

Année 2016

**MESURE DE L'ACTIVITÉ CORTICO-  
SURRENALIENNE ET DU COMPORTEMENT  
CHEZ UNE ESPÈCE DE VIVERRIDÉ EN  
CAPTIVITÉ, LE BINTURONG, *Arctictis binturong***

THÈSE

Pour le

DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

Présentée et soutenue publiquement devant

LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE CRÉTEIL

le..23.décembre 2016

par

**Agathe Béatrice Charlotte DEBRUILLE**

Née le 18 avril 1991 à Ris-Orangis (Essone)

JURY

**Président : Pr. BATTOLUCCI**  
**Professeur à la Faculté de Médecine de CRÉTEIL**

**Membres**

**Directeur : Dr Caroline Gilbert**  
**Maître de conférences de l'ENVA**  
**Assesseur : Dr Pacal Arné**  
**Maître de conférences de l'ENVA**

### Liste des membres du corps enseignant

**Directeur : M. le Professeur Gogny Marc**

Directeurs honoraires : MM. les Professeurs : Cotard Jean-Pierre, Mialot Jean-Paul, Moraillon Robert, Parodi André-Laurent, Pilet Charles, Toma Bernard.

Professeurs émérites : Mme et MM. : Bénét Jean-Jacques, Chermette René, Combrisson Hélène, Courreau Jean-François, Deputte Bertrand, Niebauer Gert, Paragon Bernard, Pouchelon Jean-Louis.

#### Département d'élevage et de pathologie des Équidés et des Carnivores (DEPEC) Chef du département : Pr Grandjean Dominique - Adjoint : Pr Blot Stéphane

<p><b>Unité pédagogique de cardiologie</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Pr Chetboul Valérie*</li> <li>- Dr Gkouni Vassiliki, Praticien hospitalier</li> <li>- Dr Séchi-Tréhiou Emilie, Praticien hospitalier</li> </ul> <p><b>Unité pédagogique de clinique équine</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Pr Audigé Fabrice</li> <li>- Dr Bertoni Lélia, Maître de conférences</li> <li>- Dr Bourzac Céline, Maître de conférences contractuel</li> <li>- Dr Coudry Virginie, Praticien hospitalier</li> <li>- Pr Denoix Jean-Marie</li> <li>- Dr Giraudet Aude, Praticien hospitalier *</li> <li>- Dr Jacquet Sandrine, Praticien hospitalier</li> <li>- Dr Mespoulhès-Rivière Céline, Praticien hospitalier</li> </ul> <p><b>Unité pédagogique de médecine interne</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dr Benchekroun Ghita, Maître de conférences</li> <li>- Pr Blot Stéphane*</li> <li>- Dr Campos Miguel, Maître de conférences associé</li> <li>- Dr Freiche-Legros Valérie, Praticien hospitalier</li> <li>- Dr Maurey-Guéneec Christelle, Maître de conférences</li> </ul> <p><b>Discipline : imagerie médicale</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dr Stambouli Fouzia, Praticien hospitalier</li> </ul>	<p><b>Unité pédagogique de médecine de l'élevage et du sport</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dr Cléro Delphine, Maître de conférences</li> <li>- Dr Fontbonne Alain, Maître de conférences</li> <li>- Pr Grandjean Dominique*</li> <li>- Dr Maenhoudt Cindy, Praticien hospitalier</li> <li>- Dr Nudelmann Nicolas, Maître de conférences</li> </ul> <p><b>Unité pédagogique de pathologie chirurgicale</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Pr Fayolle Pascal</li> <li>- Dr Mailhac Jean-Marie, Maître de conférences</li> <li>- Dr Manassero Mathieu, Maître de conférences</li> <li>- Pr Moissonnier Pierre</li> <li>- Pr Viateau-Duval Véronique*</li> <li>- Dr Zilberstein Luca, Maître de conférences</li> </ul> <p><b>Discipline : ophtalmologie</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dr Chahory Sabine, Maître de conférences</li> </ul> <p><b>Discipline : Urgences - soins intensifs</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dr Steblaj Barbara, Praticien Hospitalier</li> </ul> <p><b>Discipline : nouveaux animaux de compagnie</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dr Pignon Charly, Praticien hospitalier</li> </ul>
---	--

#### Département des Productions Animales et de la Santé Publique (DPASP) Chef du département : Pr Millemann Yves - Adjoint : Pr Dufour Barbara

<p><b>Unité pédagogique d'hygiène, qualité et sécurité des aliments</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Pr Augustin Jean-Christophe</li> <li>- Dr Bolnot François, Maître de conférences *</li> <li>- Pr Carlier Vincent</li> </ul> <p><b>Unité pédagogique de maladies réglementées, zoonoses et épidémiologie - Pr Dufour Barbara*</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Pr Haddad/Hoang-Xuan Nadia</li> <li>- Dr Praud Anne, Maître de conférences</li> <li>- Dr Rivière Julie, Maître de conférences contractuel</li> </ul> <p><b>Unité pédagogique de pathologie des animaux de production</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Pr Adjou Karim*</li> <li>- Dr Belbis Guillaume, Maître de conférences</li> <li>- Pr Millemann Yves</li> <li>- Dr Ravary-Plumioën Béragère, Maître de conférences</li> <li>- Dr Troitsky Karine, Praticien hospitalier</li> </ul>	<p><b>Unité pédagogique de reproduction animale</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dr Constant Fabienne, Maître de conférences*</li> <li>- Dr Desbois Christophe, Maître de conférences (rattaché au DEPEC)</li> <li>- Dr El Bay Sarah, Praticien hospitalier</li> <li>- Dr Mauffré Vincent, Assistant d'enseignement et de recherche contractuel - Dr Ribeiro Dos Santos Natalia, Maître de conférences contractuel</li> </ul> <p><b>Unité pédagogique de zootechnie, économie rurale</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dr Arné Pascal, Maître de conférences</li> <li>- Pr Bossé Philippe*</li> <li>- Dr De Paula Reis Alline, Maître de conférences</li> <li>- Pr Grimard-Ballif Bénédicte</li> <li>- Dr Leroy-Barassin Isabelle, Maître de conférences</li> <li>- Pr Ponter Andrew</li> <li>- Dr Wolgust Valérie, Praticien hospitalier</li> </ul>
---	---

