
DEMANDE D'AUTORISATION POUR LA CAPTURE ET LA MANIPULATION DE SPECIMENS D'ESPECES ANIMALES PROTEGEES

*Projet « NE_xT : Comment la recherche d'aujourd'hui peut
améliorer la gestion des tortues marines de demain ? »*

ANNEXE 1 PROTOCOLES

Les procédures expérimentales détaillées ci-dessous suivent les recommandations du groupe de spécialistes des tortues marines (MTSG) de l'UICN (Union Internationale pour la Conservation de la Nature) et de la SSC (Species Survival Commission) en termes de standards de collecte et de manipulations des animaux : Techniques for the Conservation of Sea Turtles. IUCN/SSC Marine Turtle Specialist Group Publication No. 4, 1999

Chacune de ces manipulations est encadrée par des personnes disposant des connaissances et de l'expérience nécessaires à leur bonne réalisation, et titulaires des diplômes et ou formations requis. Elles peuvent faire intervenir le vétérinaire référent du centre de soins de Kelonia dans le cas d'opérations ou autres actes vétérinaires. Elles sont conformes aux règles d'éthique en matière d'expérimentation animale. Une attention particulière est portée au bien-être des animaux pendant toute la durée de l'application de ces procédures.

Juin 2020

1- CAPTURE EN MER ET MAINTIEN DES ANIMAUX

A La Réunion, les animaux sont capturés en plongée bouteille, sur les stations de nettoyage et de repos préalablement localisées. Les captures en apnée restent occasionnelles et se déroulent généralement dans les lagons ou dans les zones de faible profondeur. Au moins deux personnes restent à bord de l'embarcation (dont 1 CAH), pendant que deux plongeurs classe 1B/2B se mettent à l'eau. Les tortues sont capturées à la main par un plongeur aidé d'un second pour assurer à la fois le bien-être de l'animal et la sécurité du premier plongeur. La tortue est ensuite remontée lentement en surface et hissée à bord par la plateforme arrière ou par le boudin.



L'animal est placé dans un espace ouvert d'environ 1 m² protégé du soleil. Un tissu opaque humide est placé sur la tête de l'animal et sur une partie de la carapace pour protéger ses yeux du soleil et de la dessiccation : cela permet également de limiter le stress de l'animal au cours de la manipulation.

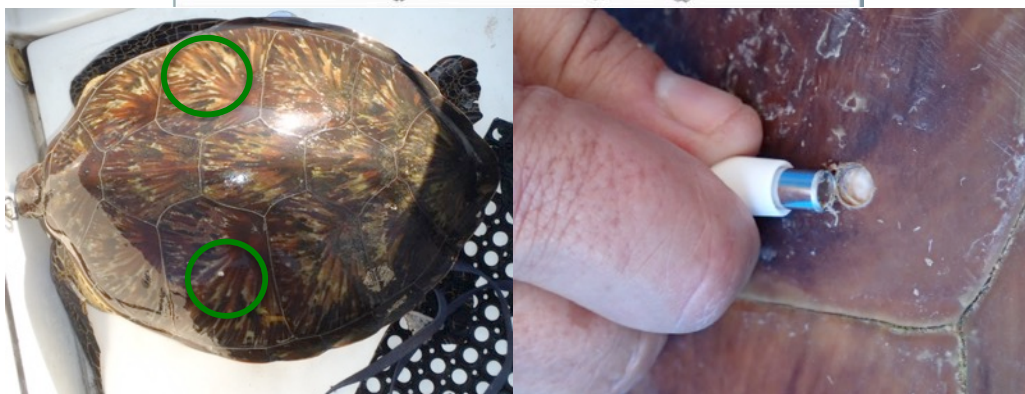
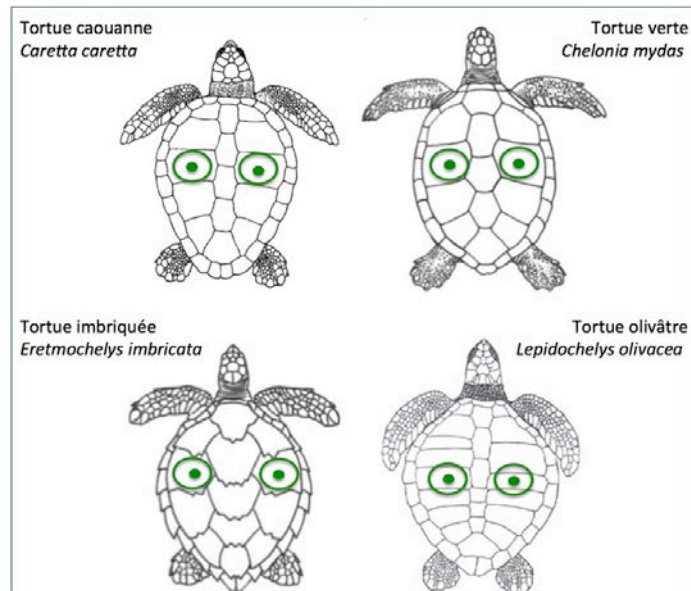
Un examen attentif permet de relever des éventuelles déformations, blessures ou parasites. Pour réduire le stress de la tortue, celle-ci est maintenue à bord uniquement durant le temps nécessaire à la pesée, aux mesures, à la photo-identification et aux prélèvements. La tortue est relâchée sur son site de capture.

