

DEUXIÈME PARTIE :
Étude expérimentale

Notre partie expérimentale nous a conduit à réaliser des coproscopies sur des tigres de parcs zoologiques européens et sur des tigres vivant en liberté.

Les tigres étant des carnivores, il est envisageable de retrouver des parasites issus de leurs proies dans leurs selles. Ces parasites, souvent en faible quantité, n'ont généralement pas d'impact sur la santé du tigre. Il pourrait alors s'agir de parasites d'herbivores ou de volailles constituant l'alimentation des tigres de parcs.

Le contact direct entre les félins de parcs zoologiques peut permettre la transmission de parasites entre les espèces et les individus mais les soigneurs peuvent eux aussi transporter physiquement des œufs ou des oocystes d'un enclos à l'autre.

I. Objectifs de l'étude

Cette étude a pour objectif d'évaluer la nature et la fréquence des parasites digestifs retrouvés dans les selles de tigres de parcs zoologiques et de tigres vivant en liberté dans une réserve.

En effet, on peut se demander si les tigres vivant en liberté n'ont pas des parasites particuliers, qui ont pu être éliminés sur les générations maintenues en captivité. Et inversement, la promiscuité entre différentes espèces de félinés dans les parcs zoologiques ne permettrait-elle pas le passage de parasites étrangers au tigre et devant lesquels il se retrouve sans défense ? Les chats errants par exemple pourraient être une excellente source d'infestation.

Un autre objectif voulu par cette étude était de comparer deux méthodes de conservation des fèces en Sibérie : la congélation et la conservation dans du formol 10%.

II. Matériel et méthodes

2.1 Tigres en captivité

Un questionnaire a été envoyé à tous les parcs zoologiques européens possédant des tigres dans leur collection, accompagné d'une lettre explicative du projet (annexe 1) et d'un pot à prélèvement.

2.1.1 Questionnaire

Un questionnaire de trois pages et vingt-sept questions (annexe 2) a été envoyé aux zoos européens possédant des tigres, selon les données de la base ISIS. Cela ne prend donc en compte que les parcs zoologiques reconnus et pas du tout les particuliers qui pourraient détenir des tigres (cirques, etc.). Tous les parcs qui ont reçu le questionnaire ne font pas partie de l'union européenne : certains

parcs de pays proches (Suisse, Norvège, Moldavie, Ukraine, Russie de l'ouest) possédant un certain nombre de tigres ont également reçu le questionnaire.

Les questions étaient du type QCM ou QROC pour rendre le remplissage du questionnaire plus rapide et avoir des réponses comparables entre les zoos.

Le questionnaire vise à déterminer les conditions de vie des tigres du parc : type de logement, type de sol, fréquence de nettoyage des locaux et produits utilisés, présence éventuelle d'hôtes intermédiaires dans les enclos, contacts entre animaux, etc.

L'alimentation faisant partie des facteurs de risque important, plusieurs questions y sont consacrées, telles que le type de viande distribué et son origine.

Certains parcs zoologiques enrichissent les enclos des carnivores avec du matériel provenant d'autres espèces. Cela peut être avec des poils, du sang ou des fèces d'herbivores principalement, ou bien avec du poisson. Il est alors intéressant de savoir quelle substance issue de quel animal est mise à disposition des tigres.

Le questionnaire comprend également une partie sur la gestion du parasitisme. Certains tigres sont vermifugés plusieurs fois par an de façon régulière alors que, dans d'autres parcs, le traitement se fait uniquement après une coproscopie positive.

La technique de coproscopie utilisée, la façon dont les selles sont récoltées et les observations parasitaires antérieures sont autant d'informations précieuses dans cette étude.

2.1.2 Analyses coproscopiques

Chaque parc zoologique était invité à renvoyer avec le questionnaire, un échantillon de fèces de tigres. Cet échantillon devait être prélevé sur des selles fraîches, en évitant les parties en contact avec le sol. Si le parc présentait plusieurs sous-espèces de tigres, il était invité à ne pas mélanger les selles des sous-espèces mais à remplir un pot pour chaque sous-espèce. Si les tigres vivaient à plusieurs dans le même enclos, chaque individu pouvait être prélevé dans le même pot (à condition qu'il s'agisse de la même sous-espèce).

Une petite étiquette était à remplir sur le pot avec la date de prélèvement, la date du dernier traitement antiparasitaire, la sous-espèce et le nombre d'individus prélevés

Une fois le prélèvement effectué, les pots devaient être stockés au réfrigérateur en attendant d'être envoyés.

Lors de l'arrivée du prélèvement au laboratoire de parasitologie de l'ENVA, un numéro était attribué à chaque échantillon et était reporté sur le questionnaire correspondant. Les échantillons étaient stockés au réfrigérateur en attendant d'être analysés.

Un examen macroscopique des selles était effectué avant toute manipulation, pour vérifier la consistance des selles, l'éventuelle présence de sang ou de parasites et la quantité d'éléments végétaux présents dans les fèces.

Deux techniques de coproscopie ont été utilisées sur chaque échantillon : la flottation et la sédimentation.

La technique de flottation a été faite en deux étapes : avec une cellule de MacMaster et en flottation totale. Pour chaque échantillon, 5 g de fèces ont été prélevés dans une éprouvette et le volume a été complété pour atteindre 75 mL avec du sulfate de magnésium ($MgSO_4$) saturé. Une fois le mélange homogénéisé, il a été filtré avec une passoire à thé dans un verre à pied.

Une cellule de MacMaster a ensuite été remplie avec une pipette Pasteur (1 mL) et laissée à reposer pendant dix minutes. Parallèlement, un tube à essai a été rempli à ras-bord avec le mélange et une lamelle a été posée sur le bourrelet liquide. Celle-ci a été laissée à reposer 20 minutes.

Une fois le temps écoulé, la cellule de MacMaster est lue directement au microscope, au grossissement 10. Cette cellule contient deux compartiments d'un volume de 0,15mL chacun, dont les limites sont gravées, formant un carré divisé en colonnes. Chaque partie de la cellule de MacMaster contient 0,5 mL de liquide. Les œufs de parasites, moins denses que le liquide de flottation, remontent à la surface, sous le verre de la cellule. Il est alors facile de les compter en utilisant les colonnes gravées dans la cellule. Cette méthode quantitative permet d'estimer l'importance d'une infestation parasitaire. Il suffit de compter les œufs d'une espèce parasitaire présents dans chacun des deux carrés de la cellule, de les additionner, de diviser la somme par deux et enfin de multiplier le résultat par 100. On obtient alors le nombre moyen d'œufs par gramme de matière fécale (ou opg).

La flottation totale, obtenue en déposant la lamelle posée sur le ménisque convexe sur une lame, permet de concentrer les œufs de parasites, moins denses que le liquide de flottation. Cette méthode ne permet pas de quantifier l'infestation parasitaire mais elle est complémentaire à la méthode de MacMaster puisqu'elle permet en général de voir davantage de parasites.

La sédimentation, quant à elle, vise à rassembler les éléments parasitaires vers le bas grâce à un liquide de faible densité. Une noisette de fèces est placée dans un tube et mélangée à 10 mL de formol 10% avec un agitateur. Le mélange est ensuite filtré sur une passoire à thé recouverte de deux compresses. 7 mL de filtrat sont prélevés dans un tube et l'on rajoute 3 mL d'éther. Le tube est agité manuellement puis placé dans une centrifugeuse à 2 000 t/min pendant 5 minutes. L'ajout d'éther permet de dissoudre les lipides contenus dans les fèces de carnivores et d'omnivores. Une fois la centrifugation achevée, le liquide contenu dans le tube est biphasique et les deux phases sont séparées par un anneau lipidique. Le liquide est éliminé. Le culot est remis en suspension à l'aide d'une goutte d'eau distillée et cette solution est observée entre lame et lamelle. Cette méthode aboutit à des lames qui ne sont pas évidentes à lire car certains éléments

végétaux partent dans le culot avec les éléments parasitaires. La sédimentation permet notamment de voir des parasites tels que les *Giardia*.

2.2 Tigres en liberté

2.2.1 Présentation de la réserve de Lazo

L'Extrême-Orient sibérien compte quatre réserves où des tigres pourraient vivre (figure 37). Trois se situent dans la région de Primorsky Krai, la dernière étant dans la région de Khabarovsky Krai, plus au nord.

La plus grande, la réserve de Sikhote-Alin, se situe près de la ville de Terney et donne en partie sur la côte de la mer du Japon. Elle s'étend sur 4 014km².