#### Département des sciences biologiques et pharmaceutiques (DSBP) Chef du département : Pr Chateau Henry - Adjoint : Dr Pilot-Storck Fanny \* responsable d'unité pédagogique

<p><b>Unité pédagogique d'anatomie des animaux domestiques</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Pr Chateau Henry</li> <li>- Pr Crevier-Denoix Nathalie</li> <li>- Pr Degueurce Christophe</li> <li>- Pr Robert Céline*</li> </ul> <p><b>Unité pédagogique de bactériologie, immunologie, virologie</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Pr Boulouis Henri-Jean*</li> <li>- Dr Le Poder Sophie, Maître de conférences</li> <li>- Dr Le Roux Delphine, Maître de conférences</li> <li>- Pr Quintin-Colonna Françoise</li> </ul> <p><b>Unité pédagogique de biochimie</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Pr Bellier Sylvain*</li> <li>- Dr Lagrange Isabelle, Praticien hospitalier</li> <li>- Dr Michaux Jean-Michel, Maître de conférences</li> </ul> <p><b>Discipline : éducation physique et sportive</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- M. Philips Pascal, Professeur certifié</li> </ul> <p><b>Unité pédagogique d'histologie, anatomie pathologique</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dr Cordonnier-Lefort Nathalie, Maître de conférences</li> <li>- Pr Fontaine Jean-Jacques*</li> <li>- Dr Laloy Eve, Maître de conférences</li> <li>- Dr Reyes-Gomez Edouard, Maître de conférences</li> </ul>	<p><b>Unité pédagogique de management, communication, outils scientifiques</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Mme Conan Muriel, Professeur certifié (Anglais)</li> <li>- Dr Desquilbet Loïc, Maître de conférences (Biostatistique, Epidémiologie) *</li> <li>- Dr Fournel Christelle, Maître de conférences contractuelle (Gestion et management)</li> </ul> <p><b>Unité de parasitologie, maladies parasitaires, dermatologie</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dr Blaga Radu, Maître de conférences (rattaché au DPASP)</li> <li>- Dr Cochet-Faivre Noëlle, Praticien hospitalier (rattaché au DEPEC)</li> <li>- Dr Darmon Céline, Maître de conférences contractuel (rattachée au DEPEC) - Pr Guillot Jacques*</li> <li>- Dr Polack Bruno, Maître de conférences</li> <li>- Dr Risco-Castillo Véronica, Maître de conférences</li> </ul> <p><b>Unité pédagogique de pharmacie et toxicologie</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Pr Enriquez Brigitte,</li> <li>- Dr Perrot Sébastien, Maître de conférences *</li> <li>- Pr Tissier Renaud</li> </ul> <p><b>Unité pédagogique de physiologie, éthologie, génétique</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dr Chevallier Lucie, Maître de conférences contractuel (Génétique)</li> <li>- Dr Crépeaux Guillemette, Maître de conférences (Physiologie, Pharmacologie)</li> <li>- Dr Gilbert Caroline, Maître de conférences (Ethologie)</li> <li>- Pr Panthier Jean-Jacques, (Génétique)</li> <li>- Dr Pilot-Storck Fanny, Maître de conférences (Physiologie, Pharmacologie) - Pr Tîret Laurent, (Physiologie, Pharmacologie) *</li> </ul>
---	--

# REMERCIEMENTS

A Mr le Président du jury,  
Professeur à la faculté de médecine de Créteil,  
Qui nous a fait l'honneur de présider notre jury de thèse,  
Hommage respectueux.

A Caroline GILBERT,  
Maître de conférences en éthologie à l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort,  
Pour avoir accepté ce sujet qui me tenait à cœur et qui sortait un peu de l'ordinaire  
Ainsi que pour tous vos conseils pratiques et indispensables au cours de mon stage  
Sincères remerciements

A Pascal ARNE,  
Maître de conférences en zootechnie à l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort,  
Qui a accepté de faire partie de notre jury de thèse.  
Pour vos corrections rapides et vos précieux conseils,  
Sincères remerciements

A Loïc Desquilbet, Maître de conférences en biostatistiques à l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort, pour ses conseils avisés sur mon protocole et ses statistiques.

A Michel SAINT-JALME, Directeur de La Ménagerie du Jardin des Plantes de Paris, qui m'a permis de faire mon stage à La Ménagerie pendant ces cinq mois magiques. Sincères remerciements

A Aude BOURGEOIS, Vétérinaire de La Ménagerie du Jardin des plantes de Paris, qui m'a proposé ce sujet et m'a encadré tout le long de sa réalisation.

A Gérard DOUSSEAU et Christelle HANO, chefs soigneur animalier de La Ménagerie du Jardin des Plantes de Paris, qui en toute confiance m'ont laissé mener ce projet.

A Delphine CHAMPEVAL du laboratoire de Brunoy, et à Amélie CHIMENES du laboratoire du Musée de l'Homme pour m'avoir accordé votre temps et votre patience.

Aux équipes des parcs zoologiques de Trégomeur, Lille, Lyon, La Boissière du Doré et Pont-Scorff pour m'avoir accueillie pour cette étude et m'avoir permis d'accéder à vos coulisses.

A Pauline, soigneuse animalier, pour m'avoir transmis sa passion des binturongs et aux soigneurs du secteur "alimentation", Aurélie, Florian, Leslie, Mickaël et Lutécia, pour s'être sans cesse adaptés à mon protocole, sans broncher devant mes fantaisies !

