 90, 5574–5577.

Boyle, M., FitzSimmons, N., Limpus, C., Kelez, S., Velez-Zuazo, X., Waycott, M., (2009). Evidence for transoceanic migrations by loggerhead sea turtles in the southern Pacific Ocean. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 276, 1993–1999.

Briscoe DK, Parker DM, Balazs GH, Kurita M, Saito T, Okamoto H, Rice M, Polovina JJ, Crowder LB. (2016) Active dispersal in loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) during the 'lost years'. *Proc. R. Soc. B* 283: 20160690. <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2016.0690>

Caldwell D. K. (1962). Growth measurements of young captive Atlantic sea turtles in temperate waters. Los Angeles Co. Mus., Contrib. Sci. No. 50: 1-8.

Campbell, L.M. (2003). Contemporary Culture, Use, and Conservation of Sea Turtles. *In The Biology of Sea Turtles Vol II*, pp 307-331.

Carpentier, C. Jean, M. Barret, A. Chassagneux, S. Ciccione (2016). Stability of facial scale patterns on green sea turtles *Chelonia mydas* over time: A validation for the use of a photo-identification method. *In Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 476:15-21.

Casale P. (2015). *Caretta caretta* (North West Indian Ocean subpopulation). The IUCN Red List of Threatened Species 2015: e.T84127873A84127992. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2015.4.RLTS.T84127873A84127992.en>.

Casale P., Mazaris A.D., Freggi D. (2011). Estimation of age at maturity of loggerhead sea turtles *Caretta caretta* in the Mediterranean using length-frequency data. *Endangered Species Research*, Vol. 13: 123-129.

Casale, P., Tucker, A.D. 2015. *Caretta caretta*. 2015. The IUCN Red List of Threatened Species 2015: e.T3897A83157651. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2015.4.RLTS.T3897A83157651.en>.

Chen, I.H., Yang, W., Meyers, M.A. (2015). Leatherback Sea Turtle Shell: A Tough and Flexible Biological Design, *Acta Biomaterialia*.

Cherepanov G.O. (2013). Patterns of Scute Development in Turtle Shell: Symmetry and Asymmetry.

Ciccione S. and Bourjea J. (2010a). Discovering behaviour of open sea stages of sea turtles: working flipper on hand with fishermen in Réunion. *Indian Ocean turtle newsletter*, p50-52.