Note : La capture des tortues marines au stade juvénile et en pleine eau doit être pratiquée en utilisant des méthodes qui évitent la noyade, par exemple en surface à l'aide d'une épuisette guidée précautionneusement autour de l'animal. Les filets immergés ne doivent être utilisés que de manière exceptionnelle, et le cas échéant la présence de tortues doit être contrôlée régulièrement. Alternativement, les tortues peuvent également être capturées à la main ou en plongée.

2- BIOPSIES

Plusieurs biopsies seront réalisées sur l'animal selon le protocole suivant :

- **Écaille** : sur la partie superficielle de la carapace à l'aide d'un Biopunch® stérile à usage unique de 6mm de diamètre. Prélever 2 échantillons sur 2 écailles costales, au centre et en bordure de l'écaille. Chaque échantillon est conditionné dans un tube Eppendorf différent (sans solution de conservation), et numéroté (année en cours-XX, selon les numéros disponibles dans la liste fournie) au marqueur en précisant le côté de l'écaille échantillonnée (« G » pour gauche et « D » pour droite) et la localisation sur l'écaille (« B » pour bord et « C » pour centre).



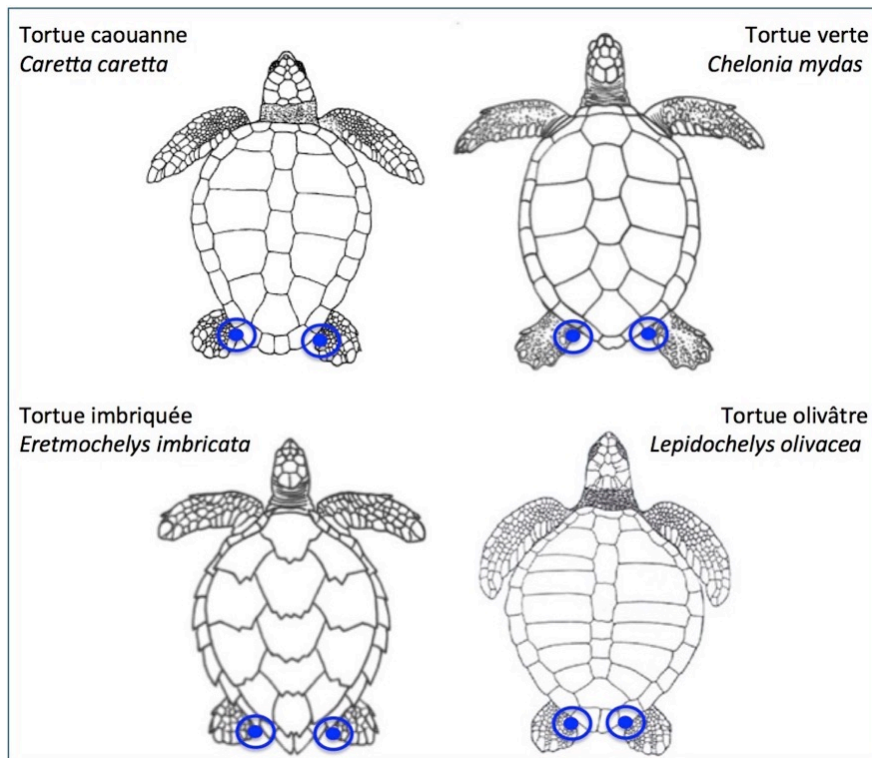
!!!! Il est très important d'effectuer ce prélèvement dès la sortie de l'eau de la tortue. Une écaille humide est beaucoup plus facile à prélever qu'une écaille sèche. Si

plusieurs animaux sont remontés en même temps ou à des pas de temps très proches, placer immédiatement un linge humide sur la carapace et effectuer le prélèvement d'échaille sur les tous les individus avant de passer aux autres manipulations.