A Norin, Meriem, Laetitia, Dylan, Denis, Cyrielle, Anaïs, Anne-Laure, Patrick, et tous les autres qui m'ont accueillie à La Ménagerie et ont fait de cette expérience une véritable aventure humaine.

A tous ceux qui ont cru en moi ces cinq dernières années, merci de m'avoir suivie dans mes projets fous, d'avoir ri et pleuré avec moi.

# TABLE DES MATIERES

<b>TABLE DES MATIERES</b> .....	<b>1</b>
<b>TABLE DES ILLUSTRATIONS</b> .....	<b>4</b>
<b>TABLE DES ABRÉVIATIONS</b> .....	<b>6</b>
<b>INTRODUCTION</b> .....	<b>7</b>
<b>PREMIÈRE PARTIE : BIBLIOGRAPHIE</b> .....	<b>8</b>
<b>I. Biologie du binturong (<i>Arctictis binturong</i>)</b> .....	<b>9</b>
A. Classification/Taxonomie .....	9
B. Ecologie .....	11
C. Anatomie.....	14
1. Généralités.....	14
2. Appareil digestif.....	14
3. Appareil génital et glandes péri-anales .....	14
D. Physiologie .....	16
1. Alimentation et physiologie digestive .....	16
2. Secrétions de marquage .....	17
3. Reproduction .....	17
E. Comportement.....	19
1. Interactions sociales .....	19
2. Rythme d'activité.....	20
3. Reproduction et élevage des petits .....	20
F. Connaissances vétérinaires .....	21
1. Anesthésie des binturongs.....	21
2. Pathologies diagnostiquées en parcs zoologiques .....	21
G. Enjeux de conservation .....	22
1. Rôle du binturong dans son milieu naturel.....	22
2. Causes de sa disparition.....	23
3. Abondance et statut IUCN .....	23
4. Conservation <i>in-situ</i> .....	24
5. Conservation <i>ex-situ</i> .....	25
<b>II. Stress et bien-être du binturong (<i>Arctictis binturong</i>) en parcs zoologiques</b> .....	<b>26</b>
A. Le maintien du bien-être des binturongs en parc zoologique .....	26
1. Notion de bien-être animal.....	26
2. Notion de stress en parcs zoologique.....	27
a) Définition des différents types de stress .....	27
b) Mécanismes de la réponse de stress.....	27
c) Les facteurs de stress du binturong en parcs zoologiques .....	28
3. La notion d'enrichissement .....	29
4. Les différents types d'enrichissements mis en place pour le binturong en captivité.....	29
a) Enrichissements structuraux .....	29
b) Enrichissements sensoriels.....	29
c) Enrichissements alimentaires.....	31
d) Enrichissements cognitif.....	31
e) Enrichissements sociaux.....	32
B. Comment évaluer le bien-être des binturongs en parc zoologique ? .....	32

1.	Mesures comportementales.....	32
2.	Mesures de paramètres physiologiques.....	33
a)	Les hormones du stress.....	33
b)	Mesure de la fréquence cardiaque et respiratoire.....	34
c)	Mesure du cortisol et de ses métabolites.....	34
i.	Dosage sanguin.....	35
ii.	Dosage salivaire.....	35
iii.	Dosage urinaire.....	35
iv.	Dosage fécal.....	36
v.	Dosage dans les poils.....	36
d)	Limites des mesures physiologiques.....	36
3.	Recoupement des différentes méthodes.....	37
<b>DEUXIÈME PARTIE : APPROCHE EXPERIMENTALE.....</b>		<b>39</b>
<b>I. Choix de la méthode d'extraction des métabolites fécaux du cortisol chez le binturong, <i>Arctictis binturong</i>.....</b>		<b>40</b>
A.	Matériel et méthode.....	40
1.	Echantillonnage.....	40
2.	Extraction.....	41
3.	Dosage ELISA.....	43
4.	Analyses statistiques.....	44
B.	Résultats.....	45
1.	Comparaison des méthodes sur fèces sèches et humides.....	45
2.	Comparaison des méthodes par chauffage et agitation.....	46
C.	Discussion.....	46
<b>II. Mesure de l'activité cortico-surrénalienne et du comportement du binturong en captivité</b>		<b>48</b>
A.	Matériel et méthode.....	48
1.	Echantillonnage.....	48
2.	Protocole de la partie comportementale.....	49
3.	Protocole de mesure des MFC.....	52
a)	Validation biologique de la mesure des MFC.....	52
b)	Méthode d'extraction et de dosage des MFC.....	52
4.	Analyses statistiques.....	53
B.	Résultats.....	53
1.	Ethologie du binturong.....	53
2.	Validation de la mesure des MFC chez le binturong.....	58
3.	Variations des taux de MFC chez le binturong.....	59
C.	Discussion.....	60
1.	Partie comportementale.....	60
2.	Validation du dosage des MFC.....	61
3.	Dosage des MFC.....	62
4.	Liens entre comportement et MFC.....	63
<b>CONCLUSION.....</b>		<b>64</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE.....</b>		<b>65</b>
<b>ANNEXES.....</b>		<b>i</b>