La deuxième réserve en terme de taille est celle de Lazo dont la superficie atteint les 1 210km². Elle est située sur la côte de la mer du Japon, au sud de la région de Primorsky Krai.

La réserve de Bolshe Khetskhir se situe au sud-ouest de la ville de Khabarovsk, dans la région de Khabarovsky Krai. Elle est légèrement plus petite que la réserve de Lazo.

La dernière réserve se situe près de la ville d'Ussurisk, entre la frontière chinoise et la mer du Japon. Elle abrite des tigres mais également les derniers léopards de l'Amour. C'est la plus petite des quatre réserves.

Figure 37 : Carte des régions de Primorski Krai et Khabarovski Krai avec l'aire de répartition actuelle du tigre de Sibérie (en orange foncé) et l'emplacement des réserves (en blanc) (Source : [29])



La réserve de Lazo est officiellement interdite d'accès aux visiteurs et réservée uniquement aux gardes forestiers qui y patrouillent et aux scientifiques qui y travaillent ou bien qui sont en possession d'un permis d'accès indiquant leur nom et la durée du séjour dans la réserve. Au sein de la réserve existent plusieurs cabanes où les gardes forestiers et les scientifiques peuvent dormir.

La réserve fonctionne beaucoup en partenariat avec des organisations internationales, notamment la *Zoological Society of London* (ZSL), qui finance un certain nombre de projets dans la réserve ainsi qu'une partie du personnel.

Un système de *camera trapping* a été mis en place dans la réserve (figure 38). Quand des empreintes de tigre ou un arbre de marquage sont découverts, des appareils photos déclenchés par le mouvement sont installés à proximité, attachés au tronc d'un arbre. Les appareils photos sont relevés tous les mois et éventuellement déplacés pour obtenir de meilleurs clichés. Les tigres sont ensuite identifiés sur les photos grâce au dessin de leurs rayures (figure 39).

Figure 38 : Installation d'un appareil photo détecteur de mouvement à hauteur de tigre (Source : Linda Kerley)

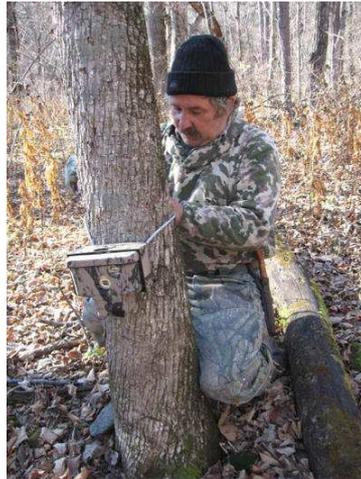


Figure 39 : Tigre mâle photographié avec le dispositif de la figure 38. Les appareils photo sont souvent placés près d'arbres marqués par les tigres de la zone car ils s'arrêtent le temps de sentir le tronc (Source : Linda Kerley)



Un suivi des fèces est régulièrement fait pour récupérer les poils des proies contenus dans les selles et déterminer l'espèce à laquelle ils ont appartenu en se basant sur le motif de la kératine en microscopie optique.

2.2.2 Prélèvement et conservation des échantillons

Les échantillons de fèces ont été récoltés depuis début novembre 2011, par les forestiers dans la réserve de Lazo. Les prélèvements peuvent surtout se faire en hiver lorsque les selles sont bien visibles sur la neige et qu'elles sont congelées et ne se décomposent pas tout de suite. Les échantillons proviennent de différentes zones de la réserve de Lazo, correspondant aux territoires de plusieurs tigres.

Chaque échantillon devait être divisé en deux parties : l'une devait être placée dans un pot contenant du formol 10%, l'autre devait être placée dans un sachet et mise au congélateur. Cette division visait à doubler le nombre d'échantillons et donc les chances de retrouver des éléments parasitaires mais aussi de déterminer quel mode de conservation est le plus efficace sur le long terme (plusieurs mois).

Chacune de ces méthodes permet de stopper le développement des bactéries ou des champignons du prélèvement et freine le développement parasitaire. Les œufs et les premiers stades larvaires restent a priori présents dans l'échantillon.

Certains parasites sont extrêmement résistants. Par exemple, il a déjà été observé sur des fèces de guépard des premiers stades larvaires de *Toxascaris sp.* dont la larve bougeait toujours après plusieurs mois de conservation dans du formol 10% et au congélateur.

Malheureusement, la difficulté de se procurer du formol en Extrême-Orient russe a conduit mes contacts à remplacer le formol 10% par du méthanol pur pour conserver les échantillons.

2.2.3 Analyses coproscopiques

Sur chaque échantillon, flottation et sédimentation ont été effectuées, en utilisant la technique de MacMaster, la flottation totale et la méthode de sédimentation diphasique. Chacune de ces techniques a été décrite plus haut.

Les moyens locaux ne m'ont pas permis d'utiliser exactement le même protocole que pour les échantillons de fèces provenant de parcs européens. La flottation a été faite avec une solution saturée de sel (NaCl) au lieu du sulfate de magnésium (MgSO₄) utilisé en France. Cette solution a été fabriquée en diluant du sel de table dans de l'eau jusqu'à saturation. La saturation se produit avec environ 700g de sel pour 1,8L d'eau.

La sédimentation a été préparée avec les mêmes produits qu'en France, à savoir du formol et de l'éther. N'ayant pas assez de tubes pour préparer chaque échantillon, certains échantillons conservés dans le méthanol n'ont pas été préparés pour la sédimentation.

III. Résultats

3.1 Pour les tigres des parcs zoologiques européens

3.1.1 Réponses au questionnaire

Sur les 167 questionnaires envoyés à différents zoos de 33 pays, 47 parcs ont renvoyé le questionnaire et un ou plusieurs échantillons de fèces de tigres. Un parc n'a renvoyé que le questionnaire. Un total de 66 échantillons a pu être réuni.

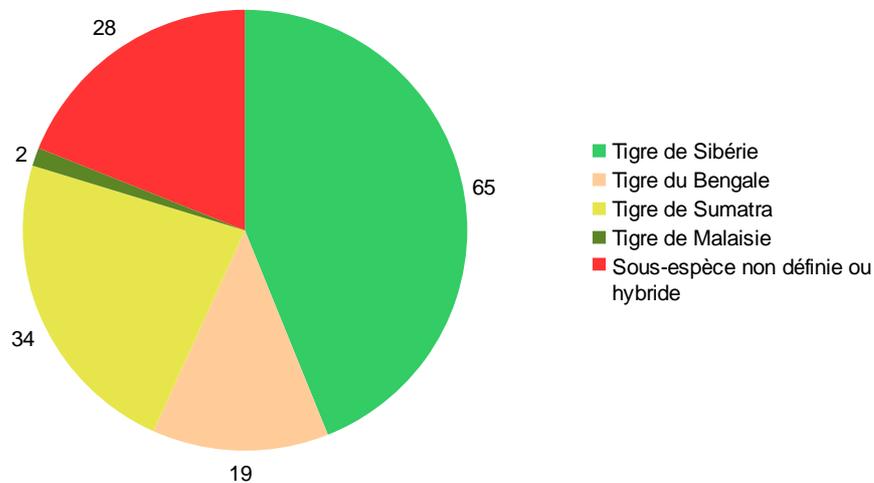
Sur les 47 parcs ayant répondu, une estimation de la taille du parc et de la taille de la collection ont été faites. Elles sont résumées dans le tableau 1.