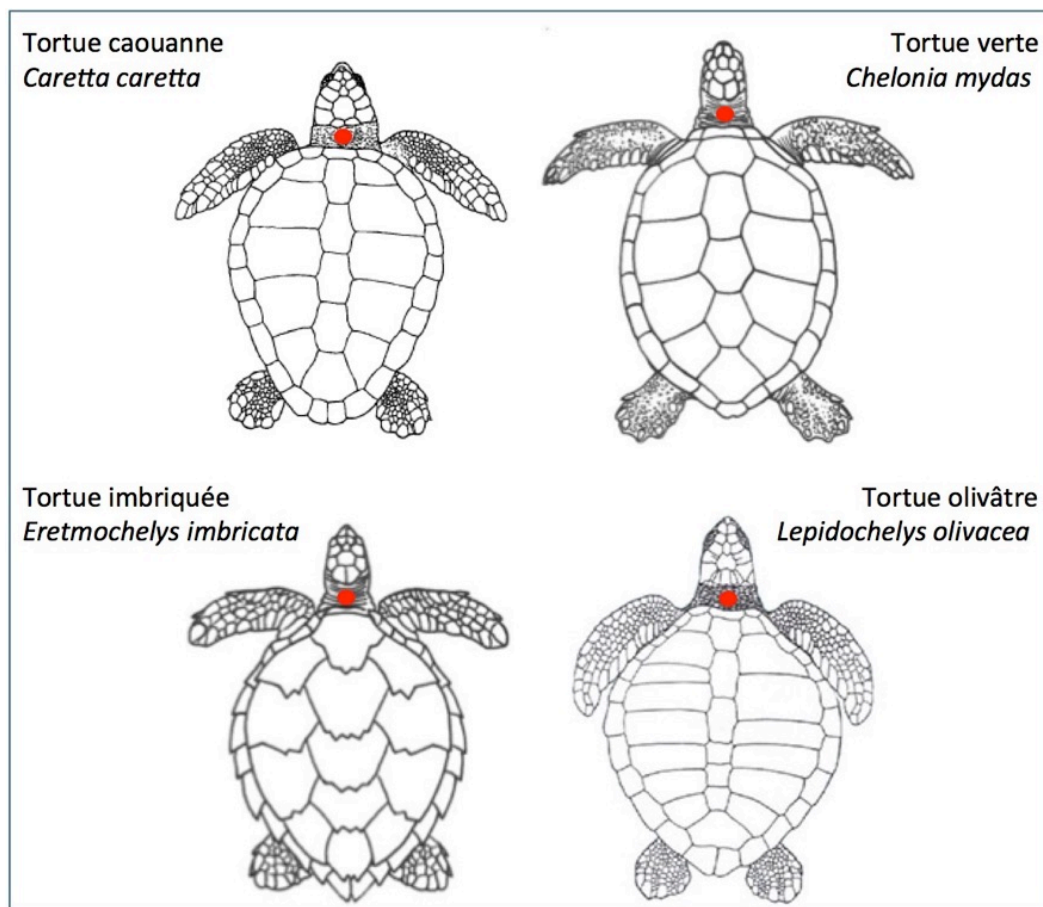
!!!! Ne pas hésiter à changer de Biopunch si la lame est abimée.

- **Peau** : prélèvement à la base des nageoires postérieures, partie dépourvue d'échaille, à l'aide d'un scalpel préalablement stérilisé, de **1 échantillons d'environ 0,3x0,3 cm**. L'échantillon doit être placé dans un tube précis pour l'analyse génétique contenant de l'alcool (tube annoté « G », bouchon rouge).

!!! Désinfecter la lame après chaque utilisation à l'aide d'un coton imbibé d'alcool et, idéalement, de la flamme d'un briquet.