**Annexe 1: Recensement des observations des binturongs en milieu naturel dans la  
bibliographie..... ii**

# TABLE DES ILLUSTRATIONS

---

## Liste des Figures

Figure 1 : Arbre phylogénétique partiel de la famille des <i>Viverridae</i> (Patou <i>et al.</i> , 2008).....	10
Figure 2: Carte de répartition géographique du binturong. (Source : IUCN Red List maps)..	11
Figure 3 : Carte prédictive des territoires habitables par le binturong sur un modèle HSI (Habitat Suitability Index – index de disponibilité de l’habitat) avec utilisation des enregistrements de position (Semiadi <i>et al.</i> , 2016).....	13
Figure 4 : Photographie d'Ekmatra, un binturong, <i>Arctictis binturong</i> , adulte à La Ménagerie du Jardin des Plantes (source personnelle) .....	15
Figure 5: Photographie d'un binturong, <i>Arctictis binturong</i> , utilisant sa queue préhensile à La Ménagerie du Jardin des Plantes (source personnelle) .....	15
Figure 6 : Fonctionnement de l'axe corticotrope et boucle de régulation de la libération de glucocorticoïdes (source personnelle).....	28
Figure 7 : Exemple d’enrichissements structurels dans les enclos de binturongs, <i>Arctictis binturong</i> (source personnelle). .....	30
Figure 8 : Exemples d'enrichissements alimentaires réalisés à La Ménagerie du Jardin des Plantes de Paris. La photographie a représente des binturong en train de chercher de la nourriture dans un sac en carton. La photographie b représente un enrichissement alimentaire avec du poulet caché dans des brindilles (Source personnelle). .....	31
Figure 9 : Un exemple d'enrichissement social : les loutres cendrées, <i>Amblonyx cinereus</i> , montent sur les structures destinées aux binturongs, <i>Arctictis binturong</i> , au parc zoologique de La Boissière du Doré (source personnelle). .....	32
Figure 10 : Représentation des temps de latence entre la survenue de l'événement stressant (action) et l'apparition du pic hormonal dans les différents fluides étudiés (d’après : Whitten <i>et al.</i> , 1998). .....	34
Figure 11: Calcul du rendement des quatre méthodes employées sur le i-ème échantillon. ...	44
Figure 12 : Schéma récapitulatif du déroulement des observations et de l’organisation des sessions au cours d’une journée. ....	50
Figure 13 : Représentation graphique du budget temps moyen de chaque individu observé obtenu avec des scans sampling toutes les deux minutes sur un total de 10h d’observations par individus. Les individus sont classés dans l’ordre croissant en fonction de leur âge. ....	54
Figure 14 : Nombre de comportement négatifs observés en all occurrences en fonction des sessions. ....	56
Figure 15 : Représentation graphique de la variation de MFC avant et après le transfert d’Ekmatra.....	58

## Liste des Tableaux

Tableau 1 : Synthèse bibliographique des données concernant la reproduction et l'élevage des petits chez le binturong, <i>Arctictis binturong</i> .....	18
Tableau 2 : Données concernant le binturong, <i>Arctictis binturong</i> , en captivité obtenues par l'analyse du Studbook européen à l'aide du logiciel (Wilcken <i>et al.</i> , 2012) sur les données entre 1997 et 2016. ....	18
Tableau 3 : Mesures législatives mises en place dans le monde concernant la protection et la conservation du binturong, <i>Arctictis binturong</i> . ....	24
Tableau 4 : Liste des institutions participant à l'étude ainsi que les effectifs présents dans chaque structure .....	41
Tableau 5 : Comparaison des quatre protocoles d'extraction utilisés au cours de l'étude. ....	42
Tableau 6: Rendement des quatre protocoles utilisés (sans unité). ....	45
Tableau 7 : Critères de concordance des protocoles 1 et 2 ainsi que des protocoles 3 et 4. ....	46
Tableau 8 : Caractéristiques des individus inclus dans l'étude ainsi que quelques caractéristiques des méthodes d'élevage. ....	48
Tableau 9 : Caractéristiques des échantillons récoltés au cours de l'étude par individus. Les individus sont triés du plus jeune au plus âgé.....	49
Tableau 10 : Description des comportements relevés au cours des observations par scan sampling (échantillonnage par balayage) des binturongs du 10 Avril au 05 Mai 2016 et leur classement en huit catégories.....	51
Tableau 11: Résultats des dosages de MFC chez les neuf binturongs inclus dans l'étude. Les individus sont présentés dans l'ordre croissant selon leur âge. ....	59



# TABLE DES ABRÉVIATIONS

---

2-AP : 2-Acétyle-1-pyrroline

ACTH : Adréno Cortico Trophic Hormone (Adrénocorticotrophine)

AZA : Association of Zoo and Aquarium (Association des aquarium et zoos)

CRH : Cortisol Releasing Hormone (Corticolibérine)

CITES : Convention sur le commerce international des espèces de faune et de flore sauvages menacées d'extinction

EAZA : European Association of Zoo and Aquarium (Association des aquarium et zoos européens)

EEP : Europäisches Erhaltungszuchtprogramm (Programme d'élevage européen des espèces menacées)

ELISA : Enzyme-Linked Immunosorbent Assays (Dosage d'immuno-absorption par enzyme liée)

EIA : Enzy-mo-immunoassay (Dosage immuno-enzymatique)

ESB : European Studbook (Registre de naissance européen)

GC : Glucocorticoïdes

HSI : Habitat Suitability Index (Indice de disponibilité de l'habitat)

IUCN : International Union for Conservation of Nature (union internationale pour la conservation de la nature)

MFC : Métabolites fécaux du cortisol

NC : Non communiqué

PBS : tampon phosphate salin

RIA : Radio-immunoassay (Dossage radio-immunologique)

SCTAG : Small Carnivore Taxon Advisory Group (groupe de conseil du taxon « petits Carnivore »)

SD : Standard-deviation (écart-type)

TAG : Taxon Advisory Group (groupe de conseil de taxon)

TMB : Tétraméthylbenzidine

# INTRODUCTION

De nos jours, les parcs zoologiques ont, en dehors de leur fonction de divertissement et de sensibilisation du public, un rôle capital dans la conservation des espèces. En effet, quelques exemples historiques comme la réintroduction du cheval de Prezwalski, *Equus przewalskii*, ou du bison d'Europe, *Bison bonasus*, illustrent l'importance de cette mission. Pour la mener à bien, des programmes d'élevage au niveau international ont été instaurés pour lesquels le succès reproducteur est un aspect primordial. Ces établissements peuvent rencontrer des échecs de reproduction chez certaines espèces dont les origines diffèrent. L'impact du stress chez les animaux captifs, de plus en plus étudié, pourrait avoir un effet majeur sur la fertilité des individus.

