

# Aspects sanitaires de la réintroduction de la cistude d'Europe en Suisse et en France



**TIERPARK BERN**  
Dählhölzli + BärenPark



Stefan Hoby, DVM, Dipl. ECZM (ZHM),  
Benoît Quintard, DVM, Dipl. ECZM (ZHM)  
Vétérinaires référents du programme d'élevage européen des cistudes d'Europe

PNA Cistude d'Europe, JTC, 28/03/2024



P1

# Introduction

# Réintroduction en Alsace et Suisse

 *Emys orbicularis haplotype IIa*

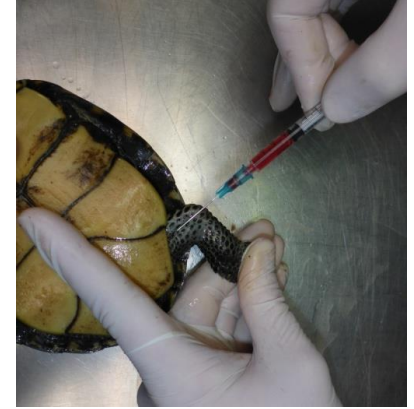
 Parc animalier de Berne et PZBM participent à la réintroduction

 Suivi sanitaire respectivement depuis 2019 et 2013



# Réintroduction en Alsace et Suisse

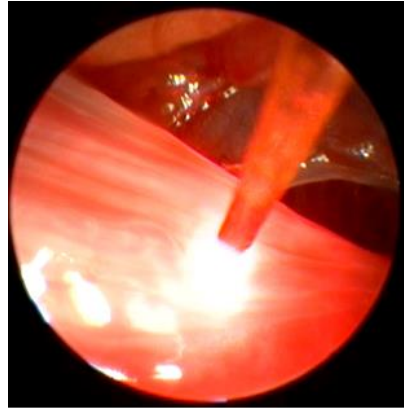
 *Suivi vétérinaire: de l'oeuf au relâcher en passant par les reproducteurs !*



# Réintroduction en Alsace et Suisse




 *Suivi vétérinaire: de l'oeuf au relâcher en passant par les reproducteurs !*

 *Gestion des espèces invasives*



 *Ici focus sur le suivi sanitaire pour les relâchers*

# *Réintroduction en Alsace et Suisse*

-  *Le risque se définit en fonction du statut sanitaire des animaux sauvages et de celui des animaux d'élevage*
-  *Objectifs: préparer les animaux au relâcher (fitness) et éviter l'introduction de pathogènes in natura*
-  *Moyens: Suivi vétérinaire des animaux en élevage et recherche des agents pathogènes majeurs chez cette espèce in natura et en centre*



# Réintroduction en Alsace et Suisse



**TIERPARK BERN**  
Dählhölzli + BärenPark



*Cadré par les directives de l'IUCN sur les réintroductions et translocations*



Guidelines for Reintroductions and Other Conservation Translocations

## Annexes to Guidelines

### Annex 6

#### Risk assessment

#### 6.4 Disease risk

1. As it is not possible, despite all appropriate precautions, to ensure that translocated individuals of any species are completely free of all disease/pathogen risk, risk assessment should therefore focus on known pathogens in the

translocation stock that are likely to have undesirable impacts on other organisms at the destination. Generalist pathogens with no known history at the destination are a particularly high risk.