- Sang** (environ 5 ml de sang total) : prélèvement au niveau du sinus veineux occipital à l'aide d'une aiguille stérile à usage unique fixée à une seringue ou à un tube à hémolyse. Le cou doit être étiré et la peau préalablement désinfectée à l'aide de coton imbibé d'alcool. L'aiguille, préalablement vissée au collecteur (vert), est insérée au niveau du deuxième tiers de la ligne située entre l'occiput et l'écaille nuccale de la carapace. Adapter la taille de l'aiguille à celle de l'individu : jaune = petits, rose = moyen / gros. Déplacer légèrement l'aiguille dans la zone d'insertion jusqu'à l'observation de gouttes de sang dans le collecteur. Insérer le tube (à hémolyse, sous vide) sans bouger l'aiguille afin d'effectuer le prélèvement.



!!!! Ne pas hésiter à changer de tube ou d'aiguille si après plusieurs minutes le sang ne perle pas. Il peut en effet arriver que le sang coagule dans l'aiguille.

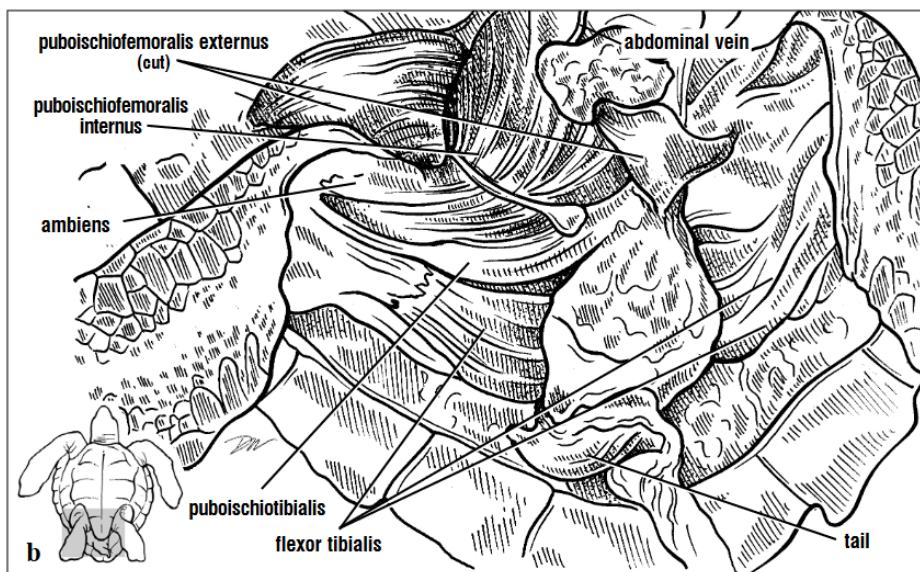
!!!! Ne pas retirer l'aiguille du cou tant que le tube est inséré à l'autre extrémité. Il s'agit de tubes sous vide qui aspireront donc de l'air lors du retrait de l'aiguille de la tortue.

!!! Positionner la tortue tête en bas sur un plan incliné facilite le prélèvement.



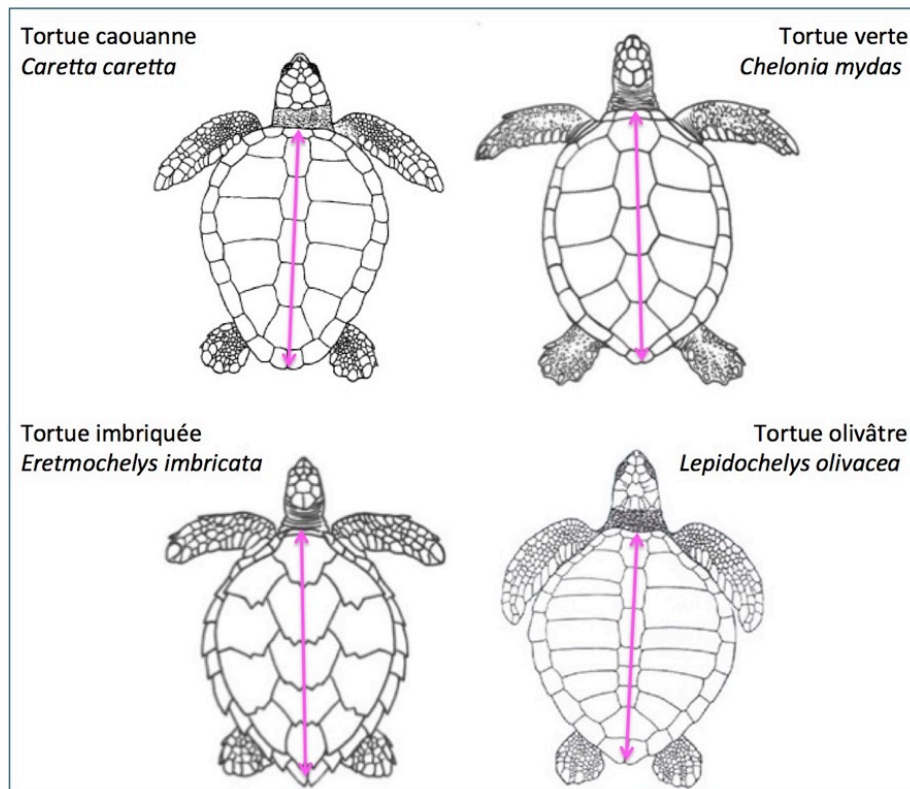
Note : Il existe des risques importants à l'utilisation d'anesthésiant si l'animal n'est pas suivi constamment. Il y a encore peu de connaissances sur le niveau de stress que peut entraîner une piqûre. La collecte de sang est donc conseillée sans anesthésie.