Le binturong, *Arctictis binturong* (Raffles 1921), est une espèce singulière de la famille des *Viverridae* classée dans l'ordre des Carnivores. En plus de présenter des particularités physiologiques remarquables, elle joue un rôle non négligeable au sein de son écosystème. Encore méconnue aujourd'hui, de nombreuses zones d'ombre persistent sur son écoéthologie. Pourtant, ces informations pourraient permettre d'établir un plan de conservation pour cette espèce classée comme vulnérable par l'IUCN (Widmann *et al.*, 2008). Si sa survie à l'état naturel reste en suspens du fait de nombreuses menaces anthropiques (déforestation, braconnage, ...), son maintien en captivité pose également de nombreux problèmes, en particulier au niveau de la reproduction des individus.

Il apparaît donc nécessaire d'obtenir de plus amples informations sur cette espèce afin de pouvoir augmenter le bien-être en captivité et ainsi améliorer le succès reproducteur et donc la conservation ex-situ.

Cette thèse s'articule autour de deux axes. La première partie fait un état des lieux des ressources bibliographiques portant sur le binturong ainsi que la gestion actuelle de son bien-être en captivité. Une seconde partie expérimentale sera consacrée à la mesure du stress chez le binturong avec deux objectifs essentiels : mettre en place une méthode de dosage des métabolites fécaux du cortisol (MFC) et mesurer le niveau de stress des individus captifs via une étude comportementale associée à une mesure des MFC chez des spécimens captifs dans les parcs zoologiques français.

# PREMIÈRE PARTIE : BIBLIOGRAPHIE

---

## I. Biologie du binturong (*Arctictis binturong*)

### A. Classification/Taxonomie

Le binturong, *Arctictis binturong* (Raffles, 1821), appartient à l'ordre des Carnivores, au sous-ordre des *Feliformia* et fait partie de la famille des *Viverridae*, laquelle regroupe actuellement toutes les civettes, à l'exception du fossa de Madagascar (*Fossa fossana*) appartenant à la famille des *Eupleridae*, récemment reconnue comme une famille à part entière (Veron, 2007).

Les relations phylogénétiques au sein des *Feliformia* posent encore aujourd'hui de nombreux problèmes et aucun cladogramme ne fait de consensus dans la communauté scientifique. La famille des *Viverridae* a longtemps été considérée comme un groupe dans lequel étaient incluses toutes les espèces qui n'étaient pas des *Félidae* ou des *Hyaenidae*. Cette façon de procéder des spécialistes des Carnivores a engendré un regroupement hétéroclite de morphotypes au sein des *Viverridae*. De ce fait, les caractères diagnostiques de cette famille sont difficiles à établir. La taille de ces carnivores est très variable, allant de 33 cm (*Poiana*) jusqu'à 95 cm (*Civettictis*), pour des masses comprises entre 0,6 et 20 kg. Le pelage du corps peut être tacheté, rayé ou même uniforme, et annelé pour la queue. Ils peuvent être plantigrades ou digitigrades et leurs griffes peuvent être entièrement ou pas du tout rétractiles. La formule dentaire est elle aussi très variable au sein du taxon (I3/3 - C1/1 - P3-4/3- 4 - M 1-2/1-2 soit 36 à 40 dents) (Gaubert, 2003 ; Veron, 2007).

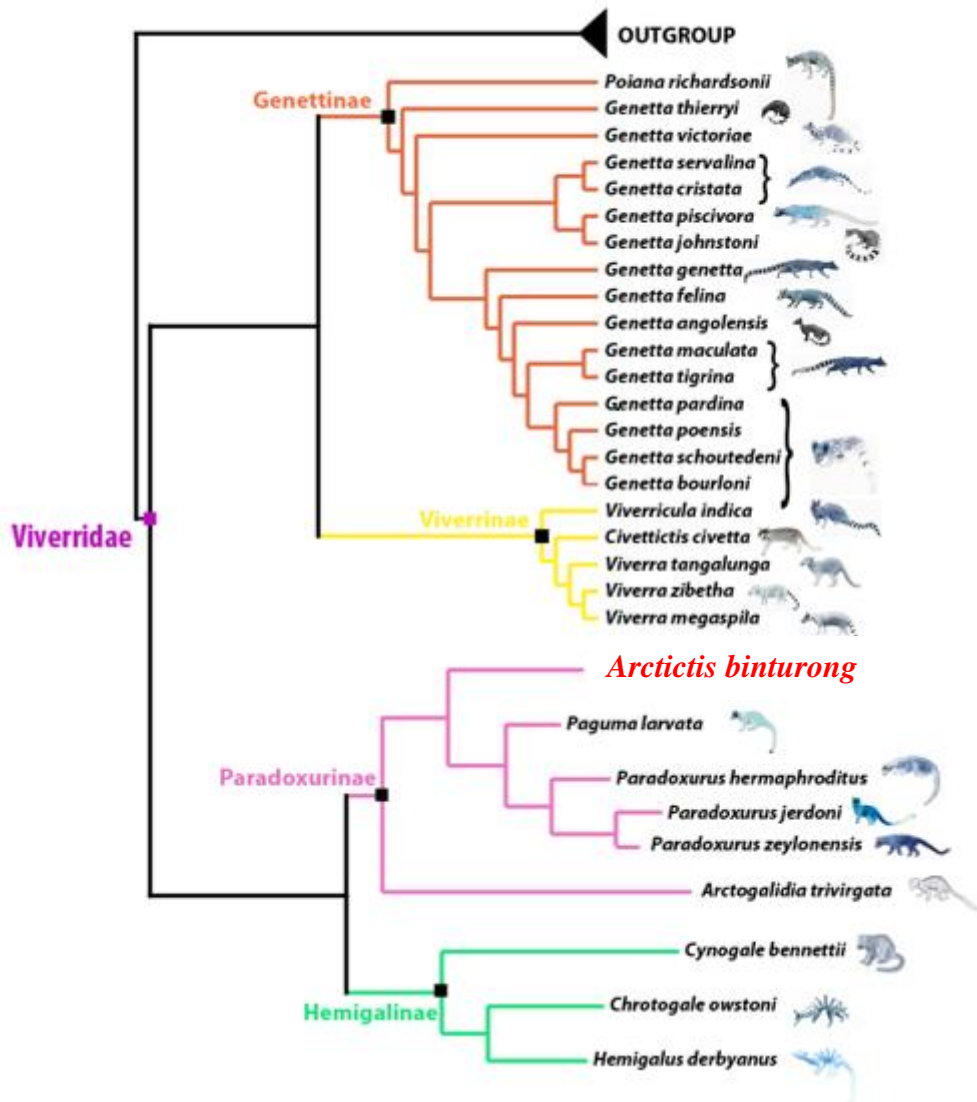
C'est finalement l'analyse comparée des caractéristiques de la bulle tympanique, initiée par Flower (1869) puis reprise par Hunt à partir des années 1970, qui a pu proposer une première caractérisation phylogénétique des *Viverridae*. Plus récemment, la présence de glandes de marquage péri-anales est devenu un des critères d'inclusion principaux dans cette famille (Flower, 1869 ; Hunt, 1974).