REINTRODUCTION AND INVASIVE SPECIES SPECIALIST GROUPS' TASK FORCE ON MOVING PLANTS AND ANIMALS FOR CONSERVATION PURPOSES




P2

Protocole  
sanitaire:  
M&M

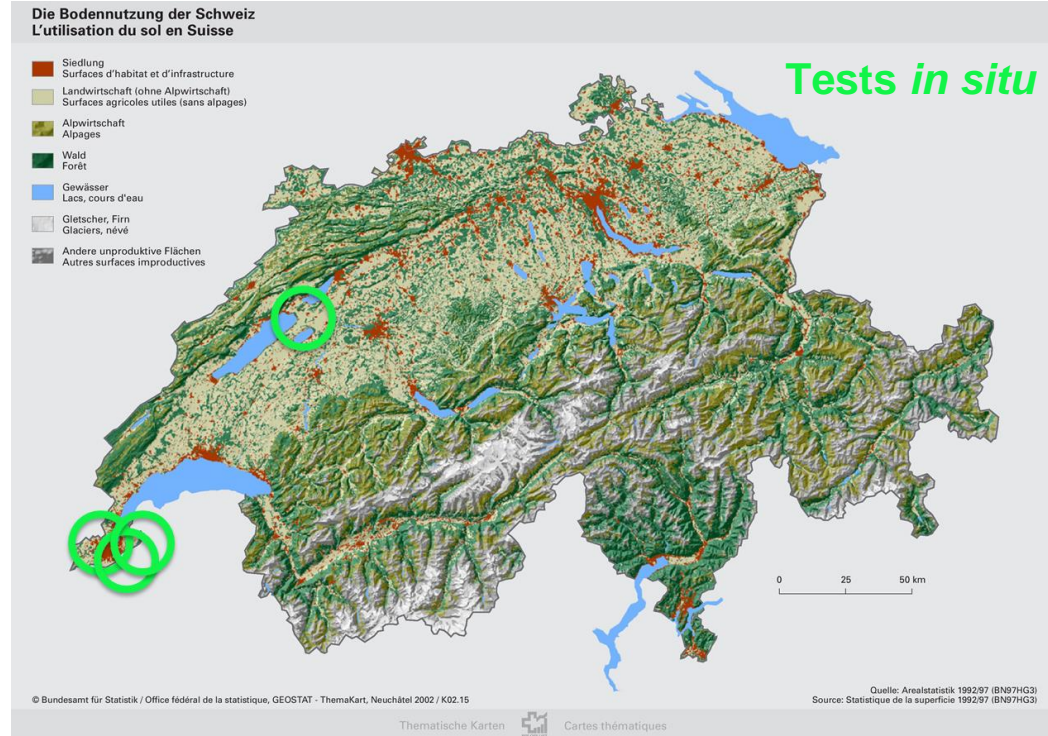


# Protocole sanitaire M&M

## Tests in situ


 *En Alsace: pas de population résiduelle*

 *En Suisse :*

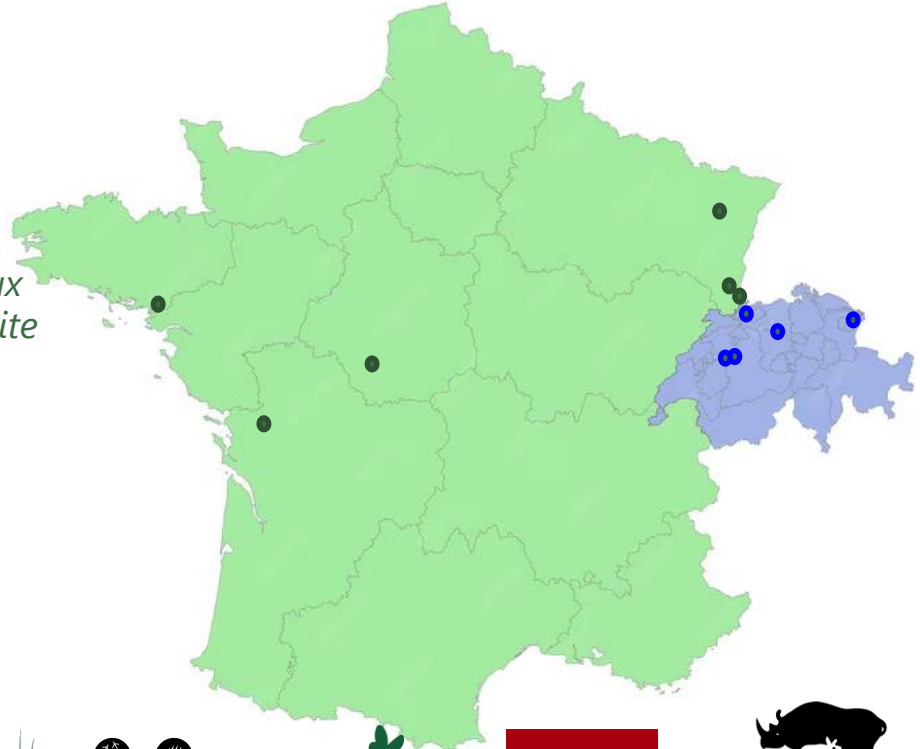


# Protocole sanitaire M&M:

## Tests ex situ

 *En France: 2 élevages conservatoires initiaux (Parc zoologique et Botanique de Mulhouse – Petite Camargue Alsacienne) puis Parc de Sainte-Croix, Parc de la Haute-Touche, Zoodysée et Parc de Branféré)*

 *En Suisse : Parc animalier de Berne, Papiliorama, Dietsche, Kutzli, Schaffner*



# Protocole sanitaire M&M

## Tests réalisés durant quarantaine


Ecouvillons buccaux/cloacaux	Sang	Selles	Imagerie
<i>Mycoplasma</i> spp ✓ ✓	Hématocrite (✓) ✓	Frottis natif ✓	Radiographie ✓ (✓)
Herpesvirus ✓ ✓	Biochimie (✓) ✓	Frottis d'iode ✓	Echographie ✓ (✓)
Ranavirus ✓ ✓	Numération de formule sanguine (✓) ✓	SAF ✓	
		Culture ✓	

✓ Réalisé à Berne

✓ Réalisé à Mulhouse (en fonction de la taille de l'individu)

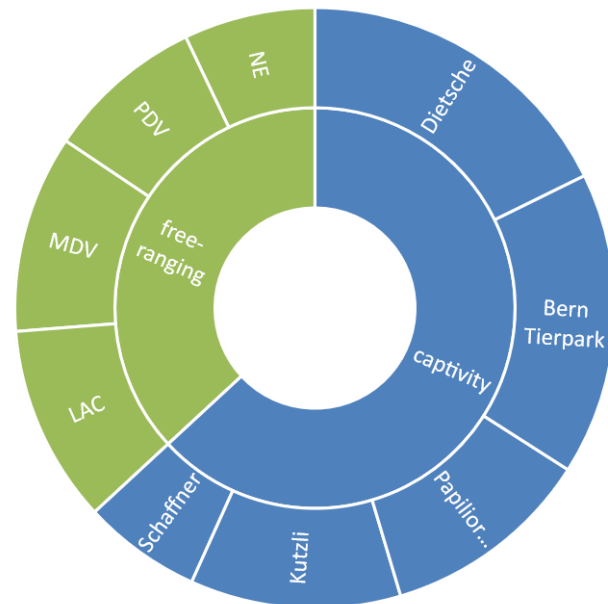
# Protocole sanitaire M&M

## Animaux concernés

 *En Alsace: 25% des animaux relâchés (125 animaux)*

 *En Suisse : 52 animaux in situ, 89 animaux ex situ (141 animaux)*