- Muscle :** La peau est préalablement désinfectée avec de l'alcool 70° et de la Bétadine, puis une anesthésie locale à base de Xylocaïne (10mg/mL) adrénégée (5mg/ml) est appliquée par injection sous-cutanée (0,33mg/kg). Une biopsie musculaire (100-150 mg) sera réalisée sur chaque muscle *flexor tibialis* postérieur à l'aide d'un Biopunch® stérile à usage unique de 4mm de diamètre. Le manipulateur sera muni de gant stérile, d'une charlotte et d'un masque pour limiter toute contamination. L'incision est refermée si nécessaire avec du fil monté stérile ou de la colle chirurgicale et de l'Alumisol est pulvérisé. Une injection d'antibiotique à but prophylactique (Triméthoprime Sulfamides à 30 ml/kg) en injection IM à proximité de la zone de prélèvement) est ensuite réalisée.



3- MESURES BIOMETRIQUES

- Longueur** : mesure de la longueur curviligne de carapace ($\pm 0,5$ cm) à l'aide d'un mètre ruban souple, et la longueur droite à l'aide d'un pied à coulisse. La mesure s'effectue le long de la ligne médiane de la carapace (écailles vertébrales) depuis l'écaille nucale (à la limite entre la carapace et la peau du cou) jusqu'à l'échancrure des écailles marginales supra-caudales.



- **Masse** : la pesée d'effectue à l'aide d'un harnais suspendu à un dynamomètre électronique et soulevé à bras d'hommes pour les juvéniles inférieurs à 50kg. Placer le harnais sous l'animal et faire remonter les anses derrière les nageoires antérieures et devant les nageoires postérieures.



- **Prise de photographies (photo identification)** : Les photos sont réalisées à l'aide d'un appareil photo numérique pour l'identification des individus. S'assurer que les photos sont nettes et que le profil est entièrement visible et inclue les écailles tympaniques (à proximité du cou). Photographier chaque profil, la carapace, les signes particuliers et une vue combinée du profil gauche.

