


Enquête sur la santé de la population de loups en Toscane

Published by Associazione Teriologica Italiana Hystrix, the Italian Journal of Mammalogy	Volume 30 (1): 19–23, 2019	OPEN ACCESS
Available online at: http://www.italian-journal-of-mammalogy.it	doi:10.4404/hystrix-00100-2018	
Research Article		
Health survey on the wolf population in Tuscany, Italy		
Cecilia AMBROGI ^{1,*} , Charlotte RAGAGLI ¹ , Nicola DECARO ² , Ezio FERROGLIO ³ , Marco MENCUCCI ¹ , Marco APOLLONIO ⁴ , Alessandro MANNELLI ⁵		
¹ <i>Comando Unità Tutela Forestale Ambientale Agroalimentare Carabinieri</i>		
² <i>Dipartimento di Medicina Veterinaria, Strada Provinciale per Casamassima 3, 70010 Valenzano (Ba)</i>		
³ <i>Dipartimento di Scienze Veterinarie, Largo Paolo Braccini 2, 10095 Grugliasco (TO)</i>		
⁴ <i>Department of Veterinary Medicine, University of Sassari, Sassari, Sardinia, Italy</i>		
⁵ <i>Dipartimento di Scienze Veterinarie, Largo Paolo Braccini 2, 10095 Grugliasco (TO)</i>		

INTRODUCTION

Au cours des dernières décennies, les loups (*Canis lupus*) ont élargi leurs aires de répartition géographique en Italie suite à leur protection juridique et à un régime alimentaire dépendant du nombre d'ongulés. Leur nombre est actuellement estimé entre 1260 et 1800 (Galaverni et al., 2015). En outre, dans les zones de montagne, où les traditions de pratiques d'élevage ont été abandonnées, un reboisement naturel a favorisé les populations de loups (Ciancio et al., 2006). **La surveillance de la santé est considérée comme une priorité dans le plan de conservation du loup italien** (Genovesi, 2002), étant donné que la petite taille des meutes et des taux de mortalité élevés peuvent affecter de manière significative la composition et la stabilité des populations de loups (Mech et Goyal, 1993).

Parmi les agents transmissibles, **le parvovirus canin** (CPV; *Protoparvovirus*, *Parvoviridae*) et le virus de la **maladie de Carré** (CDV; *Morbillivirus*, *Paramyxoviridae*) sont les plus fréquemment recherchés dans les enquêtes sur la santé des populations de loups en Europe et en Amérique du Nord (Millán et al., 2016; Allison et al., 2013; Almqvist et al., 2009; Sobrino et al., 2008; Fico et al., 1996). Une large gamme de transmissions directes et indirectes de parasites gastro-intestinaux ont été trouvés chez les loups et leur rôle dans la conservation reste à clarifier (Craig et Craig, 2005; Guberti et al., 1993).

Dans cette étude, des procédures non invasives telles que l'analyse d'échantillons de selles fécales et de carcasses ont été utilisés pour détecter la présence d'agents virus transmissibles pour les populations de loups dans deux parcs nationaux situés dans les Apennins du Nord, en Toscane, en Italie. Une recherche d'anticorps contre le virus de la **pseudorabie** (PRV) a été réalisé chez le sanglier (*Sus scrofa*), réservoir épidémiologique du virus et principale proie des loups dans les zones d'étude à cet endroit (Lari et al., 2006; Capua et al., 1997; Hahn et al., 1997). Les agents microbiens

peuvent être transmis entre les loups et les chiens domestiques (*Canis lupus familiaris*). Par conséquent, les informations des propriétaires de chiens ont été recueillies pour estimer la couverture de vaccination chez les chiens partageant l'habitat du loup.

MATERIEL ET METHODES

Zones d'étude

L'étude a été réalisée dans deux parcs nationaux du nord des Apennins, en Toscane, en Italie: le parc national Foreste Casentinesi (FCNP) et la région voisine de Alpe di Catenaia (43° 47'02.6400 N, 11° 43'02.0600 E) à une altitude comprise entre 300 et 1 700 m d'altitude (a.s.l.); les Orecchiella, Lamarossa, Pania di Corfino Natural Reserves (44° 12'01.7800 N, 10° 21'03.8300 E) à une altitude allant de 1000 à 2054 m.s.l. dans l'Appennino Tosco-Emiliano National Park (ATENP) et la réserve naturelle voisine d'Orrido di Botri (44° 40'56.7700 N, 10° 36'03.7600 E) à une altitude comprise entre 900 et 1300 m a.s.l.