*Soit 20% de la population (population in situ estimée à 600 individus et 150 animaux ex situ)*








03

Resultats

## Examen general, étude de Berne

-  4 animaux présentant des signes cliniques (apathie, anorexie, bruits respiratoires amplifiés, paupières gonflées) → Spirorchidiose (vers suceurs) (n = 1), aucun diagnostic (n = 3),
-  4 animaux envoyés morts → Spirorchidiose (n=1), prédation (n=1), noyade (n=1), pas de diagnostic (n=1)
-  133 animaux "sains" = aucun signe clinique pendant l'examen



En Alsace, découvertes fortuites lors des CMR



## Examen général




 Autres résultats les plus fréquents :

Modifications de la carapace de différents degrés de gravité (n = 34, 24.1%)

Lésions cutanées, en majorité traumatiques (n = 22, 15.6%)





## Agents pathogènes


-  Au total, 275 animaux testés par PCR pour l'herpèsvirus, le ranavirus et *Mycoplasma spp.*
-  Pas d'herpèsvirus ni de ranavirus détectés !
-  40% positives à la PCR pour *Mycoplasma spp* en Suisse



## Mycoplasma

 Séquençage de 3 échantillons de chaque groupe positif avec deux primers : 16S : tous identiques au sein de la population et identiques à des clones de mycoplasmes non cultivés, "emydid Mycoplasma"

 IS : similarités élevées (très peu de changements de nucléotides) avec des clones de "emydid Mycoplasma".