- COSEPAC. (2010). Évaluation et Rapport de situation du COSEPAC sur la tortue caouanne (*Caretta caretta*) au Canada. Comité sur la situation des espèces en péril au Canada. Ottawa. viii + 82.
- Cury P. (2019). Biodiversité marine exploitée et changement climatique. *Plateforme Océan et Climat – Fiches scientifiques*. www.ocean-climate.org, pp 63-67.
- Dalleau M., Hoarau L., Lalire M., Gaspar P., Tardy C., Jaquemet S., Bossert J., Ciccione S., Bourjea J. (2016). Projet COCALOCA-R9, Connectivité des populations de tortues Caouannes (*Caretta caretta*) dans l'ouest de l'océan Indien : mise en place de mesures de gestions locales et régionales.
- Day, R.D., Christopher, S.J., Becker, P.R., Whitaker, D.W., 2005. Monitoring mercury in the loggerhead sea turtle, *Caretta caretta*. *Environ. Sci. Technol.* 39, 437–446.
- Di Ianni F., Dodi P.L., Cabassi C.S., Pelizzone I., Sala A., Cavirani S., Parmigiani E., Quintavalla F., Taddei S. (2015) Conjunctival flora of clinically normal and diseased turtles and tortoises. *Veterinary Research*. DOI 10.1186/s12917-015-0405-x.
- Dodd C. Kenneth, Jr. (1988). Synopsis of the biological data on the Loggerhead Sea Turtle *Caretta caretta* (Linnaeus 1758). U.S. Fish Wildl. Serv., Biol. Rep. 88(14). 110 pp.
- Eroume K.S. (2010). La fibropapillomatose des tortues marines : étude bibliographique.
- Flint M., Patterson-Kane J.C., Limpus C.J, Mills P.C. (2010). Health surveillance of stranded Green turtles in southern Queensland, Australia (2006-2009): An epidemiological analysis of causes of disease and mortality. *EcoHealth*. 2010; 7:135-145.
- Frazer N.B. and Schwartz F.J., (1984). Growth curves for captive loggerhead turtles, *Caretta caretta*, in North Carolina, USA. *Bull. Mar. Sci.* 34: 485-489.
- Frick M.G., K.L. Williams, and M. Robinson. 1998. Epibionts associated with nesting loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) in Georgia, USA. *Herpetol. Rev.* 29:211–214.
- Garcia-Hartmann M., Hennequin C., Catteau S., Béatini C., Blanc V. (2016) Clusters of *Fusarium solani* infection in juvenile captive born *Caretta caretta* sea turtles. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mycmed.2016.12.001> 1156-5233/#2016 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.
- George R.H. (1997) Health problems and diseases of sea turtles. *In The Biology of Sea Turtles Vol I*. Lutz P.L., Musick J.A., editors Florida: CRC Press; 1997.
- Gross T.S., Crain D.A., Bjorndal K.A., Bolten A.B., Carthy R.R. (1995) Identification of Sex in Hatchling Loggerhead Turtles (*Caretta caretta*) by Analysis of Steroid Concentrations in Chorioallantoic/Amniotic Fluid. *General and Comparative Endocrinology*.99:204-210.
- Hawkes L.A., Broderick A.C., Coyne M.S., Godfrey M.H., and Godley B.J. (2007). Only some like it hot—quantifying the environmental niche of the loggerhead sea turtle. *Divers. Distrib.* 13, 447–457.
- Hawkes L.A., Broderick A.C., Coyne M.S., Godfrey M.H., Lopez-Jurado L.-F., Lopez-Suarez P., Merino S.E., Varo-Cruz N., and Godley B.J. (2006). Phenotypically linked dichotomy in sea turtle foraging requires multiple conservation approaches. *Curr. Biol.* 16, 990–995.
- Hawkes L.A., Broderick A.C., Godfrey M.H., and Godley B.J. (2009). Climate change and marine turtles. *Endanger. Species Res.* 7, 137–154.
- Herbst L.H and Jacobson E.R. (2003). Practical approaches for studying sea turtle health and disease. *In The Biology of Sea Turtles Vol II*, pp386-408.
- Hirayama, R. (1997). Distribution and diversity of Cretaceous chelonoids. *Anc. Mar. Reptil.* 225–241.
- Jacobson E.R., Cheatwood J.L., Maxwell L.K. (2000). Mycotic Diseases of Reptiles.
- Jacobson E.R., Homer B.L., Stacy B.A., Greiner E.C., Szabo N.J., Chrisman C.L. and al. (2006). Neurological disease in wild loggerhead sea turtles *Caretta caretta*. In *Diseases of Aquatic Organisms*. Vol. 70(1-2):139-54.

- Jean C., Ciccione S., Talma E., Ballorain K., Bourjea J. (2010). Photo-identification method for green and hawksbill turtles, first results from Reunion.
- Keller J.M., Kucklick J.R., Stamper M.A., Harms C.A., McClellan-Green P.D. (2004). Associations between Organochlorine Contaminant Concentrations and Clinical Health Parameters in Loggerhead Sea Turtles from North Carolina, USA. *Environmental Health Perspectives*. 112(10):1074-9.
- Keller J.M., Pugh R.S., Becker P.R (2014). Biological and Environmental Monitoring and Archival of Sea Turtle Tissues (BEMAST): Rationale, Protocols, and Initial Collections of Banked Sea Turtle Tissues. *Chemical Sciences Division, Material Measurement Laboratory*.
- Köbölkuti L.B., G.Á. Czirják, D. Cadar, A. Ungvári, A. Uricaru (2008). Septicemic/Systemic cutaneous ulcerative diseases (SCUD) in captive red eared slider (*Trachemys Scripta elegans*). *Bulletin USAMV Veterinary Medicine* p.362, 65(2)/2008.
- Kunito T., Kubota R., Fujihara J., Agusa T., Tanabe S. (2008). Arsenic in Marine Mammals, Seabirds and Sea Turtles. In *Environmental Contamination and Toxicology*, pp32-55.
- Lescure J. (2001) Les tortues marines : biologie et statut. Margaritoulis D., Demetropoulos A., (editors), In *Proceedings, First Mediterranean Conference on marine Turtles. Barcelona Convention – Bern Convention –Bonn Convention (CMS)*. Nicosia, p. 37-49.
- Lewis R.L., Freeman S.A. and Crowder L.B. (2004). Quantifying the effects of fisheries on threatened species: the impact of pelagic longlines on loggerheads and leatherback sea turtles. In *Ecology Letters*, 7: 221-231.
- Limpus C. (1979). Notes on growth rates of wild turtles. *Mar. Turtle Newsl.* No.10: 3-5.
- Lutcavage M.E., Lutz P.L., Bossart G.D., Hudson D. (1994). Physiologic and Clinicopathologic Effects of Crude Oil on Loggerhead Sea Turtles. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 28,417-422 (1995).
- Manire C, M. Norton T, A. Stacy B, Innis C, Harms C. (2017). *Sea Turtle Health and Rehabilitation*. J. Ross publishing 2017.
- Mansfield K.L. and Putman N.F. (2013). Oceanic Habits and Habitats *Caretta caretta*. In *the Biology of Sea Turtles Vol III*, pp 189-205.
- Mansfield KL, Wyneken J, Porter WP, Luo J. (2014). First satellite tracks of neonate sea turtles redefine the ‘lost years’ oceanic niche. *Proc. R. Soc. B* 281: 20133039. <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2013.3039>
- Mashkour N., Jones K., Hipolito T.V., Kophamel S., Ashasan S., Walker G. and al. (2020). Disease Risk Analysis in sea turtles: A baseline study to inform conservation efforts. <https://doi.org/10.1101/2020.03.10.985432>.
- Mattei D., Veschetti E., D’Ilio S., Blasi M.F. (2015) Mapping elements distribution in carapace of *Caretta caretta*: A strategy for biomonitoring contamination in sea turtles? *Mar. Pollut. Bull.*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.06.001>
- Monzón-Argüello C., Rico C., Carreras C., Calabuig P., Marco A., and López-Jurado L.F. (2009). Variation in spatial distribution of juvenile loggerhead turtles in the eastern Atlantic and western Mediterranean Sea. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 373, 79–86.
- Mora C., Tittensor D.P., Adl S., Simpson A.G., and Worm B. (2011). How many species are there on Earth and in the ocean? *PLoS Biol* 9, e1001127.
- Musick J.A. and Limpus C.J. (1997). Habitat Utilization and Migration in Juvenile Sea Turtles. In *the Biology of Sea Turtles Vol I*, pp 137-163.
- Myers N., Mittermeier R.A., Mittermeier C.G., Da Fonseca G.A., Kent J. (2000). Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403, 853–858.
- Nel R., Casale P. 2015. *Caretta caretta* (South West Indian Ocean subpopulation). The IUCN