Les populations de loups ont été surveillées pendant plusieurs années dans les deux zones d'études (Mattioli et al., 2011; Reggioni données non publiées 2006; Apollonio et al., 2004) en utilisant des procédures indirectes (transects, suivi dans la neige et wolf howling). La population de loups était estimée à 2–3 par 100 km² dans l'ATENP et 8 loups aux 100 km² dans le FCNP. Les examens génétiques dans la FCNP ont identifié 35 génotypes différents (Caniglia et al., 2014).

Collecte de données sur le terrain

Échantillons de crottes

Des échantillons de crottes de loups (n = 703) ont été recueillis au cours des activités de suivi, sur des transects sélectionnés par échantillonnage **selon des critères de commodité**, soit en une ou deux sessions mensuelles en **2006 et 2007** (CFS - police forestière de l'État). Des échantillons de fèces ont été attribués à des loups sur la base de critères

physiques (Caniglia et al., 2014; Darimont et al., 2008) dans l'ATENP (n = 439) et au moyen d'analyses génétiques dans le FCNP (n = 264). Les matières fécales ont été conservées à -80°C pendant 10 jours pour neutraliser les œufs d'*Echinococcus spp.* puis à -20°C avant l'analyse en laboratoire (Hildreth et al., 2004). Les données obtenues à partir de l'analyse d'échantillons fécaux de l'ATENP et de la réserve naturelle d'Orrido di Botri ont été combinées à celles de l'ATEPN, étant donné que les deux zones sont relativement proches (20 km distance).

Échantillons de tissus

Neuf loups (un de l'ATENP, huit de la FCNP), qui ont été retrouvés morts dans les zones d'étude entre 2005 et 2007, ont subi une nécroscopie. Les causes de décès comprennent les accidents de voiture et le braconnage. Des échantillons de tissu ont été prélevés sur les reins, la vessie, le foie, les poumons, le mésentère des ganglions lymphatiques, la rate, l'intestin grêle et le cerveau. Les échantillons ont été congelés et soumis au département de médecine vétérinaire, Aldo Moro Université de Bari, pour analyse en laboratoire. En raison du mauvais état de conservation des carcasses, aucun échantillon pour l'histopathologie n'a été prélevé.

Échantillons sanguins de sanglier

Des échantillons de sang ont été prélevés sur le caillot cardiaque de 135 sangliers pendant la saison de chasse 2005, dans les environs de la FCNP. Le sérum sanguin a été conservé à -20°C avant l'analyse en laboratoire.

Informations sur les chiens domestiques

Un des auteurs a interrogé 81 propriétaires de chiens vivant dans des régions éloignées où les chiens partagent une partie de l'habitat du loup. Les données ont été collectées concernant le statut vaccinal des chiens contre les principales maladies virales (parvovirus, le paramyxovirus; la vaccination antirabique n'est généralement pas pratiquée, puisque l'Italie est indemne de rage).

RESULTATS

Dans les deux zones d'étude, les œufs de *Tricuridae* et de *Strongylidae* étaient les formes parasitaires les plus prévalentes du nématode. Bien que la prévalence d'*Ascarididae* était relativement faible, la présence d'œufs d'*Ascarididae* était la plus élevée dans des échantillons fécaux positifs (Tab. 1). Les infections avec EPG > 1000 étaient détectées dans 8,5% des spécimens de *Tricuridae*. L'intensité de l'infection a également été détectée (UPG > 1000, OPG > 10000): en particulier, 8,5% des échantillons ont montré des niveaux élevés de *Tricuridae*, 1,4% de *Strongylidae*, 22,2% des œufs et des oocystes d'*Ascarididae* ont été trouvés dans 17,4% des échantillons fécaux.

Analyse virologique

Vingt-cinq groupes composés chacun de cinq échantillons de selles (pour un total de 125 échantillons) ont montré une PCR négative pour le parvovirus. Les échantillons de tissus des neuf loups retrouvés morts étaient négatifs pour

CDV, CCoV, CAAdV-1 et CAAdV-2. Les échantillons d'intestin, de rate et de mésentère des ganglions lymphatiques de deux loups (âgés d'environ 6 à 18 mois) retrouvés morts dans le FCNP étaient positifs pour le parvovirus (CPV). Les titres d'ADN viral étaient généralement faibles, allant de 7,19 X 10³ (intestin d'un individu) à 2,71 X 10⁴ (l'intestin de l'autre loup) par mg de matières fécales. Le regroupement de la rate et des ganglions lymphatiques des mêmes individus étaient positifs, bien qu'ils présentaient des charges d'ADN de CPV inférieures (2,84 X 10³) et 6.12 X 10³ par mg de matières fécales, respectivement). Les deux souches ont été caractérisées de type 2a, mais les charges d'ADN viral étaient trop faibles pour permettre tout séquençage de régions informatives pour des études d'évolution ultérieures. Concernant la détection ELISA des anticorps anti-PRV a donné des résultats positifs sur 57 échantillons de sérum sur 135 (42,2%), qui ont été collectés sur des sangliers dans les environs de la FCNP.