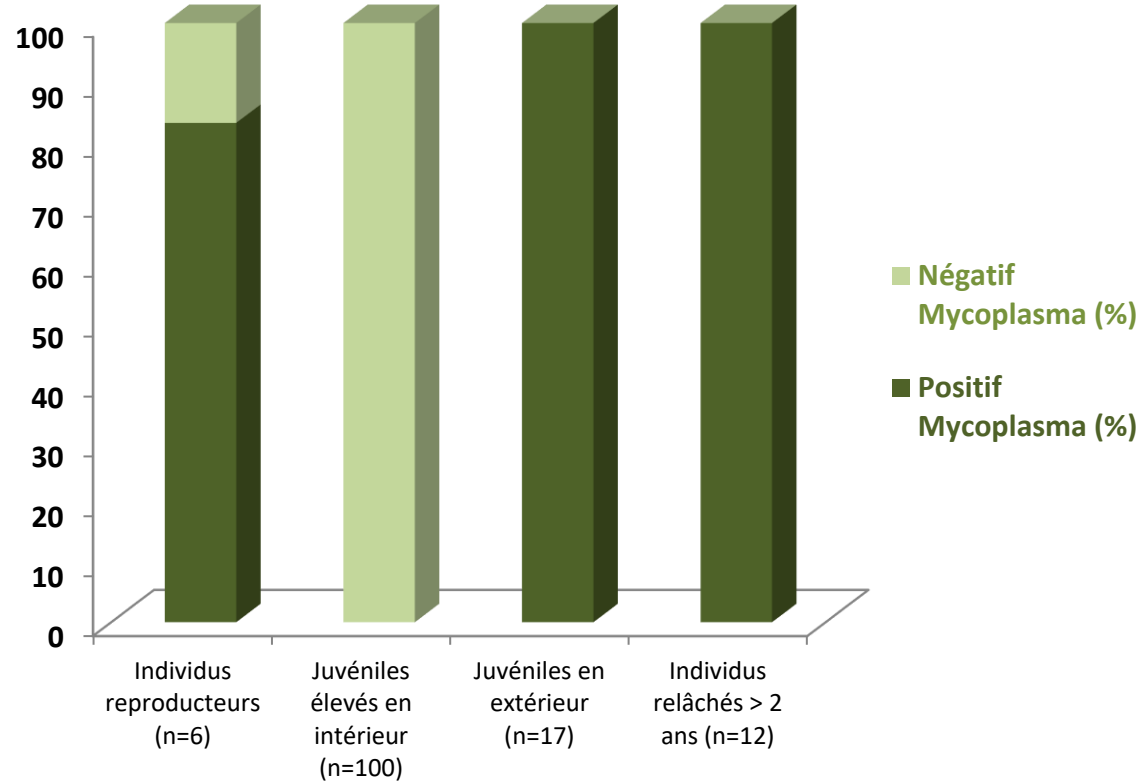
 Sur tous les individus dépistés (FR+CH) , un seul présentait des symptômes respiratoires supérieurs