- Nemeghaire S., et al. (2014) The ecological importance of the *Staphylococcus sciuri* species group as a reservoir for resistance and virulence genes. *Vet. Microbiol.* <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.02.005>.
- Orós J., Torrent A., Calabuig P., Déniz S. (2005). Diseases and causes of mortality among sea turtles stranded in the Canary Islands, Spain (1998–2001). In *Diseases of aquatic organism* Vol. 63:13-24.
- Osiris M. (2019). Bilan des pontes des tortues vertes (*Chelonia mydas*, Linnaeus 1758) Emma et Gaby à la Réunion depuis 2007. Rapport interne non publié.
- Peckham, S., Maldonado Diaz, D., Tremblay, Y., Ochoa, R., Polovina, J., Balazs, G., Dutton, P., Nichols, W. (2011). Demographic implications of alternative foraging strategies in juvenile loggerhead turtles *Caretta caretta* of the North Pacific Ocean. *Marine. Ecology Progress Series*, Vol. 425: 269–280.
- Phelan S.M. and Eckert K.L. (2006). Marine Turtle Trauma Response Procedures: a field guide. WIDECAST Technical Report No. 4.
- Plotkin P. T. (2003). Adult Migrations and Habitat Use. In *The Biology of Sea Turtles Vol II*, pp 225-233.
- Plotkin P.T. (2010). Nomadic behaviour of the highly migratory olive ridley sea turtle *Lepidochelys olivacea* in the eastern tropical Pacific Ocean. *Endanger. Species Res.* 13, 33–40.
- Putman N.F., Verley P., Shay T.J., and Lohmann K.J. (2012). Simulating transoceanic migrations of young loggerhead sea turtles: merging magnetic navigation behavior with an ocean circulation model. *J. Exp. Biol.* 215, 1863–1870.
- Red List of Threatened Species 2015: e.T84199475A84199755. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2015-4.RLTS.T84199475A84199755.en>.
- Sakai, H., Saeki, K., Ichihashi, H., Suganuma, H., Tanabe, S., Tatsukawa, R., (2000). Species-specific distribution of heavy metals in tissues and organs of loggerhead turtle (*Caretta caretta*) and green turtle (*Chelonia mydas*) from Japanese coastal waters. *Mar. Pollut. Bull.* 40, 701–709.
- Senties G.A., J. Espinoza-Avalos, and J.C. Zurita. 1999. Epizoic algae of nesting sea turtles *Caretta caretta* (L.) and *Chelonia mydas* (L.) from the Mexican Caribbean. *Bull. Mar. Sci.* 64:185–189.
- Shamblin B.M., Bolten A.B., Abreu-Grobois F.A., Bjorndal K.A., Cardona L., Carreras C., Clusa M., Monzón-Argüello C., Nairn C.J., and Nielsen J.T. (2014). Geographic patterns of genetic variation in a broadly distributed marine vertebrate: new insights into loggerhead turtle stock structure from expanded mitochondrial DNA sequences. *PLoS One* 9, e85956.
- Sheryan P. E. (2003). Fisheries-Related Mortality and Turtle Excluder Devices (TEDs). In *The Biology of Sea Turtles Vol II*, pp 339-353.
- Storelli M.M., Storelli A., D’Addabbo R., Marano C., Bruno R., Marcotrigiano G.O., (2005). Trace elements in loggerhead turtles (*Caretta caretta*) from the eastern Mediterranean Sea: overview and evaluation. *Environ. Pollut.* 135, 163–170.
- SWOT, The State of The World’s Sea Turtles (2020). Special feature: Sea Turtles of The Caribbean, report XV, www.seaturtlestatus.org/swot-report
- Vander Zanden H.B., Pfaller J.B., Reich K.J., Pajuelo M., Bolten A.B., Williams K.L., Frick M.G., Shamblin B.M., Nairn C.J., Bjorndal K.A. (2014). Foraging areas differentially affect reproductive output and interpretation of trends in abundance of loggerhead turtles. *Mar. Biol.* 161, 585–598.
- Wallace B.P., Stacy B.A., Cuevas E., Holyoake C., Lara P.H., Marcondes A.C.J. et al. (2020). Oil spills and sea turtles: documented effects and considerations for response and assessment efforts. In *Marine pollution and endangered species research* Vol. 41: 17-37, 2020. <https://doi.org/10.3354/esr01009>.
- Wibbels T. (2003). Critical approaches to Sex Determination in Sea Turtles. In *The Biology of Sea Turtles Vol II*, pp 103-134.