Les sous-familles regroupées dans les *Viverridae* ont longtemps été discutées et ne font toujours pas l'unanimité au sein de la communauté scientifique, pour des raisons de polymorphisme et de manque de marqueurs moléculaires établis. Cette famille comporte aujourd'hui trois sous-familles dont les *Paradoxurines*, à laquelle appartient le binturong (Figure 1). Cette sous-famille se divise en cinq genres (*Arctogalidia*, *Macrogalidia*, *Paguma*, *Paradoxus* et *Arctictis*) qui comprennent au total sept espèces (Association of Zoo and Aquarium and Small Carnivore Taxon Advisory Group, 2007). Le binturong est la seule espèce du genre *Arctictis*.

Une seule sous-espèce, *Arctictis binturong whitei*, est bien identifiée par des caractéristiques morphologiques ainsi que grâce aux marqueurs génétiques. Cette sous-espèce vit sur l'île de Palawan (Philippines) et est sensiblement plus petite que les autres sous-espèces. Huit autres sous-espèces de binturong ont été décrites par Cosson *et al.* (2007) lors d'une étude génétique de la population captive européenne mais l'échantillon étudié reste restreint et cette description demande à être confirmée par des études génétiques d'individus en milieu naturel.

Figure 1 : Arbre phylogénétique partiel de la famille des Viverridae (Patou et al., 2008).

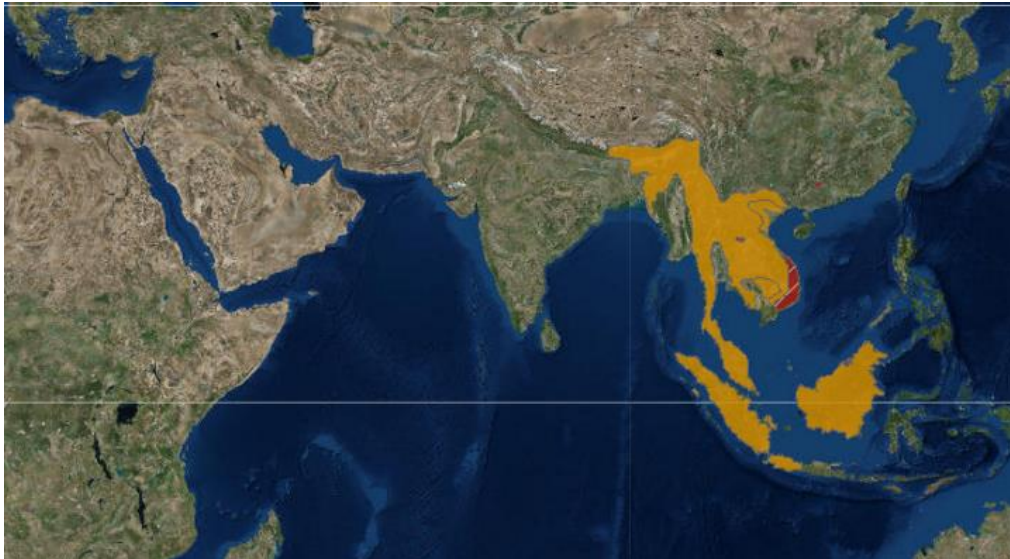
La sous-famille des Macroglidae n'y figure pas. Le terme « outgroup » signifie « en dehors du groupe »



## B. Ecologie

Les binturongs sont retrouvés uniquement en Asie du sud-est (Figure 2) : leur aire de répartition s'étend du sud-est de l'Inde jusqu'à l'île de Sumatra au sud et comprend entre autres l'île de Java, l'île de Palawan, une partie de l'Indonésie, le Bangladesh, le Myanmar, le Népal, la Thaïlande, le Viet-Nam, le Laos, et le Cambodge (Chutipong *et al.*, 2015 ; Coudrat *et al.*, 2014 ; Grassman, 2005 ; Grassman *et al.*, 2005 ; Gray, 2014 ; Gupta, 2002). Ils sont considérés comme disparus à l'état naturel en Chine depuis les années 1980. Cependant, deux chasseurs auraient tué des binturong dans les années 2000 dans la province du Hainan ce qui suggère qu'il pourrait subsister une petite population dans certaines parties de la Chine (Lau *et al.*, 2010).