Sequences producing significant alignments							Download	Manage Columns	Show	100	?	
select all 100 sequences selected							GenBank	Graphics	Distance tree of results			
	Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession					
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Uncultured Mycoplasma sp. clone DE28 16S-23S ribosomal RNA intergenic spacer, partial sequence</a>	876	876	100%	0.0	99.58%	<a href="#">KJ623616.1</a>					
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Uncultured Mycoplasma sp. clone SL13 16S ribosomal RNA gene, 16S-23S ribosomal RNA intergenic spacer gene, and 23S ribosomal R</a>	870	870	100%	0.0	99.37%	<a href="#">MG677114.1</a>					
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Uncultured Mycoplasma sp. clone NJ15 16S-23S ribosomal RNA intergenic spacer, partial sequence</a>	870	870	100%	0.0	99.37%	<a href="#">KJ623620.1</a>					
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Uncultured Mycoplasma sp. clone PA2 16S-23S ribosomal RNA intergenic spacer, partial sequence</a>	870	870	100%	0.0	99.37%	<a href="#">KJ623619.1</a>					
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Uncultured Mycoplasma sp. clone NJ28 16S-23S ribosomal RNA intergenic spacer, partial sequence</a>	869	869	100%	0.0	99.37%	<a href="#">KJ623617.1</a>					
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Uncultured Mycoplasma sp. clone NJ40 16S-23S ribosomal RNA intergenic spacer, partial sequence</a>	863	863	100%	0.0	99.16%	<a href="#">KJ623618.1</a>					
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Uncultured Mycoplasma sp. clone 17-598 16S-23S ribosomal RNA intergenic spacer, partial sequence</a>	859	859	100%	0.0	98.96%	<a href="#">MH260079.1</a>					
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Uncultured Mycoplasma sp. clone DE26 16S-23S ribosomal RNA intergenic spacer, partial sequence</a>	857	857	100%	0.0	98.96%	<a href="#">KJ623621.1</a>					
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Uncultured Mycoplasma sp. clone 559/2008 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; 16S-23S ribosomal RNA intergenic spacer, comp</a>	850	850	97%	0.0	99.57%	<a href="#">FJ159565.1</a>					
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Uncultured Mycoplasma sp. clone C3 16S-23S ribosomal RNA intergenic spacer, partial sequence</a>	743	743	87%	0.0	98.80%	<a href="#">MH259305.1</a>					
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Mycoplasma agassizii strain Karina 09 Fr. Tortoise 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; 16S-23S ribosomal RNA intergenic spacer,</a>	566	566	100%	4e-157	88.34%	<a href="#">AY780801.1</a>					
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Mycoplasma agassizii strain PS6 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; 16S-23S ribosomal RNA intergenic spacer, complete sequer</a>	560	560	100%	2e-155	88.14%	<a href="#">AY780802.1</a>					

## Mycoplasma




 *Pas de transmission verticale*

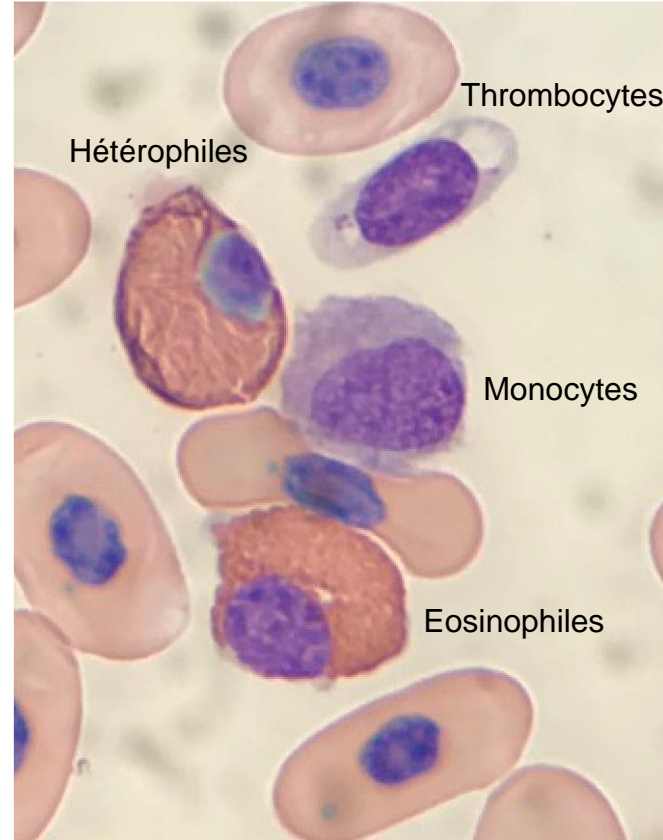
 *Contamination in situ (tortues invasives?)*