Tableau 1 : Résumé de la superficie et de la taille de la collection des parcs européens ayant répondu au questionnaire. Taille du parc : + : <30ha, ++ : 30-79ha, +++ : >80ha. Taille de la collection : + : <200 espèces, ++ : 200-500 espèces, +++ : >500 espèces

Nom du parc	Ville	Pays	Nombre de tigres	Taille du parc	Taille de la collection
Zoo Dortmund	Dortmund	Allemagne	3	+	++
Zoologischer Garten Frankfurt	Francfort	Allemagne	4	+	++
Zoo Landau	Landau	Allemagne	2	+	+
Zoologischer Garten Leipzig	Leipzig	Allemagne	3	+++	+++
Zoologischer Garten Magdeburg	Magdebourg	Allemagne	2	++	+
Tiergarten der Stadt Nürnberg	Nuremberg	Allemagne	2	++	++
Wilhelma Zoo	Stuttgart	Allemagne	2	++	+++
Zoo Hannover	Hanovre	Allemagne	2	+	+
Tiergarten Heidelberg	Heidelberg	Allemagne	2	+	+
Bellewaerde Park	Ypres	Belgique	6	++	+
Aalborg Zoo	Aalborg	Danemark	6	++	++
Copenhagen Zoo	Copenhague	Danemark	3	++	++
Guldborgsund Zoo & Botanical Garden	Folkepark	Danemark	1	++	+
Parc Zoologico de Barcelona	Barcelone	Espagne	2	+	++
Zoobotanico de Jerez	Jerez de la Frontera	Espagne	2	+	++
Zoo Aquarium de Madrid	Madrid	Espagne	3	+	+++
Helsinki Zoo	Helsinki	Finlande	2	++	+
Beauval	Saint-Aignan	France	8	++	+++
Espace Zoologique la Boissiere du Doré	La Boissiere du Doré	France	2	+	+
Parc Zoologique du Bois de Coulange	Amnéville	France	9	+	++
Parc Zoologique de Doué-la-Fontaine	Doué-la-Fontaine	France	2	+	+
Parc Zoologique de La Palmyre	Les Mathes	France	2	++	++
Jardin Zoologique de la Ville de Lyon	Lyon	France	1	+	+
Parc Zoologique Et Botanique	Mulhouse	France	2	+	+
Parc de la Haute-Touche	Obterre	France	1	+++	++
Safari de Peaugres	Peaugres	France	3	+++	+
Planete Sauvage	Port-Saint-Père	France	6	+++	+
Touroparc	Romanèche-Thorins	France	6	+	+
Budapest Zool. & Botanical Garden	Budapest	Hongrie	5	++	+++
Burgers' Zoo	Arnhem	Pays-Bas	2	++	++
Ouwehands Zoo	Rhenen	Pays-Bas	5	++	++
Rotterdam Zoo	Rotterdam	Pays-Bas	3	+	++
Zoo Wroclaw	Wroclaw	Pologne	2	++	+++
Zoologicka zahrada Ostrava	Ostrava	République tchèque	4	+++	++
City of Belfast Zoo	Belfast	Royaume-Uni	2	+	+
Howletts Wild Animal Park	Lympne Hythe	Royaume-Uni	6	+++	++
West Midland Safari & Leisure Park	Bewdley	Royaume-Uni	10	+	+
Paradise Wildlife Park	Broxbourne	Royaume-Uni	2	+	+
Colchester Zoo	Colchester	Royaume-Uni	2	+	++
Paignton Zoo Environmental Park	Paignton	Royaume-Uni	2	++	++
Drayton Manor Park Zoo	Tamworth	Royaume-Uni	2	+	+
Thrigby Hall Wildlife Gardens	Yarmouth	Royaume-Uni	2	+	+
Permskii Zoologicheskii Sad	Perm	Russie	3	+	++
Zvalski vt Ljubljana	Ljubljana	Slovénie	1	+	+
Boras Djurpark Zoo	Boras	Suède	3	++	+
Nordens Ark	Hunnebostrand	Suède	2	+++	+
Zoo Zürich	Zurich	Suisse	5	+	+

Les parcs ayant répondu possèdent des tigres appartenant à diverses sous-espèces, réparties comme l'indique la figure 40.

Figure 40 : Répartition par sous-espèce des effectifs de tigres des parcs européens ayant répondu au questionnaire



L'exploitation des questionnaires a permis de mettre en évidence quelques données concernant les conditions de vie des tigres des parcs zoologiques européens. La totalité des tigres des parcs ayant répondu au questionnaire est logée dans un enclos extérieur avec une loge intérieure. Dans la plupart des parcs, l'enclos est nettoyé quotidiennement, au moins à l'eau (figures 41 et 42).

Figure 41 : Fréquence de nettoyage des enclos

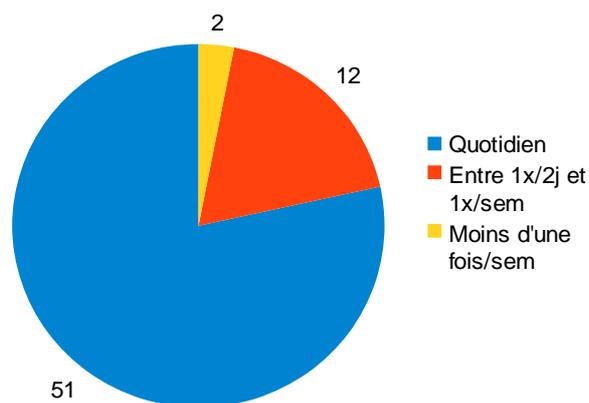
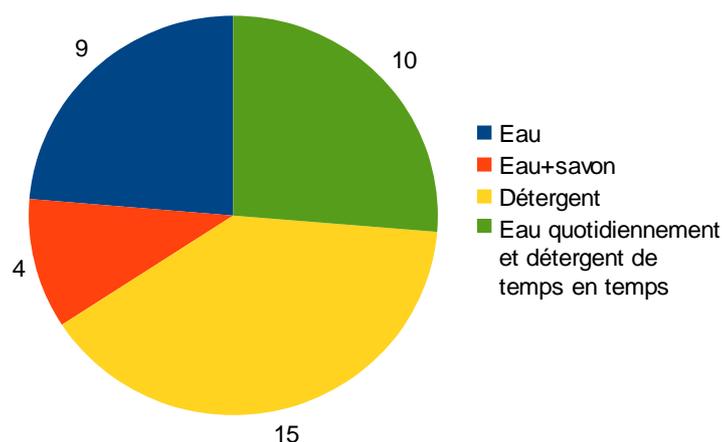
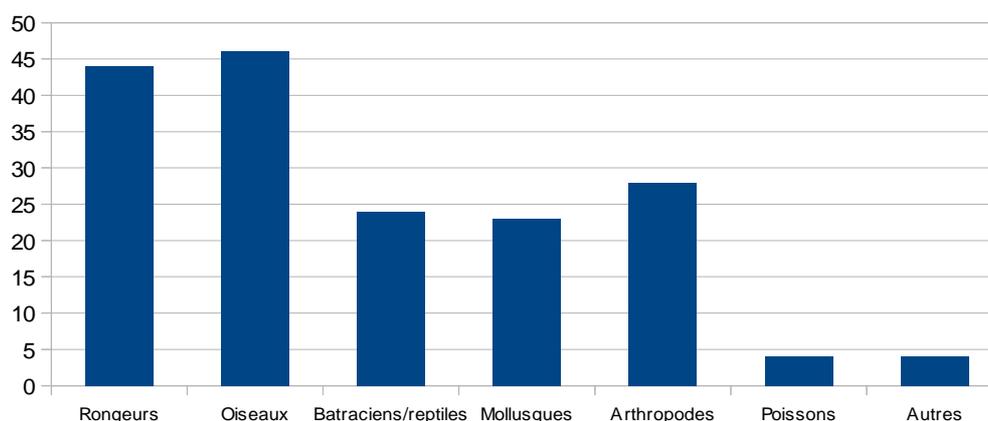


Figure 42 : Produits utilisés pour le nettoyage des enclos



Les enclos sont, pour la plupart, à ciel ouvert et faits de grillage, ce qui permet à de petits animaux d'y pénétrer. Ces animaux, tels que les oiseaux, arthropodes, rongeurs ou batraciens peuvent introduire certaines espèces parasites dans l'enclos des tigres (figure 43).

Figure 43 : Répartition des petits animaux retrouvés dans les enclos



On peut remarquer que les rongeurs et oiseaux sont très souvent présents dans les enclos des grands carnivores. De nombreux parcs ont une surpopulation de rongeurs, attirés par les aliments distribués aux herbivores et aux oiseaux. Les batraciens, petits reptiles, mollusques et arthropodes sont également inhérents à tout enclos extérieur mais sont de plus petite taille et donc souvent moins visibles.

La présence de poissons ne concerne que quelques parcs où les tigres ont accès à un bassin dans lequel des poissons d'ornement ont été introduits.

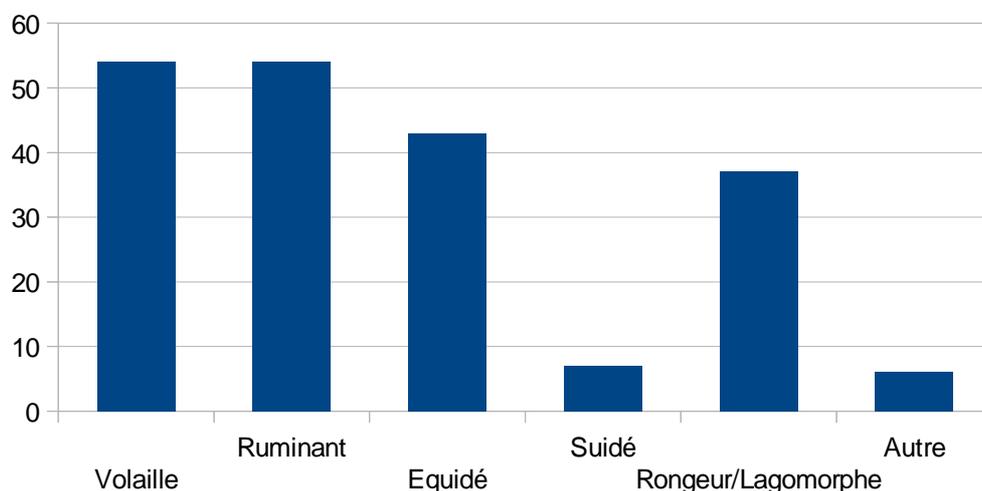
Les autres animaux retrouvés dans les enclos comprennent quelques mustélidés, des lapins et même des renards pour un parc allemand.