Witham P.R. (1978) Does a problem exist relative to small sea turtles and oil spills? In: *Proceedings of a conference on the assessment of ecological impacts of oil spills*, 14-17 June 1978.

Witham R., Ehrhart L., Conley W., Van Vleet E., Bossart G. (1986) Final Report. Study of the effect of oil on marine turtles. Minerals Management Service Contract Number 14-12-0001- 30063, Florida Inst. Of Oceanography.

Wyneken J. (2001). The anatomy of sea turtles. In: *NOAA Technical memorandum NMFS-SEFSC-470*. National Marine Fisheries Service, Miami, p. 1-172.

Wyneken J. and Lolavar A. (2015). Loggerhead Sea Turtle Environmental Sex Determination: Implications of Moisture and Temperature for Climate Change Based Predictions for Species Survival. In *Journal of Experimental Zoology, part B Molecular and developmental evolution*.

Wyneken, J. (2003). The External Morphology, Musculoskeletal System, and Neuro-Anatomy of Sea Turtles. In *the Biology of Sea Turtles Vol II*, pp 40-77.

Zimm R., Bentley B.P., Wyneken J., Moustakas-Verho J.E. (2017). Environmental Causation of Turtle Scute Anomalies. In *Integrative and Comparative Biology*, Vol 57, number 6, pp. 1303-1311.

WEBOGRAPHIE

<http://www.fao.org/fisheries/fr/> consulté le 07.04.2020

<http://www.ipreunion.com/actualites-reunion/reportage/2018/08/16/pollution-lumineuse-des-led-rouges-pour-preserver-la-ponte-des-tortues-marines,88781.html> consulté le 07.04.2020

<https://www.seaturtlestatus.org/swot-report> consulté le 12.04.2020

<https://www.theguardian.com/environment/2020/apr/20/coronavirus-lockdown-boosts-numbers-of-thailands-rare-sea-turtles> - 06.05.2020 consulté le 18.04.2020

<https://wwz.ifremer.fr/Espace-Presse/Communiqués-de-presse/Covid-19-L-Ifremer-uni-et-solidaire> - consulté le 06.05.2020