# Résultat

## Analyse sanguine

-  Définition d'intervalles de référence (n=41-115)".
-  Pas de parasites sanguins
-  Corrélation significative entre monocytes bas (%) et population *Mycoplasma* +





## Imagerie : radio n=84 + 75

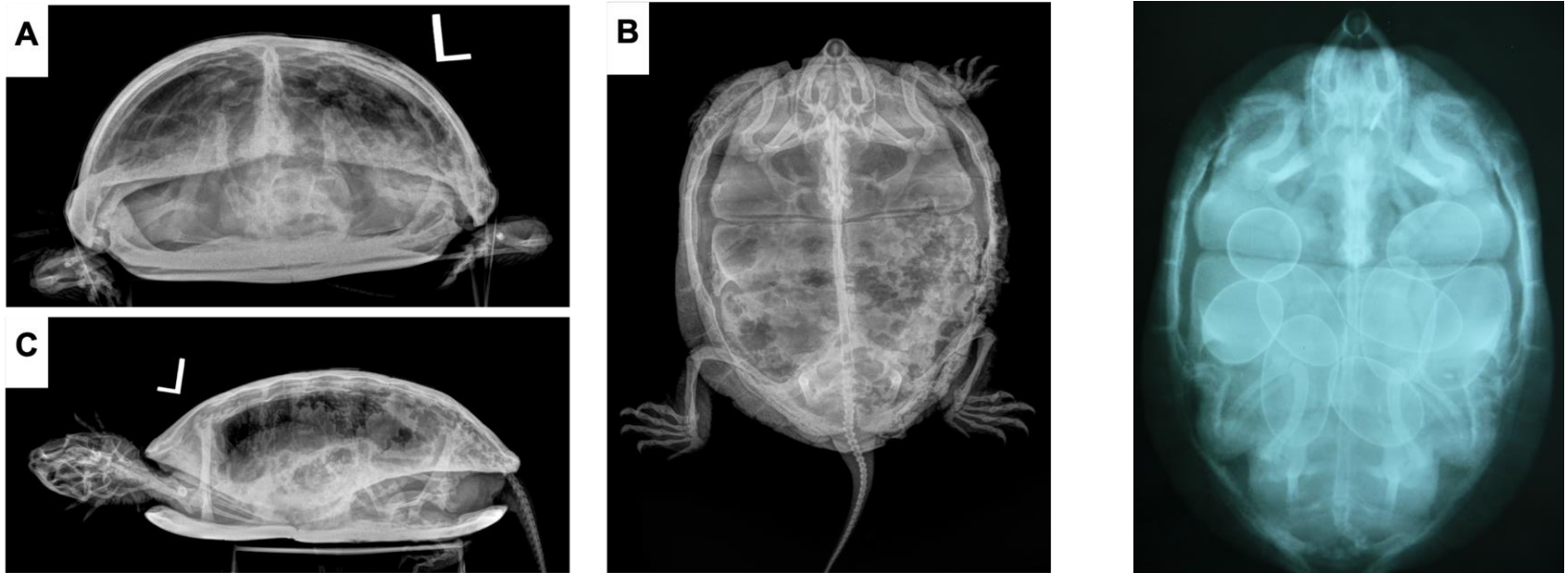





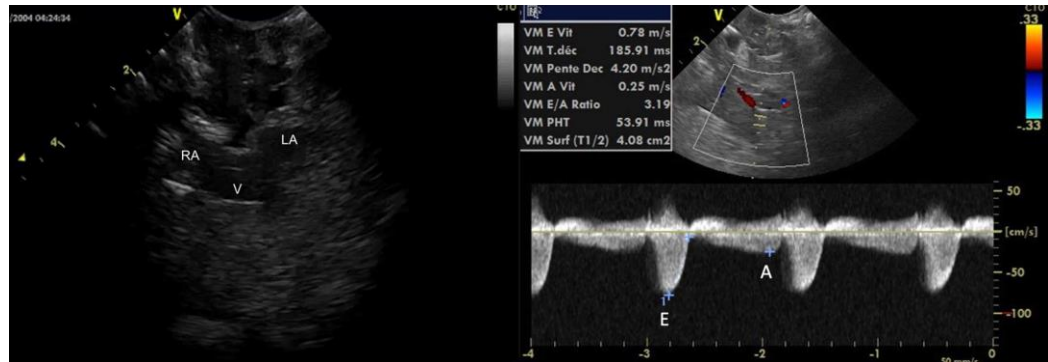
Figure 3. Craniocaudal (A), dorsoventral (B), and laterolateral (C) projections of individual with severe moth-eaten osteolysis due to shell necrosis.



# Résultat

**Imagerie : écho** n=54+35

-  Définition d'intervalles de référence échocardio
-  Acquisition d'images de base, (œufs à coquille hyperéchogène)
-  Lésions: insuffisance atrio-ventriculaire (n=5), épanchement péricardique (n=4), arythmie (n=2)








## Parasitologie

 *Polystomoides* spp. dans cavité buccale



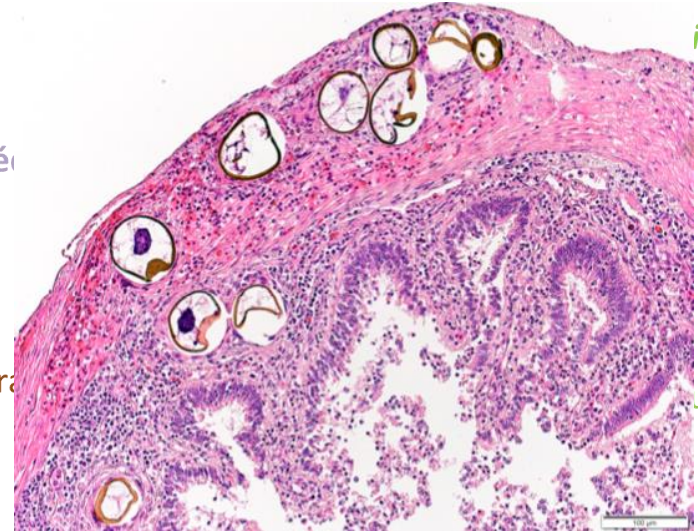