**Figure 2: Carte de répartition géographique du binturong.** L'aire de répartition du binturong est représentée en jaune. En rouge est représentée la zone où le binturong est possiblement éteint à l'état sauvage. Il n'est présent qu'en Asie du sud-est. (Source : IUCN Red List maps)

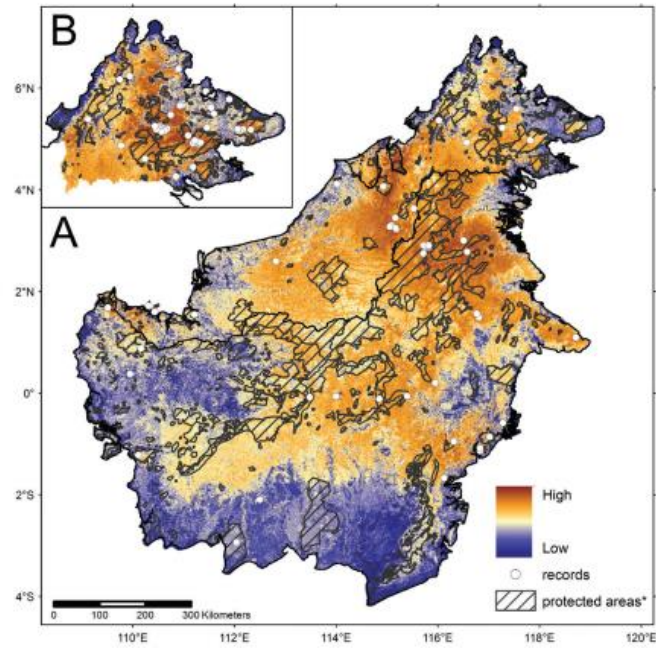


Il s'agit d'une espèce arboricole qui vit essentiellement dans des forêts denses. Il utilise en général la partie haute de la canopée (20 m de hauteur) pour trouver sa nourriture, la partie moyenne (10-20 m) pour se reposer et descend rarement à terre, sans doute en raison de la présence de prédateurs (Grassman *et al.*, 2005). En effet les prédateurs naturels du binturong sont des animaux qui restent majoritairement au sol. Parmi ces derniers, on peut nommer : la panthère longibande, *Neofelis nebulosa*, le dhole, *Cuon alpinus*, le tigre, *Panthera tigris*, et le chat de Temminck, *Pardofelis temminckii* (Chutipong *et al.*, 2015 ; Lam *et al.*, 2014). Une étude récente portant sur les lieux de couchage a montré que les deux individus étudiés dormaient de préférence sur les branches de grands arbres et se positionnaient à quelques mètres du tronc. Ces arbres étaient situés uniquement dans la partie de la forêt constituée d'arbres à feuilles persistantes et les espèces choisies présentaient une couverture végétale dense (76 à 100%) (Chutipong *et al.*, 2015). De ce fait, les habitats du binturong sont restreints aux forêts portant un couvert végétal suffisant situées en plaines ainsi qu'en haute et basse altitudes (Chutipong *et al.*, 2015 ; Rabinowitz et Walker, 1991 ; Semiadi *et al.*, 2016). A l'inverse, les plantations, les forêts dégradées et les espaces dénudés sont considérés par les scientifiques comme inhabitables par cette espèce. Les observations de binturongs dans les forêts secondaires ou exploitées sont peu fréquentes et aucune trace n'a été trouvée dans les plantations ou les espaces entièrement déforestés (Mathai *et al.*, 2010 ; Rustam *et al.*, 2012 ; Yue *et al.*, 2015). C'est grâce à ces connaissances et à l'aide de données issues de pièges photographiques que Semiadi *et al.* (2016) ont pu modéliser une carte des zones habitables par les binturongs sur Bornéo (Figure 3). Ainsi, la partie centrale de l'île semble encore adaptée à la survie du binturong. A l'inverse les espaces côtiers fortement dégradés, en particulier au sud de l'île, ne sont plus habitables par l'espèce. Cette carte joue un rôle majeur dans les actions de conservation du binturong en mettant en évidence des zones d'intérêt qui pourraient devenir à terme des espaces protégés pertinents.

Les domaines vitaux ont également été étudiés et sont relativement restreints : 2,4 km<sup>2</sup> à 6,9 km<sup>2</sup> dans l'étude de Chutipong *et al.* (2015) et 4.7 à 7.7km<sup>2</sup> dans l'étude de Grassman *et al.* (2005), toutes deux se déroulant en Thaïlande. Elles démontrent également d'une part que les sites de couchage sont largement repartis dans le domaine vital, voire parfois en dehors, et d'autre part qu'il y a un recouvrement notable entre les domaines vitaux des binturongs et ceux d'autres espèces (30% de recouvrement avec la civette palmiste d'après Grassman *et al.* (2005). Ces deux faits mettent en évidence la faible territorialité de ces animaux qui sont très tolérants vis-à-vis des autres espèces (Chutipong *et al.*, 2015 ; Grassman *et al.*, 2005 ; Nettelbeck, 1998).

**Figure 3 : Carte prédictive des territoires habitables par le binturong sur un modèle HSI (Habitat Suitability Index – index de disponibilité de l’habitat) avec utilisation des enregistrements de position (Semiadi et al., 2016).**

La carte A correspond à l’île de Bornéo. La carte B correspond à la région de Sabah (Malaisie) de l’île de Bornéo. « High » signifie « haut », « Low » signifie « bas », « records » signifie « enregistrement » et « protected areas » signifie « aire protégée »





## C. Anatomie

### 1. Généralités

Morphologiquement, le binturong se distingue des autres *Viverridae* par sa grande taille, sa fourrure et sa longue queue préhensile. Un binturong adulte mesure entre 60 et 90cm auxquels s'ajoute une queue pouvant atteindre 90cm. Son poids peut varier de 9 à 24 kg (Ahmad *et al.*, 2004 ; Moresco et Larsen, 2003) ; il se rapproche plutôt des 12 kg en milieu sauvage en Thaïlande (Grassman *et al.*, 2006) et des 9 kg pour la sous-espèce *Arctictis binturong whitei* de l'île de Palawan. Il a une fourrure dense dont la couleur peut aller du noir foncé au gris clair. Elle est de plus parfois piquetée de poils agoutis (Figure 4). On observe la présence caractéristique de longs pinceaux de poils noirs au niveau des oreilles, ce qui le distingue des autres espèces de la sous-famille à laquelle il appartient. Sa queue préhensile qu'il est le seul carnivore à posséder avec le kinkajou, *Potos flavus*, est un véritable atout pour se déplacer dans les arbres (Figure 5). Il possède cinq doigts à chaque membre et, à l'instar des genres *Paguma* et *Paradoxus*, les coussinets du 3ème et du 4ème doigt des membres postérieurs sont fusionnés. Cependant la plante de pieds, nue jusqu'au niveau du talon le distingue des deux autres genres (Pocock, 1933).