<https://www.who.int/features/qa/one-health/fr/> consulté le 11.05.2020

Table des annexes

ANNEXE 1 : PROTOCOLE DE PRISE EN CHARGE A L'ARRIVEE DES TORTUES	44
ANNEXE 2 : TROIS MODELES DISTINCTS DE CYCLES DE VIE DE DERIVE BIOLOGIQUE DES TORTUES MARINES (BOLTEN, 2003).	45
ANNEXE 3 : COURBES D'ESTIMATION D'AGE EN FONCTION DE LA LONGUEUR COURBE (MM) DE CARAPACES DE CAOUANNES (PARHAM ET ZUG, 1997).....	45
ANNEXE 5 : EXEMPLE DE DESQUAMATION D'ECAILLE DE CARAPACE DE CAOUANNE (CC LORENZA) CAUSEE PAR LA MARQUE NOIRE. (©CENTRE DE SOINS KELONIA).....	47
ANNEXE 6 : RESULTATS D'HISTOLOGIQUES DES ECHANTILLONS D'ECAILLES AFFECTEES ET SAINES DES TORTUES CAOUANNES CELOU ET MONA (2020).	48
ANNEXE 7 : SUIVI PHOTOGRAPHIQUE DE L'EVOLUTION DES MARQUES NOIRES DES CARAPACES DES CAOUANNES ASTERIX (2016) ET CELOU (2020).	50
ANNEXE 8 : CARTE REPRESENTANT LES INCIDENTS MONDIAUX DE MAREE NOIRE, Y COMPRIS CEUX DANS LESQUELS DES TORTUES MARINES AURAIENT ETE TOUCHEES (N = 22) (WALLACE ET AL., 2020).	51



MISE

EN

QUARANTAINE

I. A l'arrivée

- Relever coordonnées GPS (latitude/longitude, date, espèce)
- Examen clinique
- Pesée, mesures (LD et LC)
- Photographies : profils, carapace et écailles préfrontales
- Prélèvement de selles pour coprologie et bactériologie
- Prélèvement de sang pour analyse B12 et NF
- Prélèvement de peau pour analyses génétique et isotopique
- Prélèvement de carapace (Biopsy punch)
- Écouvillonnage carapace
- Isolement dans un bac quarantaine du CDS

❖ Pour phénomène taches noires :

- Écouvillonnage écaille noircie + écaille saine
- Dosage contaminants dans le sang (hydrocarbure, métaux lourds, plastique...)

II. Mise en isolement, traitements et observations

- **Némisol** : 1ml / 10kg avec un rappel au bout de 3 semaines (**10ml max**)
- **Troivit** : 1ml / 25kg (IM)
- **Ornipural** : 1ml / 10kg une fois par jour pendant 5 jours (IM)
- **Métacam Bovin** : 0,1ml / 10kg tous les 2 jours pendant 10 jours (IM)
- **Kétofen (pour les Ce)** : 0,2ml / 10kg tous les 3 jours pendant 15 jours (IM)
- **Forcyl** : 1ml / 10kg tous les 3 jours pendant 20 jours
- Bain de Formol : 250ml / m³ pendant 1 heure
- Ou Halamid : 15g / 1000l pendant 1 heure
- Bain d'eau douce pour réhydrater

Si présence d'un hameçon :

Pour les Imbriquées et Olivâtres :

- **Draxxin** : 1,5ml / 40kg 1 fois / semaine (IM)
- **Florkem** : 0,5ml / 10kg 1 fois / jour pendant 30 jours

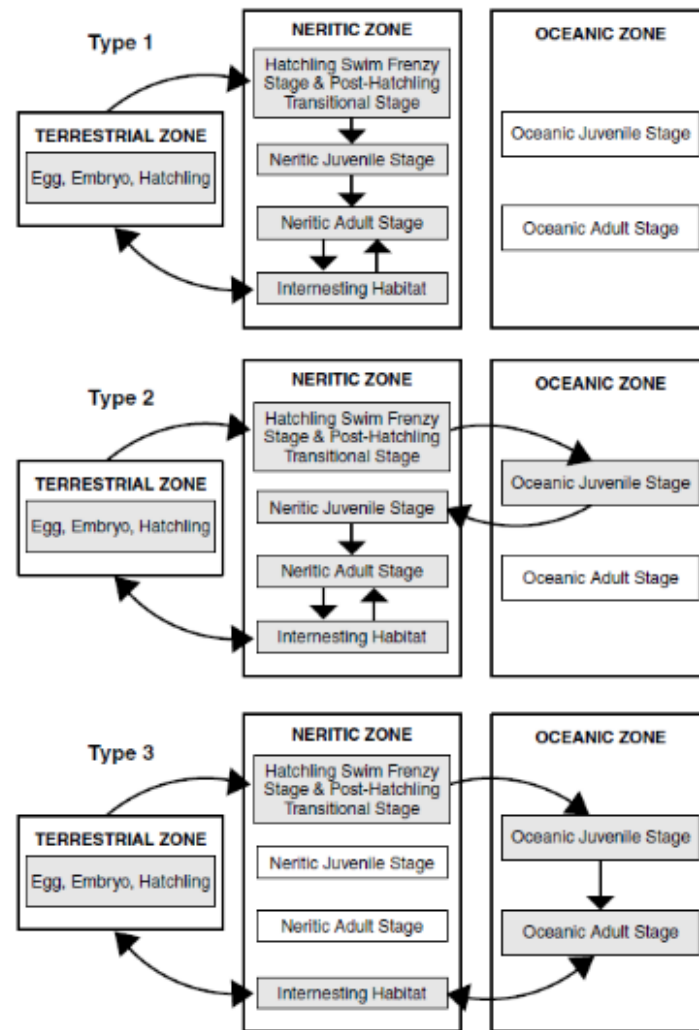
→ Limiter les pressions sur les points d'appui, utiliser tapis ou pneu pour les olivâtres.