# Résultat

## Spirorchidiose

-  2 décès dans 2 élevages pendant la phase de collecte + autres cas sporadique en dehors
-  Introduction: tortues invasives ?
-  Pas de signe clinique pathognomonique
-  Lésions de septicémie à l'autopsie (entérocolite granulomateuse nécrosante sévère, gastrite, néphrite), œufs de trématodes intralésionnels
-  Mise en place d'un test PCR !

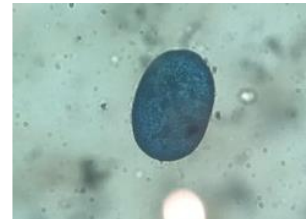
Hôte intermédiaire

Miracidium




icularis

ultes



## Spirorchidiose

 *Traitement: étude pharmacodynamique réalisée à Berne pour déterminer un traitement efficace (n=12)*

 *Traitement recommandé:*

*Praziquantel à 25mg/kg, s.c., q3, à 0, 3 et 6 heures)*

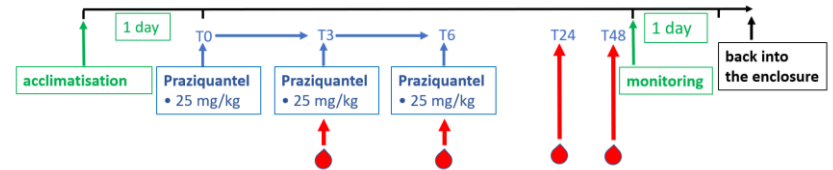
 *Questions en suspens:*

*Hôtes intermédiaires? Efficacité sur animaux malades?*

Spread over two weeks:  
Week 1: 2 groups (1x p.o., 1x i.m.)  
Week 2: 2 groups (1x p.o., 1x s.c.)