Les contacts entre tigres sont assez fréquents : il est commun qu'un couple vive dans le même enclos. Les contacts avec d'autres félins en revanche sont très rares. Il s'agit parfois de passage dans des zones communes (enclos alterné, etc.).

En ce qui concerne l'alimentation, la plupart des parcs nourrissent leurs tigres avec de la viande issue d'abattoir ou de sociétés spécialisées dans la nourriture d'animaux de parcs zoologiques, comme Saint Laurent. Ces sociétés récupèrent généralement les carcasses d'abattoir impropres à la consommation humaine mais autorisées à la consommation animale et les livrent aux parcs. Il est également assez fréquent de donner les carcasses d'herbivores du parc, en général après un examen vétérinaire. Certains parcs donnent aussi des carcasses d'animaux chassés, victimes d'accidents de la route, voire ont leur propre élevage d'herbivores. Pour ces cas-là, le questionnaire n'a pas permis de savoir si un examen post-mortem était effectué par le vétérinaire avant de donner la carcasse aux carnivores.

La figure 44 montre la répartition des viandes données aux tigres selon leur origine. Dans de nombreux parcs, viande blanche et viande rouge sont données en alternance aux tigres. Dans les types d'alimentation plus anecdotiques, on retrouve les suidés et d'autres espèces comme le poisson.

Figure 44 : Types de viandes données aux tigres



Dans certains parcs, il est courant d'enrichir le milieu des grands carnivores captifs en introduisant des substances issues d'autres espèces animales. Il peut s'agir de fèces, de poils ou de litière d'herbivores, de sang ou proies inhabituelles (ex : poisson). Ces enrichissements ont pour objectif d'introduire un élément nouveau dans l'environnement de l'animal et de l'occuper. Dans la nature, ces animaux passent une grande partie de leur temps à parcourir leur territoire et à chercher de la nourriture. Ce temps, inexistant en captivité, conduit souvent à l'apparition de comportements stéréotypés, tels que les cent pas en bordure de l'enclos. L'introduction d'un élément inconnu dans l'enclos permet à l'animal d'exprimer ses comportements exploratoires et de moins stéréotyper.

Un peu plus des deux tiers des parcs ayant répondu utilisent l'enrichissement. Les figures suivantes (figures 45 et 46) montrent les substances utilisées et leur provenance.

Figure 45 : Substances utilisées pour l'enrichissement

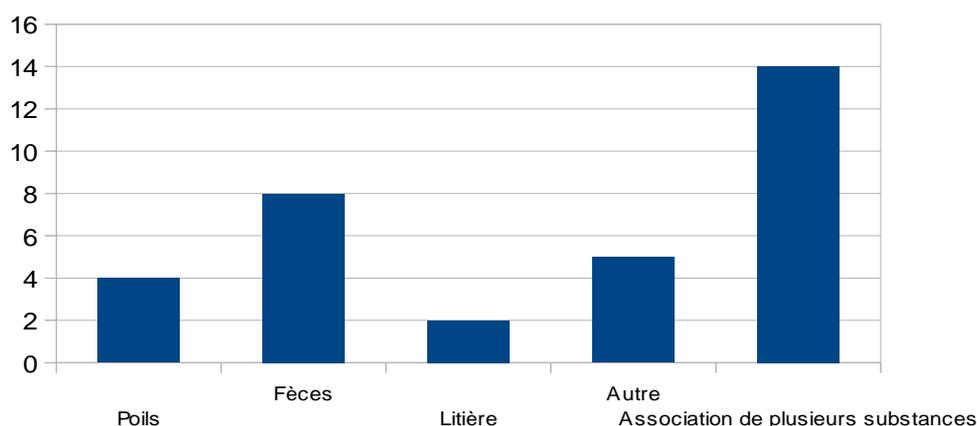
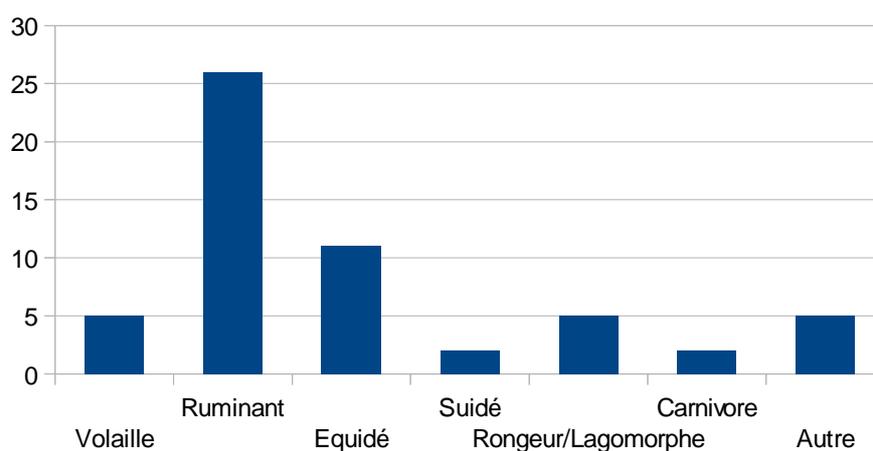


Figure 46 : Provenance des substances utilisées pour l'enrichissement des tigres



L'enrichissement dans les parcs européens passe souvent par de petits morceaux de viande rouge disséminés dans l'enclos ou bien renfermés dans un bloc de glace. Dans les autres méthodes d'enrichissement, on retrouve des techniques qui utilisent du poisson ou d'autres types de viandes.

En ce qui concerne les traitements anti-parasitaires, plus de 90% des parcs zoologiques ayant répondu traite régulièrement ses tigres.

La figure 47 montre que la plupart des parcs ne vermifuge qu'en cas de coproscopie positive ou bien en cas de suspicion clinique (diarrhée, etc.). Certains parcs sont restés sur le schéma classique de deux vermifugations par an. Enfin, quelques parcs, plus rares, vermifugent leurs tigres jusqu'à quatre ou cinq fois par an.

Figure 47 : Fréquence de vermifugation des parcs zoologiques

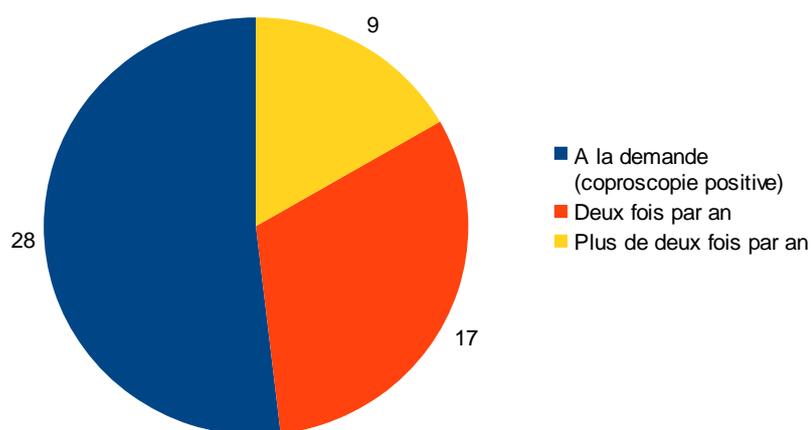
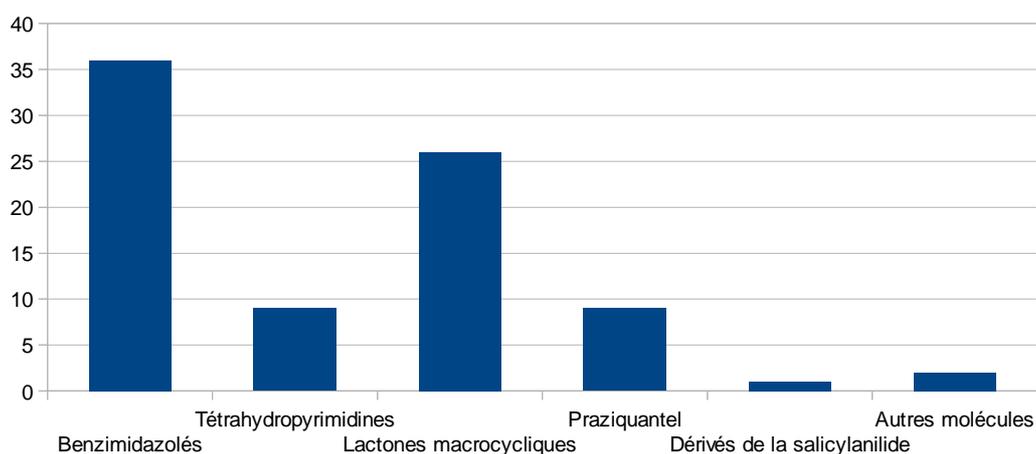