Pour les Caouannes et Vertes : **Shotapen** : 1ml / 10kg en 3 fois à 3 jours d'intervalle

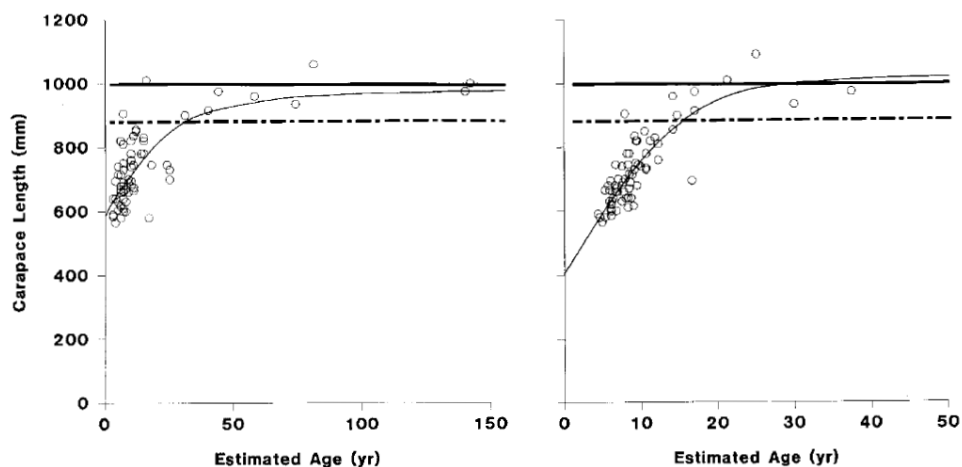
4 semaines après l'intervention chirurgicale, traitement antiparasitaire (en gavage) :

- **Flagyl 4%** : 1,5ml / kg 2 fois à 3 jours d'intervalle
- **Cestocur** : 1ml / kg pendant 3 jours à suivre
- **Panacur** : 1 seringue / 80kg 2 fois à 3 semaines d'intervalle

Annexe 2 : Trois modèles distincts de cycles de vie de dérive biologique des tortues marines (Bolten, 2003)



Annexe 3 : Courbes d'estimation d'âge en fonction de la longueur courbe (mm) de carapaces de caouannes (Parham et Zug, 1997)



Graphique gauche : estimation par comparaison des épaisseurs des couches des carapaces. Graphique droit : comparaison par rapport au graphe de gauche par l'équation de Von Bertalanffy.

Annexe 4 : Poster présenté à l'ISTS (International Sea Turtles Society) en 2017 exposant pour la première fois le phénomène des marques noires des carapaces des caouannes (Jean et al., 2017)

Uncommon scute lesions in loggerhead sea turtle, *Caretta caretta*, in the South West Indian Ocean



Kelsonia, The Observatory of marine turtles, 46 rue du General de Gaulle 97436 Saint Leu, La Réunion, France. Email: claire.jean.kelsonia@museesreunion.re Tel: (262) 262 348 110.



Jean, C.¹, J. Dando¹, M. Barret¹, F. Schneider² and S. Ciccione¹

¹Vetorun, Veterinary office, 1 Allée de la desserte ZI n° 2, 97410 Saint-Pierre, La Réunion, France.



SITUATION

Scute lesions have been observed in loggerhead sea turtles rescued by Kelsonia's clinic from 2010 to 2016. These turtles were incidental captures of local longline fisheries operating in the French EEZ around Reunion (Figure 1). The symptoms, already present at turtles' arrival, consisted in black patches covering mainly the rear of the carapace, and also the vertebral scutes or more for the individuals most affected (Figures 2 and 3). These blackened areas could also appear on flippers, the top of the head and skin (Figure 4).



Figure 1. Distribution of loggerhead turtles rescued at Kelsonia's clinic after bycatch from 2010 to 2016 according to the presence/absence of lesions (blackened scutes) on the carapace.