Blood sampling 3, 6, 24 and 48 hours after the first application of praziquantel

Duration: 2 days + 2 days





P




4

Discussion



# Discussion

## Mycoplasmosse

-  *Pertinence clinique?*
-  *En Suisse: pas de réintroduction d'animaux positifs au mycoplasme dans de nouvelles zones tant que la pertinence n'a pas été établie*
-  *La transmission peut être évitée dans les stations d'élevage en élevant les jeunes animaux séparément (pas de transmission verticale).*





# Discussion



## Spirorchiidose

 *Spirorchiidosis: pathogène fatal pour E. orbicularis*

>>> *Modification de la directive sur la réintroduction*

 *Les animaux provenant d'étangs positifs pour la spirorchiidose ne doivent pas être relâchés dans la nature ni déplacés.*

 *Les animaux d'élevage ne doivent pas être maintenus avec d'autres tortues de marais/d'eau*

 *Les animaux dans les stations d'élevage doivent être traités régulièrement*





 *Les animaux doivent être traités correctement avant d'être relâchés dans la nature*

Conclusion



05

# Conclusion

-  *Évaluation représentative de la santé chez *E. orbicularis* (en liberté et en captivité)*
-  *Protocole standardisé pour les futures réintroductions*
-  *Les clarifications sur l'état de santé des *E. orbicularis* disponibles pour la réintroduction ne sont pas définitives (p.e. adénovirus) et doivent être poursuivies > revue biblio en cours*
  
-  *Importance de dépister et tester in natura pour servir de base de référence, même dans site sans relâchers!*

# Bibliographie

- Amphimaque, B., Schönbächler, K., Hoby, S., Schweizer, D. (2022). Field-based radiography and ultrasonography. Proceedings of the European Veterinary Diagnostic Imaging (EVDI) Annual Congress, Edinburgh.
- Quintard, B., Georges JY. (2022). Veterinary management of European Pond Turtle reintroductions, Fowler's Zoo and Wild and Animal Medicine, 451-457.
- Schönbächler, K., Olias, P., Richard, O.K., Origgi, F., Dervas, E., Hoby, S., Basso, W., Veiga, I. (2022). Fatal spirorchidiosis in European pond turtles (*Emys orbicularis*) in Switzerland. International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife 17, 144-151. doi: 10.1016/j.ijppaw.2022.01.004.
- Schönbächler, K., Segner, H., Amphimaque, B., Friker, B., Hofer, A., Lange, B., Stirn, M., Pantchev, N., Origgi, F., Hoby, S. (2022). Health assessment of captive and free-living European pond turtles (*Emys orbicularis*) in Switzerland. Journal of Zoo and Wildlife Medicine 53, 159-172. doi: 10.1638/2020-0117.
- Stettler, M., Lotz, C., Probst, A., Marreros, N., Hofer, A., Lundström-Stadelmann, B., Frey, C.F., Keiser, J., Hofer, A., Hoby, S. (2023). Safety and Pharmacokinetics of Praziquantel in European pond turtles (*Emys orbicularis*). Journal of Zoo and Wildlife Medicine, 54(4) : 728-737.
- Vonfeld, I., Quintard, B. (2024). Two-dimensional and Doppler Echocardiographic findings in healthy non-sedated captive European pond turtle (*Emys orbicularis*). Journal of Herpetological Medicine and Surgery, doi: 10.5818/JHMS-D-23-00036

# Merci pour votre attention !

Pour plus d'informations:

[stefan.hoby@bern.ch](mailto:stefan.hoby@bern.ch)

[benoit.quintard@mulhouse-alsace.fr](mailto:benoit.quintard@mulhouse-alsace.fr)