Figure 48 : Classes de molécules antiparasitaires utilisées



Un certain nombre de molécules sont utilisées, comme on peut le voir sur la figure 48. Les benzimidazolés tels que fenbendazole ou l'albendazole ont une action nématodicide et, pour certaines molécules, cestodicide. Ils agissent sur le système enzymatique des parasites et n'ont donc pas une action immédiate.

Les lactones macrocycliques regroupent les avermectines et les milbémycines. Ce sont des molécules nématodicides à action rapide puisqu'elles agissent sur le système nerveux du parasite en mimant l'action du GABA. Elles n'ont par contre aucune efficacité sur les Plathelminthes qui ne possèdent pas de GABA.

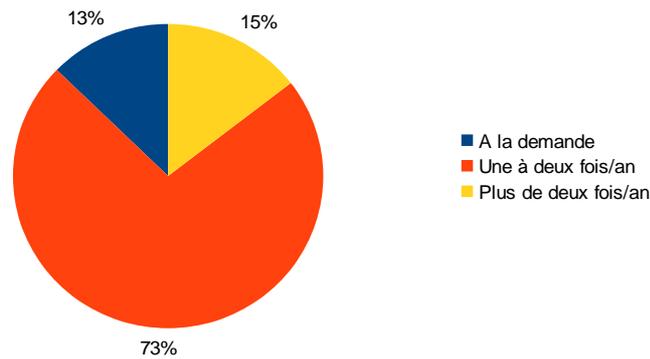
Le praziquantel a une action surtout cestodicide en agissant sur le métabolisme glucidique de ces espèces.

Les tétrahydropyrimidines, comme le pyrantel ou le morantel, sont nématodicides et agissent sur le système nerveux des parasites. Elles sont donc une action rapide.

Les dérivés de la salicylanilide, tels que le closantel, le niclosamide ou l'oxyclosanide ont des propriétés douvicides et cestodicides. Ils agissent sur le système enzymatique du parasite.

Plus de 90% des parcs zoologiques effectuent des coproscopies de contrôle. Ces coproscopies ont lieu assez régulièrement dans la plupart des cas (figure 49). Généralement, les parcs font une à deux coproscopies de contrôle dans l'année et en rajoutent si besoin (animal diarrhéique, etc.). D'autres parcs, plus minoritaires, ne font de coproscopie que si le tigre présente des troubles digestifs.

Figure 49 : Fréquence des coproscopies de contrôle



Pour les coproscopies, les selles sont ramassées dans les loges intérieures le plus souvent, avec un gant, et mises dans un pot de prélèvement. Selon les parcs, les coproscopies sont effectuées par le personnel vétérinaire (ou les infirmières vétérinaires) ou bien envoyées à un laboratoire extérieur (figure 50).

Figure 50 : Qui effectue les coproscopies de contrôle

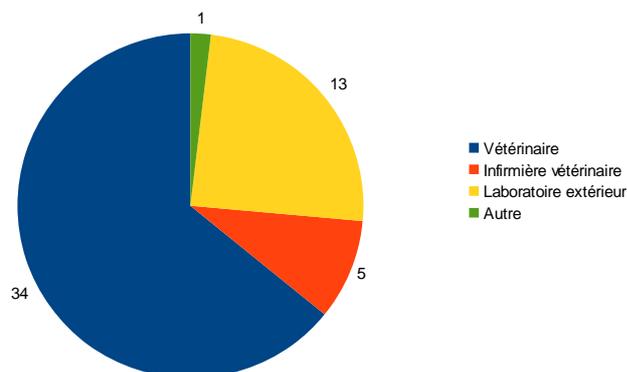
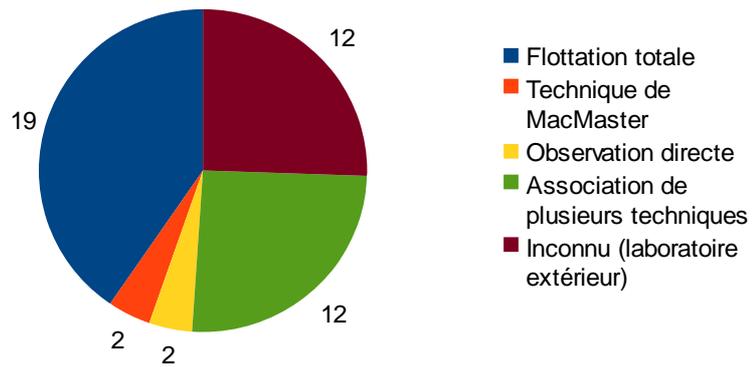


Figure 51 : Technique utilisée

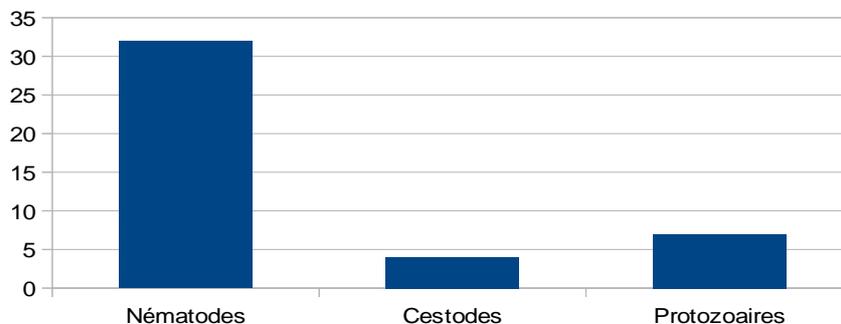


Comme le montre la figure 51, le plus souvent, les parcs utilisent des kits de flottation totale achetés dans le commerce pour leurs coproscopies (par exemple Ovassay® ou Ovatec®). Un certain nombre de parcs couplent différentes techniques, le plus souvent, observation directe des fèces et flottation totale. Aucun parc ayant répondu n'effectue de coproscopie par la méthode de Baermann. Cette méthode est surtout intéressante pour les nématodes à tropisme respiratoire.

Enfin, les parcs qui envoient leurs prélèvements dans des laboratoires extérieurs ne savent pas, pour la majorité d'entre eux, quelle(s) technique(s) est(sont) effectuée(s).

La plupart des coproscopies de contrôle des parcs européens sont négatives. Néanmoins, lorsqu'un parasite est retrouvé, il s'agit surtout de nématodes (*Toxocara*, *Toxascaris* et plus rarement des strongles ou des parasites de type capillaires) (figure 52). En ce qui concerne les protozoaires, les coccidies étaient les plus fréquemment rencontrées. Seul un zoo a rapporté avoir trouvé des cryptosporidies. Enfin, concernant les cestodes, quelques zoos en ont trouvé dans leurs coproscopies de tigres mais aucun nom de genre ne m'a été communiqué via les questionnaires.

Figure 52 : Parasites retrouvés lors des coproscopies de contrôle des parcs



3.1.2 Résultats des coproscopies correspondant aux tigres de parcs zoologiques

Pour chaque échantillon, une flottation totale, une flottation par la technique de MacMaster et une sédimentation ont été faites. Pour un des 65 échantillons, seule la flottation totale a pu être faite, sur place lors d'un stage. Je n'ai pas pu ramener d'autre échantillon pour faire la sédimentation.

La plupart des échantillons se sont révélés négatifs. Seuls 11 échantillons sur 65 étaient positifs à la flottation (technique de MacMaster et flottation totale confondues) et un seul échantillon sur 64 était positif à la sédimentation. Le tableau 2 résume les parasites retrouvés à la coproscopie sur les échantillons reçus des parcs zoologiques. La figure 53 illustre une partie des parasites observés.