These black patches appeared as a result of decomposition of the underlying scutes that turned completely black while the overlying scutes peeled away. After spending almost one month at the clinic, new layers of keratin covered the shell again, and the scutes turned back to their natural orange-brown colour despite any specific treatment on the carapace besides prophylactic treatments (formaldehyde, antibiotics, brushing; Figure 4).



Figure 2. Theoretical pattern of progression of scute lesions: first the rear of the carapace (Z1), then the vertebral scutes (Z2) and, in most affected cases, the front coastal scutes (Z3). Figure 3. Example of the 3 main patterns of scute lesions observed in loggerhead turtles. From left to right: early stage, advanced, far advanced cases.

HYPOTHESES

- These lesions may be a result of:
- Plastic or contaminants ingestion
 - Dietary deficiency
 - Bacteria
 - Mycosis
 - Trauma

METHODS

To investigate the origin of these lesions, they were at first quantified for each individual from photos of the carapace taken at arrival. A factor was attributed to each scute blackened to assess the proportion of carapace affected: 0.25, 0.5, 0.75 and 1 according to the scute surface blackened. Then other photos were taken every week (as possible) to monitor the lesions resorption.

Correlation between proportion of carapace affected and ingested plastic weight was assessed from samples collected after excretion for live individuals or necropsy for dead ones.

Bacteriology, mycology and histology analyses were also conducted.



Figure 4. Lesion resorption in a far advanced case of loggerhead turtle rescued at Kelsonia's clinic in 2016.

WHAT'S NEXT ?

One more question remains: do this disease affect other sea turtles in other places of the world?

Despite apparently healthy turtles and no obvious sub-lethal or lethal effect on the turtles, at the least after treatment in a clinic, these lesions should be further investigated as a large part of the turtles rescued are affected (91% in 2016). Understanding the cause of this phenomenon may provide new insights in sea turtle health confronted to a deteriorating environment.

RESULTS

A sample of 70 loggerhead turtles was studied overall the turtles rescued from 2010 to 2016 (N=157; Figure 1). This sample depended on carapace photos availability. Among this sample, the disease affected 60 individuals (86%) on a mean proportion of 36% of the scutes (min = 3%; max = 87%; SD = 20%).

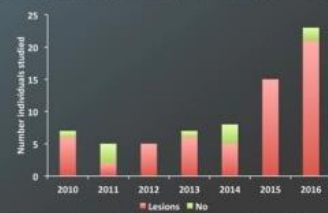


Figure 5. Proportion of loggerhead turtles presenting scute lesions on the carapace at arrival at Kelsonia's clinic from 2010 to 2016.

Despite an increase in the number of sea turtles rescued since 2010, the proportion of individuals affected remained stable during the period studied (Figure 5).

No relation with the location of capture was observed (Figure 1).

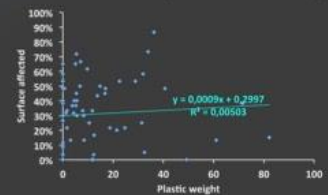


Figure 6. Correlation between surface affected by the lesions (black patches) and ingested plastic weight collected for each loggerhead turtle cured.

Results regarding ingested plastic weight revealed no correlation with the extent of the lesions (Figure 6), despite high quantities released (faeces) during at most two weeks spent at the clinic or collected during necropsy ($13.03g \pm 17.39$; min=0; max=82.15).

Bacteriology analyses revealed the presence of several bacteria commonly observed in sea turtles including *Citrobacter freundii* found in 2 samples (N=10).

Fungal cultures from surface samples collected with cotton swabs on the carapace were positive in 3 samples (N=7), and yielded to the identification of *Fusarium sp.* Fungal cultures are still in progress to identify the species.

No result could be presented here regarding histology since the analyses are still in progress.

DISCUSSIONS AND CONCLUSION

Against all odds, this preliminary study revealed no correlation between ingested plastic and the blackened scutes proportion on carapaces of loggerhead turtles rescued in Reunion. This result may be biased by an underestimate of the ingested plastic weight since this was measured from samples collected after arrival at the clinic. Turtles could have ingested more plastic and released a part of it before being caught by fishermen.

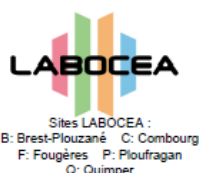
Contaminants analyses should be conducted to further investigate their involvement in this disease. No further conclusion can be drawn from the other analyses since the sample is low and they are still in progress (mycology and histology).