Enquête auprès des propriétaires de chiens

Sur la base de l'analyse des questionnaires administrés aux propriétaires de chiens, dans l'ATENP, 39% des chiens était correctement vaccinés (trois vaccinations administrées à l'âge de quatre, huit et seize semaines), 37% ont reçu seules les deux premières vaccinations et 24% étaient non vaccinées. Dans la PNFC, 45% des chiens était correctement vaccinés, 35% ont été vaccinés deux fois seulement, alors que 20% étaient non vaccinés.

DISCUSSION

L'examen parasitologique des excréments de loup dans les deux zones étudiées a révélé que les œufs de *Tricuridae* étaient le parasite le plus commun des formes de nématodes, suivis des œufs de *Strongylidae*. Une telle constatation pourrait être prise en compte par la résistance des œufs de ces parasites dans l'environnement, favorisant la transmission de l'infection au sein des populations de loups (Capelli et al., 2003). Inversement, les œufs d'*Ascaridae* étaient relativement rares dans les échantillons examinés; en fait, bien qu'ils soient courant chez les carnivores et précédemment signalé chez les loups (Bryan et al., 2012; Byman et al., 1977; Holmes et al., 1968), les *Ascaridae* ne sont pas considérés comme dominants chez cette espèce (Segovia et al., 2003, 2001; Guberti et al., 1993). De plus, dans notre étude, la fréquence des *Ascaridae* aurait pu être sous-estimée en raison de la probabilité relativement faible de collecter les excréments de loups juvéniles, qui sont plus susceptibles d'être infectés. En fait, les crottes trouvées sur les transects, ont tendance à faire partie du marquage olfactif des loups adultes (Mech et Boitani, 2003; Vilà et al., 1994). En ce qui concerne la détection de *Cestoda* (Gori et al., 2015; Guerra et al., 2013; Guberti et al., 1993), la relative faible prévalence obtenue dans notre étude pourrait être due à la pauvreté de la sensibilité de l'analyse copromicroscopique par flottation dans le diagnostic de ces parasites (Poglayen et al., 2017; Villeneuve et al., 2015). Nous avons observé une charge relativement élevée d'oocystes de *Coccidia*; cependant, aucune des formes de parasites identifiées n'appartenait à *I. canis*, qui était auparavant montré comme un agent

pathogène associé à la mort des louveteaux en Amérique du Nord (Mech et Kurtz, 1999).

La proportion relativement faible de matières fécales de loup caractérisée par une grande numérations parasites (EPG > 1000 et OPG > 10000) suggèrent une valeur globale de distribution des parasites parmi les hôtes (Tompkins et al., 2002; Wilson et al., 2002; Anderson et May, 1978). Dans ces circonstances, le peu d'hôtes hébergeant la majorité des parasites pourraient être affaiblis et particulièrement vulnérable aux agents pathogènes secondaires (Stronen et al., 2011; Scott, 1988). La prévalence élevée de séropositivité au PRV chez les sangliers, qui correspond aux résultats obtenus dans d'autres régions d'Italie (Lari et al., 2006), suggère que les loups sont exposés à l'agent de la maladie d'Aujeszky, sachant que le sanglier est l'élément principal du régime alimentaire du loup (Davis et al., 2012; Mattioli et al., 2011, 1995). Bien que la **pseudorange** ait été identifié chez le cerveau d'un loup qui a montré des signes nerveux après avoir été nourri avec des abats de sanglier dans un parc animalier en Belgique (Verpoest et al., 2014), les conséquences de l'exposition au PRV pour les populations de loups vivant librement doivent être clarifiés et sont probablement rares.