Tableau 2 : Parasites retrouvés lors des coproscopies faites sur les échantillons envoyés par les parcs zoologiques. Opg : œufs par gramme de matière fécale

Numéro	Aspect des fèces	Éléments parasitaires mis en évidence par flottation	Éléments parasitaires mis en évidence par sédimentation	Autres éléments	Dernière vermifugation
N1023	normal	-	-	2 poils teigneux	< 6 mois
N1035	normal	<i>Toxascaris</i> : 150 opg	-	-	> 6 mois
N1040(2)	normal	Coccidies : 2700 opg	Quelques coccidies	-	Inconnu
N1042(1)	nombreux poils	Coccidies : 200 opg	-	-	< 6 mois
N1047(1)	normal	Coccidies : 200 opg	-	-	< 6 mois
N1047(2)	présence de poils et d'herbe	Coccidies : 350 opg, Anoplocéphalidés < 50 opg	-	-	< 6 mois
N1080	nombreux poils	<i>Toxocara</i> : 400 opg, <i>Coccidies</i> : 450 opg, <i>Leporacarus gibbus</i> (2)	-	-	< 6 mois
N1308	nombreux poils	<i>Toxocara</i> : 550 opg	-	-	< 6 mois
N1311	nombreux poils	Coccidies : 300 opg	-	-	Inconnu
N1408	présence d'herbe	<i>Toxocara</i> : 350 opg	-	-	< 6 mois
N1625	normal	Coccidies : 50 opg	-	-	< 6 mois

Les parasites les plus représentés chez les tigres captifs sont donc les coccidies et les *Toxocara*. Les *Toxocara* sont bien des parasites de félidés et les œufs ressemblent tout à fait à ceux de *Toxocara cati* que l'on peut retrouver chez les chats domestiques.

Les oocystes de coccidies retrouvés étaient de taille et de forme variables (tableau 3). Aucune coccidie n'était sporulée.

Tableau 3 : Description des coccidies retrouvées sur les coproscopies de tigres de parc zoologique. Opg : œufs par gramme de matière fécale

N°	Aspect des selles	Parasite	Taille des coccidies
N1040 (2)	normal	Coccidies : 2700 opg	32,30 x 22,45µm, 31,90 x 20,12µm
N1042 (1)	beaucoup de poils	Coccidies : 200 opg	pas de photo
N1047 (1)	normal	Coccidies : 200 opg	pas de photo
N1047 (2)	poils, herbe	Coccidies : 350 opg + anoplocéphalidés	pas de photo
N1080	poils	Coccidies : 450 opg + <i>Toxocara</i> + <i>Leporacarus gibbus</i>	30,20 x 16,95µm, 34,60 x 23,00µm
N1311	poils	Coccidies 300 opg	Estimation : 25 x 15µm
N1625	normal	Coccidies : 50 opg	Estimation : 30 x 20µm

Figure 53 : 1 - *Leporacarus gibbus*, 2 - Œuf de *Toxascaris leonina*, 3 - Œuf d'anoplocéphalidé, 4 - Œuf de *Toxocara sp.*, 5, 6, 7 - Coccidies (Source : Parasitologie, ENVA et photographies personnelles)



Les résultats pour chaque parc ont été envoyés par courrier électronique au printemps 2012. Seul un parc qui n'avait fourni ni adresse électronique ni adresse postale n'a pu recevoir ses résultats.

3.2 Pour les tigres de la réserve de Lazo

3.2.1 Résultats des analyses coproscopiques

Dix-neuf fèces de tigres ont pu être récoltées pendant l'hiver 2011 et le début du printemps 2012. La plupart étaient étiquetées avec la date et le lieu de prélèvement. Certains prélèvements n'ont pas été étiquetés au moment de leur découverte. Il a donc été impossible de savoir quel prélèvement congelé correspondait à quel prélèvement conservé dans le méthanol pour les fèces issues de cinq animaux. Ces échantillons ont donc été traités comme provenant de dix animaux différents.

Les prélèvements congelés ont été mis à décongeler d'abord dans le coffre d'une voiture puis conservés au réfrigérateur pendant 48h. Ils ont été examinés en premier, d'abord par flottation puis en préparant la sédimentation. Les prélèvements conservés dans du méthanol ont été conservés à température ambiante et examinés dans un second temps.

Le tableau 4 récapitule les parasites trouvés dans les échantillons de fèces congelés et le tableau 5 ceux retrouvés dans les échantillons de fèces conservés dans le méthanol pur. Pour ces derniers, la pauvreté des échantillons en parasites avec la technique de flottation associée à l'épuisement de mes réserves de consommables (tubes et pipettes) m'ont conduit à ne pas soumettre tous les échantillons à la technique de sédimentation. J'ai donc sélectionné en priorité ceux qui étaient positifs en flottation et les autres de façon aléatoire.

Tableau 4 : Parasites retrouvés dans les échantillons congelés. Opg : œufs par gramme de matière fécale

Numéro	Date de prélèvement	Aspect des fèces	Éléments parasitaires mis en évidence par méthode de MacMaster	Éléments parasitaires mis en évidence par flottation totale	Éléments parasitaires mis en évidence par sédimentation
SC1	5 nov 2011	normal	<i>Toxocara</i> : 1050 opg	<i>Toxocara</i>	<i>Toxocara</i>
SC2	28 déc 2011	normal	<i>Toxocara</i> : 650 opg	<i>Toxocara</i>	<i>Toxocara</i>
SC3	5 nov 2011	mou	Lame rougeâtre, <i>Toxocara</i> : 950 opg	<i>Toxocara</i> : œufs et 1er stade larvaire	négatif
SC4	5 nov 2011	normal	<i>Toxocara</i> : 350 opg	<i>Toxocara</i> , Capillaires, un acarien probablement non parasite	négatif
SC5	5 déc 2011	normal	<i>Toxocara</i> : 200 opg	<i>Toxocara</i>	négatif
SC6	12 fév 2012	nombreux poils sombres	<i>Toxocara</i> : 500 opg	<i>Toxocara</i>	négatif
SC7	11 nov 2011	blanchâtres à l'extérieur	<i>Toxocara</i> : 5100 opg, Capillaires < 150 opg	<i>Toxocara</i>	<i>Toxocara</i>
SC8	14 avr 2012	nombreux poils clairs	<i>Toxocara</i> : 1050 opg	<i>Toxocara</i>	négatif
SC9	8 avr 2012	en miettes	<i>Toxocara</i> : 350 opg	<i>Toxocara</i> , Capillaires	négatif
SC10	14 jan 2012	nombreux poils sombres	<i>Toxocara</i> < 150 opg	<i>Toxocara</i>	négatif
SC11	13 jan 2012	en miettes	<i>Toxocara</i> : 300 opg, Capillaires < 150 opg	<i>Toxocara</i>	négatif
SC12	8 avr 2012	nombreux poils	négatif	<i>Toxocara</i>	négatif
SC13	11 mars 2012	poils, terre	<i>Toxocara</i> : 500 opg, Capillaires < 150 opg	<i>Toxocara</i> , Capillaires	<i>Toxocara</i>
SC14	29 déc 2011	nombreux poils	<i>Toxocara</i> : 450 opg	<i>Toxocara</i> , un insecte	négatif
SCX15	?	poils	<i>Toxocara</i> : 3600 opg, Trichures(?) < 150 opg	<i>Toxocara</i>	négatif
SCX16	?	poils	<i>Toxocara</i> : 1550 opg	<i>Toxocara</i>	négatif
SCX17	?	poils	<i>Toxocara</i> : 200 opg	<i>Toxocara</i>	négatif
SCX18	?	normal	Capillaires < 150 opg	<i>Toxocara</i> , Capillaires	négatif
SCX19	?	normal	<i>Toxocara</i> : 350 opg, Capillaires : 250 opg	<i>Toxocara</i>	négatif

Tableau 5 : Parasites retrouvés dans les échantillons conservés dans du méthanol. Opg : œufs par gramme de matière fécale