Annexe 5 : Exemple de desquamation d'écaille de carapace d'une caouanne (*Cc Lorenza*) causée par la marque noire (©Centre de soins Kélonia)



Annexe 6 : Résultats histologiques des échantillons d'écailles affectées et saines des tortues caouannes Célou et Mona (GIP LABOCEA, 2020)

Dossier :20-006021 - 0 Page 1/ 2



GIP LABOCEA

7 rue du Sabot - CS 30054 - 22440 PLOUFRAGAN
Tél. 02 96 01 37 22 - Fax 02 96 01 37 50
contact22@labocea.fr
N° SIRET : 130 002 082 00043 - Code APE : 7120 B

RAPPORT D'ESSAI 20-006021 - 0

Prélevé

SPL / RMR KELONIA
6 ALLEE DES FLAMBOYANTS
97424 PITON ST LEU

CA.VET ST PIERRE - VETORUN
1 ALLEE DE LA DESSERTTE
97410 ST PIERRE

Copie :

SPL / RMR KELONIA

Débitteur :

SPL / RMR KELONIA

Les données en bleu ont été fournies par le client.

Dossier n° : 20-006021	HISTOLOGIE TORTUE
------------------------	-------------------

Renseignements

Renseignements fournis par : Cabinet vétérinaire VETORUN
Motif de l'examen : Examen histologique sur prélèvements de tortues (4 flacons d'organes fixés reçus au LABOCEA22 le 06/03/20)
Secrétariat AUTOPSIE-BACTERIOLOGIE-DIAGNOSTIC: Tél : 02 96 01 37 72 - Fax : 02 96 01 37 74 - Mail: secretariat.anapath22@labocea.fr

Echantillon n° : 20-006021-001	
Reçu le : 06/03/2020 à 12:33	Prélevé le : 03/03/2020

Examen Histologique

Lecture des lames par : Dr Sophie LABRUT
Organes examinés : Réf. Tortue Cc Célou et Tortue Cc Mona
Nombre de blocs, de coupes, colorations : 4C-4P-HES

LESIONS OBSERVEES :

L'examen histopathologique porte sur des biopsies d'écailles de tortue et révèle, après décalcification (3 jours pour les écailles altérées et 10 jours pour les écailles saines) :

« Ecailles saines »

. un épiderme d'épaisseur comprise entre 30 et 37 micromètres, composé d'une couche basale de cellules cubiques hautes surmontées de cellules squameuses,
. surmonté de lamelles de kératine, épaisses, avec de rares amas mal délimités de granules noirs (épaisseur de la kératine d'environ 340 micromètres).

« Ecailles avec tâches noires »

. un épiderme d'épaisseur légèrement variable (comprise, entre 60 et 63 micromètres pour « Mona », entre 59 et 61 micromètres pour « Célou ») (acanthose), cellules épidermiques au sein desquelles on note la présence de granules noirs intracytoplasmiques (de nature mélanique probable : mélanisation),
. surmonté de lamelles de kératine, épaisses, avec de nombreux amas mal délimités de granules noirs (épaisseur de la kératine entre 79 et 87 micromètres pour « Mona » et entre 61 et 76 micromètres pour « Célou »)

Le rapport d'analyse ne concerne que les objets soumis à analyse, la reproduction de ce rapport n'est autorisée que sous sa forme intégrale.



Ce rapport a été signé électroniquement par LABRUT Sophie le 10/04/20 16:59:15



GIP LABOCEA

7 rue du Sabot - CS 30054 - 22440 PLOUFRAGAN

Tél. 02 96 01 37 22 - Fax 02 96 01 37 50

contact22@labocea.fr

N° SIRET : 130 002 082 00043 - Code APE : 7120 B

CONCLUSION :

Lésions sur les écailles « avec tâches noires » caractérisées par une acanthose et une « hypokératose » marquées, avec mélanisation.

Lésion peu spécifique, notamment sans inflammation associée et sans agent pathogène.

A confronter au contexte clinique (état général passé et présent de l'animal, présence de lésions antérieures d'une autre nature).

Rapport validé le: 10/04/2020 par Sophie LABRUT

Edité le: 10/04/2020 16.59 20-006021_D00_030648.pdf

Vétérinaire Biologiste

A handwritten signature in black ink, consisting of a stylized, cursive script that appears to be the name of the veterinarian biologist.

Annexe 7 : Suivis photographiques de l'évolution des marques noires des carapaces des caouannes Astérix (2016) et Célou (2020)



Cc Astérix 24.10.2016

07.11.2016

29.11.2016

08.12.2016



Cc CÉLOU 27.02.2020

02.03.2020

09.03.2020

16.03.2020

31.03.2020



Cc Célou 08.04.2020

15.04.2020

22.04.2020

29.04.2020

06.05.2020

Annexe 8 : Carte représentant les incidents mondiaux de marées noires, y compris ceux dans lesquels des tortues marines auraient été touchées (N= 22) (Wallace et al., 2020)