La détection du CPV (**parvovirus canin**) dans les tissus de deux loups a confirmé la circulation d'un tel agent au sein de la population de loups de l'Apennin du Nord, où il avait déjà été trouvé dans des échantillons fécaux par Martinello et Al. (1997). La présence de CPV n'avait jamais fait l'objet d'une enquête auparavant dans l'ATENP, où tous les échantillons de selles et de tissus ont donné des résultats négatifs. Les virus détectés dans la présente étude appartiennent à la variante CPV-2a. Aussi il est peu probable que le CPV ait contribué à la mort des deux loups positifs, car les charges d'ADN viral étaient très faibles et les loups ont été retrouvés morts avec des lésions imputables à des accidents de voiture. Le rapport le plus récent sur le CPV chez les loups en Italie remonte à 2001 et décrit la détection de quatre souches de CPV-2b en 1995 (Battilani et al., 2001). Plus récemment, une souche de CPV-2a a été rapportée chez un loup en Bulgarie (Filipov et al., 2016). Basé sur la caractérisation génétique du virus que nous avons identifiés, les deux individus hébergeaient l'une des variantes antigènes circulant dans la population canine. Une souche de CPV-2b était récemment détecté chez un loup retrouvé mort dans la région de Campanie, en Italie, qui était co-infecté par CCoV et CAdV-2 pantropes (Alfano et al., 2019).

Tous les échantillons de selles examinés étaient négatifs pour le parvovirus. Le virus était rarement retrouvé dans les matières fécales, malgré la détection fréquente d'anticorps anti-CPV et la présence endémique de CPV dans un certain nombre de populations de loups en Amérique du Nord et en Europe (Alfano et al., 2019; Millán et al., 2016; Molnar et al., 2014; Alberg et al., 2009; Sobrino et al., 2008). Ceci est dû à l'excrétion virale, qui peut se produire que pendant la première phase de l'infection. En outre, l'excrétion virale dans une population avec une parvovirose endémique est probablement réduite par l'immunité, y compris la protection des louveteaux par immunisation passive (Mech et al., 2012). Une analyse sérologique sur des individus piégés vivants peut révéler des informations précieuses sur l'état de santé des loups (Zarnke et Ballard, 1987; Goyal et al., 1985; Choquette

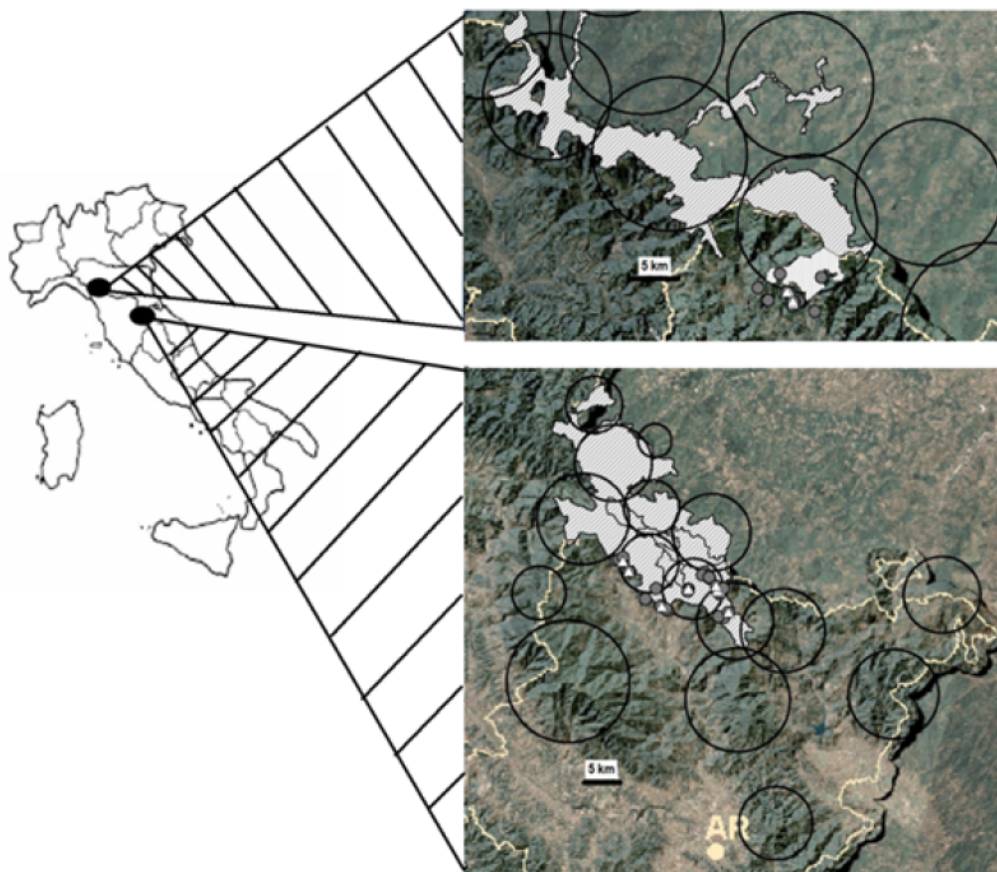
et Kuyt, 1974), bien qu'elle suscite un débat sur les dépenses financières considérables requises et sur des considérations éthiques (Darimont et al., 2008).