Numéro	Date de prélèvement	Aspect des fèces	Éléments parasitaires mis en évidence par méthode de MacMaster	Éléments parasitaires mis en évidence par flottation totale	Éléments parasitaires mis en évidence par sédimentation
SM1	5 nov 2011	normal	négatif	négatif	/
SM2	28 déc 2011	normal	négatif	négatif	négatif
SM3	5 nov 2011	mou	négatif	négatif	négatif
SM4	5 nov 2011	normal	négatif	<i>Toxocara</i> , un insecte	négatif
SM5	5 déc 2011	normal	négatif	négatif	négatif
SM6	12 fév 2012	nombreux poils sombres	négatif	<i>Toxocara</i>	négatif
SM7	11 nov 2011	blanchâtres à l'extérieur	<i>Toxocara</i> : 2200 opg	<i>Toxocara</i> , Capillaires, insecte	négatif
SM8	14 avr 2012	nombreux poils clairs	négatif	négatif	négatif
SM9	8 avr 2012	en miettes	négatif	<i>Toxocara</i>	négatif
SM10	14 jan 2012	nombreux poils sombres	négatif	négatif	négatif
SM11	13 jan 2012	en miettes	négatif	<i>Toxocara</i>	négatif
SM12	8 avr 2012	nombreux poils	négatif	négatif	/
SM13	11 mars 2012	poils, terre	négatif	négatif	/
SM14	29 déc 2011	nombreux poils	négatif	<i>Toxocara</i>	négatif
SM15	?	poils	négatif	négatif	/
SM16	?	poils	négatif	négatif	/
SM17	?	poils	<i>Toxocara</i> : <150 opg	<i>Toxocara</i>	/
SM18	?	normal	négatif	négatif	/
SM19	?	dures	négatif	négatif	/

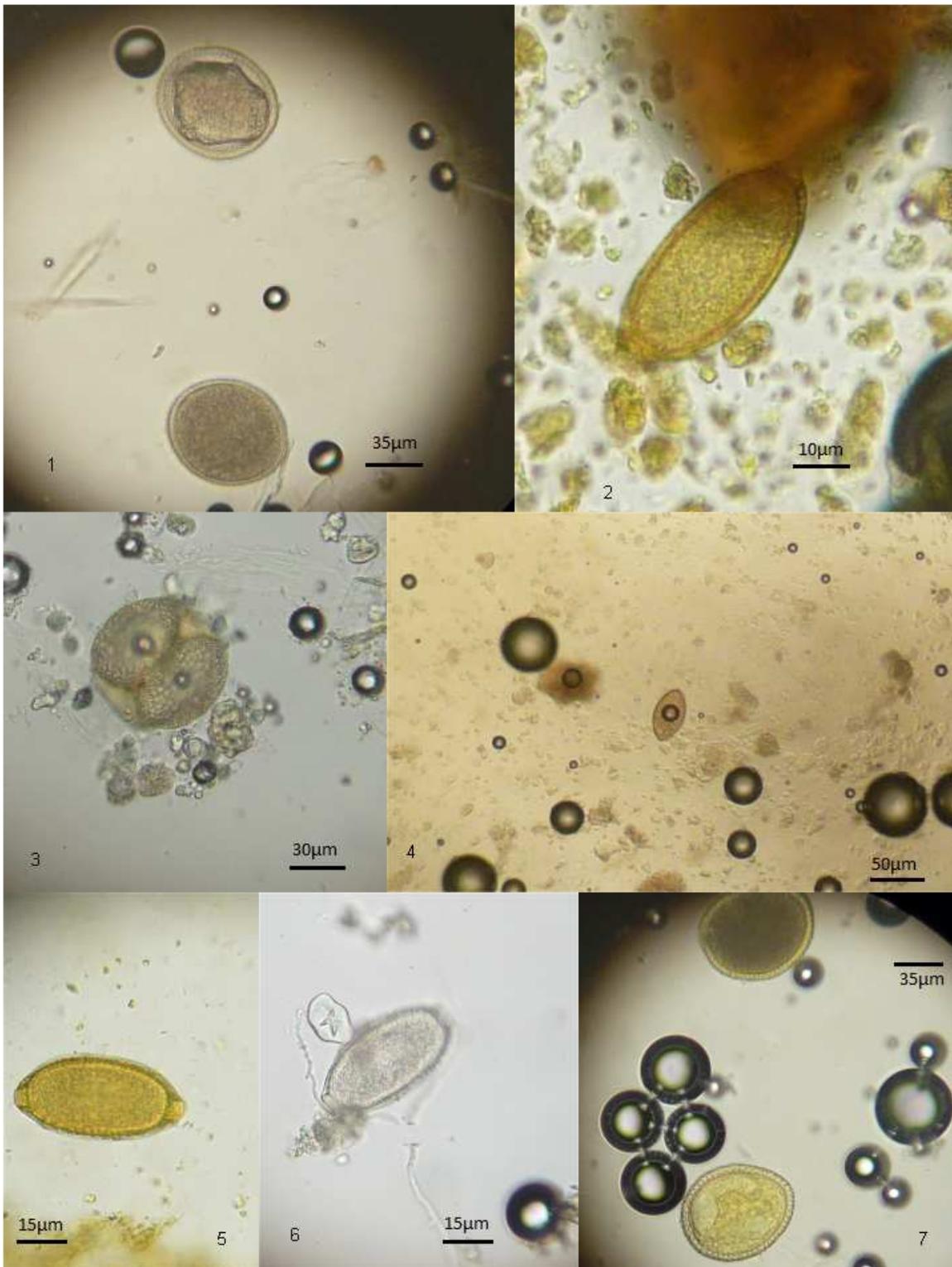
Il apparaît très clairement à la lecture de ces tableaux que tous les tigres dont les selles ont été analysées sont parasités. Le parasite le plus largement répandu est un parasite du genre *Toxocara*, dont les œufs sont en tout point identiques à ceux de *Toxocara cati*. Dans la plupart des cas, l'infestation est modérée mais quelques individus présentent de très hauts niveaux d'infestation (jusqu'à plus de 5 000 opg). Pourtant, les photos obtenues à l'aide d'appareils photo à détecteur de mouvement (*camera-trapping*) ne montrent pas d'individus particulièrement affaiblis ou amaigris.

De façon moins systématique mais néanmoins régulière, des œufs de capillaires ont été retrouvés. Les niveaux d'infestation sont là plutôt bas avec un maximum de 250 opg.

Sur l'échantillon SCX15, un œuf de parasite ovoïde présentant deux bouchons polaires a pu être observé (figure 54). Ce parasite n'a néanmoins pas pu être mesuré ni photographié précisément, rendant son identification impossible.

L'allure générale pouvant laisser penser à un trichure, c'est le nom qui lui a été attribué avec un point d'interrogation.

Figure 54 : 1, 7 – Œufs de *Toxocara sp.* (normal et dégénéré) ; 2, 5 – Œufs de capillaire ; 3, 6 – Artéfacts (pollens ?) ; 4 – Œuf de trichure ? (SCX15) (Source : photographies personnelles)



Les sédimentations sont, de façon générale, assez pauvres en éléments parasitaires. Cela s'explique par le fait que le formol 10% que je pensais utiliser pour préparer mes échantillons était en réalité à 40%.

Certains échantillons proviennent probablement du même individu, prélevés à plusieurs semaines d'intervalle. C'est le cas pour les échantillons 1, 3, 4 et 8, ainsi que pour les échantillons 2, 9, 10, 11, 12 et 14. Il est intéressant de remarquer que la charge parasitaire n'est pas constante dans le temps pour un même individu.

Ces résultats compilés ont été envoyés par courrier électronique à l'équipe scientifique de la réserve de Lazo fin mai 2012.

IV. Discussion

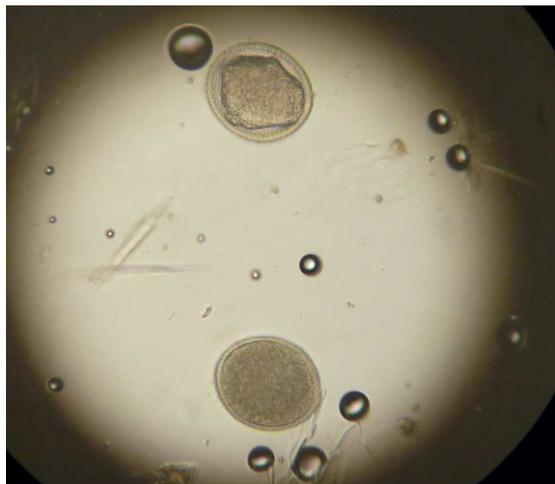
4.1 Comparaison des deux techniques de conservation utilisées

Les deux techniques de conservation à tester devaient être la conservation au congélateur domestique, donc à environ -20°C et la conservation dans du formol 10% à température extérieure. Il est à noter que la plupart des échantillons ayant été récoltés en hiver (meilleure visibilité et meilleure conservation), ils étaient déjà congelés au moment du prélèvement.

La conservation dans du formol 10% n'a malheureusement pas pu être mise en œuvre. A la place, les échantillons ont été conservés dans du méthanol pur.