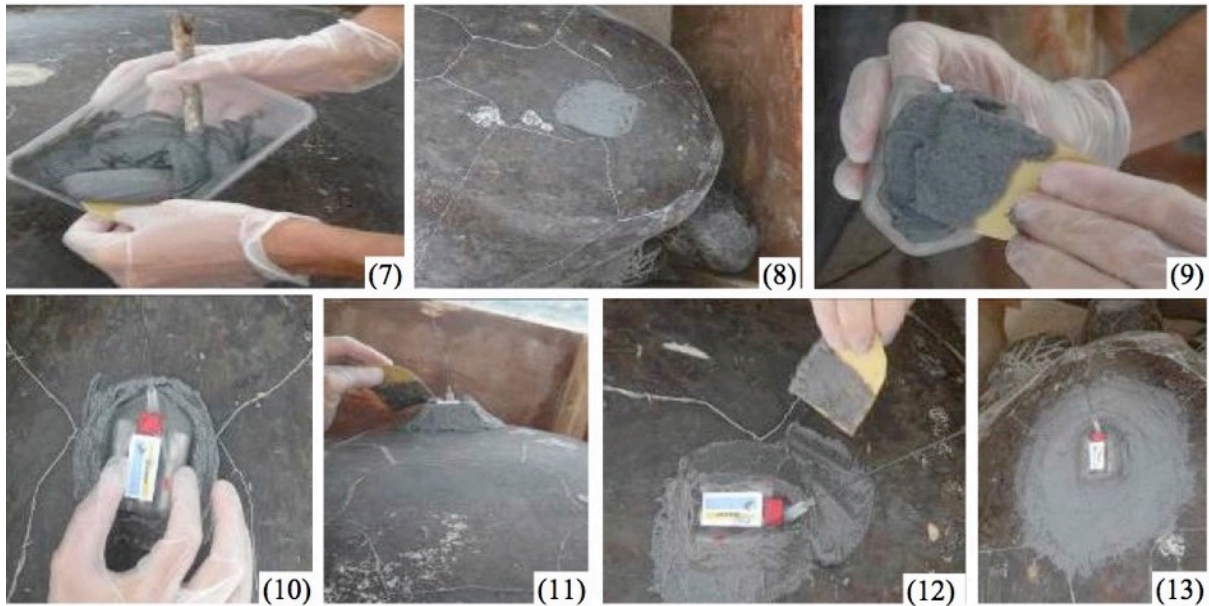


4- POSE DE BALISE

Les premières étapes de cette pose consistent en la préparation de la carapace et de la balise. Poncer la carapace à l'aide de papier abrasif au niveau de la zone sur laquelle la balise sera fixée (cercle d'environ 30 cm de diamètre dans la partie antérieure de la carapace, environ 2ème écaille vertébrale). Cette étape permet de lisser la zone de fixation et d'éliminer le maximum d'impuretés entre les écailles. Après ponçage, dégraisser la zone avec de l'acétone. Poncer également la balise sur les côtés et le dessous (attention, certains modèles sont préparés et ne doivent pas être poncés sur le dessous, une protection est à retirer au dernier moment avant la pose) à l'aide de papier à poncer, puis dégraisser à l'acétone. Activer ensuite la balise à l'aide d'un aimant passé au-dessus de la zone d'activation, et protéger les capteurs de salinité qui permettent l'activation du signal de la balise à l'aide de scotchs qui seront ôtés avant le relâcher.

La fixation se fait à l'aide de résine époxy à deux composants nécessitant un mélange à effectuer sur un support. Une fois le mélange préparé, déposer une première couche d'époxy (1/2cm d'épaisseur) de la taille de la balise afin de constituer un socle sur les premières écailles vertébrales. Poser la balise sur le socle et l'enfoncer un peu puis supprimer toutes les bulles d'air éventuelles. Aligner l'axe de la balise avec celui des écailles vertébrales de la carapace. Faire un moule hydrodynamique en remontant sur les côtés de la balise à l'aide d'une spatule. Être particulièrement vigilant sur l'hydrodynamisme à l'avant. Étaler le surplus d'époxy sur la carapace autour de la balise (couche de quelques millimètres). Laisser sécher 4h minimum, à l'abri de l'humidité (pluie, embruns...). Après séchage, retirer les scotchs des capteurs qui doivent être propres. Avant de relâcher la tortue, passer une dernière fois l'aimant dans la zone d'activation. La balise doit effectuer 10 clignotements rapides. Noter la date, l'heure et la position au relâcher.





!!!! Ne pas mettre de résine sur les capteurs et les scotchs.

5- RELACHER

Une fois les mesures, prélèvements et autres fixations terminés, la tortue est remise à l'eau sur le lieu de capture. Avant réintroduction dans le milieu naturel, elle est auscultée pour vérifier son état de santé. Les comportements particuliers (agitation, mutisme) sont annotés dans la table de données de terrain afin d'évaluer le pourcentage d'individus ayant eu des réactions particulières à la suite des manipulations.

Une fois remise en liberté, elle sera suivie quelques minutes afin d'évaluer si elle dispose de tous ses moyens (nage, respiration, capacité à sonder...). La durée de ce suivi dépendra de la visibilité de la tortue.

Les suivis par balise (Argos ou GPS) fournissent aussi des informations précieuses quant au devenir des tortues après manipulation, sur une durée pouvant aller jusqu'à un an.

Note : Il n'existe pas de méthode particulière pour évaluer le stress de tortues marines lors des manipulations, hormis visuellement. Des tests hormonaux peuvent être réalisés par la suite en laboratoire. Lorsqu'une tortue s'agite, on estime alors qu'elle est stressée. L'inverse, la prostration (évaluée sur les animaux de laboratoire), est difficilement détectable chez les tortues marines, à moins qu'elles soient apathiques.