Les chiens vaccinés contre l'ancienne souche CPV-2 risquent une nouvelle infection par de nouveaux réservoirs viraux, qui peuvent émerger après mutation, comme en témoignent les lignées virales identifiées ces dernières années (CPV-2a, b, c). Cela pourrait expliquer l'apparition d'épidémies d'infection dans des chenils d'élevage, où les chiens étaient régulièrement vaccinés avec les vaccins de type ancien, basés sur la lignée classique CPV-2, qui est maintenant éteinte (Decaro et Buonavoglia, 2012; Müller et al., 2011; Decaro et al., 2009, 2008). Nous ne pouvons pas exclure la création d'un cycle sylvatique de transmission du parvovirus (Santos et al., 2009; Sobrino et al., 2008).

D'autres virus canins n'ont pas été détectés dans les échantillons analysés, bien qu'il a déjà été rapporté que CDV, CAdV (Dowgier et al., 2018) et CCoV soient capable d'infecter et de causer des maladies chez les carnivores sauvages (Alfano et al., 2019; Zarnke et al., 2001; Laurenson et al., 1998; Stephenson et al., 1982; Choquette et Kuyt, 1974). La **Distemper** (maladie de Carré) est due à un virus très pathogène (Alberg et al., 2009), qui nécessite une importante population hôte afin d'être maintenu. Les populations de chiens ont été considérées comme la cause de l'épidémie de maladie de Carré à plusieurs reprises (Di Sabatino et al., 2014; Decaro et al., 2004; Cleaveland et al., 2000); dans un certain nombre de cas, ainsi on présuait l'existence d'une population à hôtes multiples, avec des chiens jouant un rôle secondaire. La vaccination contre la maladie de carré offre un bon niveau d'immunité pendant de nombreuses années (Martella et al., 2008). Depuis, l'immunité collective contre la maladie de carré était suffisante pour contrôler la maladie, malgré la pression infectieuse chez les chiens aussi longtemps que l'immunité du groupe était légèrement au dessus 70% des chiens vaccinés (Rikula et al., 2007), on peut supposer que les chiens vaccinés jusqu'à présent étaient suffisants pour construire une barrière contre la maladie et que la population de chiens non vaccinés n'était pas suffisante pour constituer un réservoir de maladie de carré. Des recherches supplémentaires devraient inclure les populations de renards dans les enquêtes sur la santé dans les zones d'étude, étant donné que, depuis 2006, les renards roux du nord de l'Italie ont connu une épidémie de maladie de Carré (Loots et al., 2017; Martella et al., 2010), et compte tenu de la récente introduction et propagation de souches CDV nouvelles ou réémergentes en Europe, transportés par des chiens importés d'Europe orientale (Mira et al., 2018).

La proximité avec leurs proies, telles que cerfs et sangliers et celle avec les humains pourraient favoriser la transmission d'agents microbiens entre loups et chiens domestiques. Par conséquent, les populations de chiens pourraient être considérées comme une composante importante de l'écosystème du loup et peut être utilisé comme sentinelles pour la santé des loups (Di Sabatino et al., 2015). Les autorités des parcs nationaux, en collaboration avec les vétérinaires publics, devraient porter une attention particulière aux populations locales de chiens, réduire le nombre de chiens errants, promouvoir des programmes de vaccination et

l'éducation appropriées des chiens et protéger la population de loups contre la maladie de carré et les nouvelles souches épidémie de parvovirus canin.



Les points blancs et gris représentent l'emplacement / la position de chiens
Les points gris représentent les chiens non vaccinés.

Figure 1 - Les chiens et les loups partagent le même territoire : les cercles représentent le domaine vital de différentes meutes de loups obtenues à partir de données de pistage dans la neige, de hurlements de loups et d'analyses génétiques. (LIFE07NAT / IT / 000502 « Améliorer les conditions de la conservation des grands carnivores - un transfert de bonnes pratiques », LIFE EXTRA).