Comme on peut le voir sur les tableaux des résultats, la conservation des fèces au congélateur ne fait pas disparaître la quasi-totalité des éléments parasitaires comme le fait la conservation dans du méthanol. La congélation peut déformer quelques œufs parasitaires mais ils restent l'immense majorité du temps reconnaissables (figure 55). Néanmoins, il faudrait maintenant comparer la quantité et la nature des parasites retrouvés sur des selles fraîches et sur les selles congelées pour savoir s'il y a une perte d'information à la congélation.

Figure 55 : Œufs de *Toxocara cati* normal (bas) et altéré (haut), observés au grossissement 40 (photographie personnelle)



Concernant les échantillons conservés dans du méthanol, on remarque leur extrême pauvreté en éléments parasites alors que les quatorze premiers échantillons correspondent aux quatorze premiers échantillons congelés. Plusieurs hypothèses peuvent être avancées pour expliquer cette destruction des éléments parasites :

- la trop forte concentration du méthanol
- le méthanol utilisé était périmé depuis 2009 et avait gelé dans sa bouteille lors de l'hiver 2010
- une possible congélation du méthanol contenant les échantillons durant l'hiver 2011–2012. Ces derniers étaient stockés dans un garage pendant l'hiver.

Pour l'avenir, l'utilisation de la congélation est une bonne technique lorsqu'on ne peut pas faire d'examen coproscopique dans l'immédiat. L'utilisation d'alcools très concentrés est, elle, à proscrire. Quant à l'utilisation d'alcools dilués, elle reste à étudier en termes de conservation des éléments parasites mais ne semble pas idéale dans sa mise en œuvre : nécessité de diluer de façon assez précise le formol ou le méthanol que l'on trouve purs en Russie.

4.2 Comparaison des deux populations

On peut tout d'abord noter que les tigres captifs sont globalement bien moins infestés que les tigres de la réserve. La grande majorité des tigres de parcs est en effet régulièrement vermifugée et bénéficie de contrôles coproscopiques annuels.

Parmi les parasites retrouvés, *Toxocara sp.* se retrouve dans les deux populations. C'est un parasite classique des félidés. La source d'infestation peut être un hôte paraténique ou bien la mère (transmission galactogène ou bien par

l'environnement contaminé). Certaines larves peuvent s'enkyster dans les tissus et se réactiver lors d'une gestation par exemple (passage dans le lait), ce qui permet une infestation durable dans l'hôte définitif. Les hôtes paraténiques principaux sont les petits rongeurs tels que les rats, souris, mulots, etc. Ils s'infestent en ingérant des œufs émis par l'hôte définitif et gardent des larves infestantes stoppées dans leur développement et enkystées dans les tissus. Il est en revanche assez inhabituel de retrouver autant de *Toxocara sp.* sur des chats adultes en Europe. Mais c'est un parasite que l'on retrouve régulièrement sur les félins sauvages tels que les léopards (*Panthera pardus*), les chats léopards (*Felis bengalensis*) et les chats sauvages asiatiques. [32] On le retrouve aussi sur d'autres félins importés par des parcs zoologiques asiatiques : lion (*Panthera leo*), puma (*Puma concolor*), etc. [24]

Parmi les tigres en liberté, les parasites du type capillaire sont également bien représentés (8 échantillons positifs sur 19 pour les échantillons congelés), infestant de façon certaine plusieurs individus. Ces parasites n'ont pas du tout été observés chez les tigres de parc zoologique, que ce soit historiquement par les parcs ou dans les échantillons reçus. Par ailleurs, les photographies prises en Sibérie ne sont pas de qualité suffisante pour pouvoir identifier l'espèce de capillaire impliquée et ne permet donc pas de faire des hypothèses quant à la source d'infestation des tigres. Néanmoins, les capillaires retrouvés sur des félidés adultes en Asie sont des parasites très fréquents. L'étude de Patton et Rabinowitz en a mis en évidence sur les léopards, les tigres, les chats léopards et plusieurs espèces de chats sauvages asiatiques. Aucun typage n'a été fait, ne permettant pas d'identifier d'espèce. [32]

En revanche, les coccidies sont totalement absentes des tigres en liberté alors qu'on les retrouve de temps en temps chez les tigres captifs (7 échantillons positifs sur 66 échantillons observés). Ces coccidies peuvent avoir plusieurs origines différentes. Elles peuvent être adaptées aux tigres, vivre dans leur tube digestif et se disséminer dans les parcs au gré des échanges d'animaux. Une deuxième explication est que ces coccidies proviennent des carcasses de volailles, notamment de poulet, fréquentes dans le régime alimentaire des tigres de parcs zoologiques. La dernière alternative découle de la deuxième : les coccidies pourraient provenir du tube digestif d'animaux qui se seraient introduits dans l'enclos (pigeons, canards, etc.) et auraient été tués par les félins.

Si ces espèces de coccidies étaient des espèces adaptées au tigre, il serait logique d'en retrouver chez les individus sauvages également, même si en quantité moindre si l'on considère que le stress de la captivité augmente la multiplication et l'excrétion des parasites. Les tigres de parcs zoologiques vivent dans un espace beaucoup plus restreint que les tigres à l'état sauvage et sont donc beaucoup plus en contact avec leurs déjections. Un seul tigre porteur pourrait alors suffire à disséminer ses coccidies parmi tous les autres tigres du parc. Ces coccidies se retrouvent aussi sur des individus qui sont captifs depuis longtemps, ce qui pourrait signifier que ces infections sont chroniques ou bien que les tigres ne développent pas d'immunité suffisante pour bloquer complètement le développement des parasites. L'excrétion pourrait donc soit être chronique, soit être cyclique avec recontamination des animaux dans un environnement souillé.

Plusieurs espèces de coccidies ont été décrites chez les volailles d'élevage (poule, canard, pigeon, etc.). Il faudrait donc commencer par vérifier que les coccidies retrouvées dans les échantillons ne correspondent pas à des espèces retrouvées chez les oiseaux d'élevage. Cette identification se fait sur la base du nombre de sporocystes et de sporozoïtes contenus dans l'ookyste et nécessite donc d'avoir passé l'étape de sporulation. Une étude complémentaire serait donc nécessaire dans ce cadre, en récoltant de nouveaux échantillons sur les tigres positifs, s'assurant qu'ils sont toujours excréteurs de coccidies. Ces échantillons devraient ensuite subir une étape de purification puis être mis dans un milieu adéquat, de façon à les faire sporuler et pouvoir les identifier.

Aucune coccidie n'a été observée sur les tigres en liberté dont plusieurs individus ont probablement été prélevés à quelques mois d'intervalle, qui plus est en hiver, période de stress physiologique (lutte contre le froid et la sous-alimentation). Les hypothèses restantes quant à l'origine de ces coccidies sont donc les suivantes :

- parasites issus de l'alimentation des tigres captifs (alimentation fournie par le parc ou bien prédation dans les enclos),
- parasites issus d'autres espèces (de félidés ou autre) et parvenant à se développer dans le tube digestif des tigres.

Il faudrait en déterminer l'espèce de façon à pouvoir affiner les hypothèses et, pour cela, faire sporuler les coccidies.

Dans les parasites plus anecdotiques retrouvés pour les tigres de parcs zoologiques, on peut citer un parasite de la famille des Anoplocéphalidés, certainement issu de l'alimentation. Ce parc donne des produits de la chasse à manger à ses tigres donc les quelques Anoplocéphalidés peuvent provenir d'un herbivore, probablement ruminant.

Une autre trouvaille intéressante a été l'acarien *Leporacarus gibbus* (ou *Listophorus gibbus*) dont deux individus femelles ont été retrouvés dans un des échantillons. C'est un acarien qui vit sur le pelage des lapins et se nourrit de squames. Il peut servir de proie aux cheyletielles. Les tigres de ce parc avaient en effet des lapins dans leur ration.

Assez étonnamment, les parasites du genre *Toxascaris* ont été rares dans cette étude, tant sur les animaux captifs que sur les tigres de la réserve (une seule coproscopie positive, sur animal issu de parc zoologique) et ce, alors qu'ils sont décrits dans les deux cas. En effet, huit parcs sur les 47 ayant répondu au questionnaire indiquent qu'ils ont déjà retrouvé des œufs de *Toxascaris* dans leurs coproscopies de contrôle. Et des études antérieures menées sur les tigres des réserves de Sikhote-Alin et Lazo ont retrouvé des œufs de *Toxascaris leonina*. [15] [21] [43]

L'absence d'observation de ces parasites ne signifie pas pour autant l'absence de ces parasites donc des coproscopies régulières restent le meilleur moyen de suivre l'évolution de l'excrétion parasitaire.

MCours.com