### 2. Appareil digestif

Bien que son régime alimentaire soit composé en majorité de fruits, le binturong a conservé une dentition caractéristique de carnivore avec des canines proéminentes et la présence de carnassières (Pocock, 1933). De la même façon, son système digestif est resté celui d'un carnivore avec un petit estomac acide, un caecum réduit à absent et un colon peu développé (Gahkod, 1878 ; Lambert *et al.*, 2014 ; Pocock, 1933). Il a d'ailleurs le tube digestif le plus court et le moins spécialisé de son clade. Le ratio entre la longueur de l'intestin et la longueur du corps (2:1) est le plus petit de tous les carnivores, ce qui ajouté à l'absence d'haustrations ou de sacculations, génère une surface réduite pour les échanges nutritionnels (McKenney *et al.*, 2014).

### 3. Appareil génital et glandes péri-anales

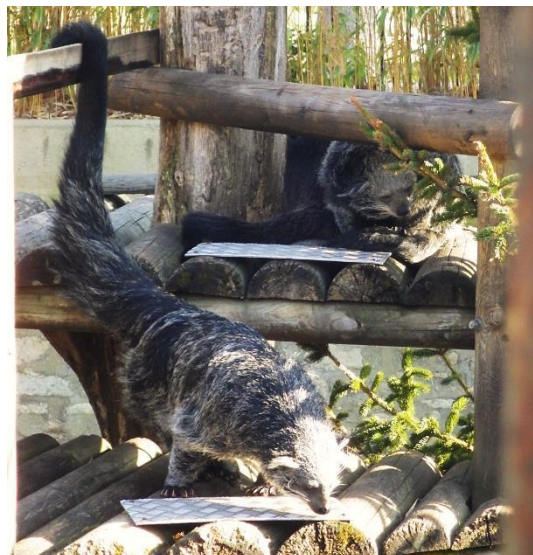
Le dimorphisme sexuel n'est pas très marqué. En effet, les parties génitales de la femelle sont très développées avec un clitoris péniforme ce qui rend la distinction entre les deux sexes peu aisée à l'âge adulte (Ahmad *et al.*, 2004 ; Moresco et Larsen, 2003 ; Story, 1945). Les femelles possèdent trois paires de mamelles, mais la paire la plus crâniale n'est pas fonctionnelle (Schoknecht, 1984).

A l'instar des autres *Viverridae*, les binturongs ont des glandes de marquages péri-anales. Elles sont situées entre le pénis et le *scrotum* chez le mâle et en position antérieure à la vulve chez la femelle.

**Figure 4 :** Photographie d'Ekmatra, un binturong, *Arctictis binturong*, adulte à La Ménagerie du Jardin des Plantes (source personnelle)



**Figure 5 :** Photographie d'un binturong, *Arctictis binturong*, utilisant sa queue préhensile à La Ménagerie du Jardin des Plantes (source personnelle)



## D. Physiologie

### 1. Alimentation et physiologie digestive

Bien que faisant partie de l'ordre des Carnivores, le binturong est frugivore : il se nourrit essentiellement de figues (*Ficus carica*) dans son milieu naturel (Nakabayashi *et al.*, 2016). Malgré cela, il lui arrive de consommer ponctuellement de petites proies comme des oiseaux ou des rongeurs (Ahmad *et al.*, 2004). Contrairement à des informations communément retrouvées, le binturong n'est pas un bon pêcheur, il est donc rare qu'il se nourrisse de poisson.

Malgré ce régime alimentaire, l'appareil digestif du binturong a conservé ses caractéristiques de Carnivore ce qui rend la digestion des fruits peu efficace. Une première étude sur deux binturongs a montré que les processus de fermentation étaient très réduits et a estimé le temps de transit à 6.5 heures en moyenne. Ce transit rapide permet, selon les auteurs, une plus grande ingestion d'aliments et l'assimilation d'une plus grande quantité d'azote, peu présent dans les fruits. Cependant un transit trop rapide peut s'avérer problématique lors de pénurie d'aliments riches en glucides. Le binturong semble pour cela avoir acquis des adaptations métaboliques. Il serait ainsi capable de produire une vasoconstriction périphérique importante qui permettrait la diminution de son métabolisme en deçà du taux métabolique de base en conditions d'euthermie. De plus il serait capable de stocker l'énergie sous forme de graisse sous-cutanée et ainsi de compenser la diminution d'apport énergétique lors de périodes de plus faible abondance. Cependant ces suppositions issues d'observations n'ont pas fait l'objet d'études spécifiques et restent donc encore aujourd'hui au stade d'hypothèses (Lambert *et al.*, 2014). Une seconde étude sur dix binturongs a montré que leur flore digestive était peu diversifiée et comportait uniquement des bactéries de la classe des *Bacilli*, ce qui s'explique par le régime alimentaire à base de fruits, riches en glucides, ne nécessitant pas de processus de fermentation important afin d'être digérés (McKenney *et al.*, 2014).

## 2. *Sécrétions de marquage*

L'odorat semble être le sens le plus développé chez le binturong, c'est pourquoi les sécrétions des glandes péri-anales ainsi que les molécules odorantes produites dans l'urine ont une importance particulière chez cette espèce.

Les glandes péri-anales produisent des sécrétions composées essentiellement d'acides carboxyliques de courts et servent d'avantage à la reproduction qu'au marquage de territoire à proprement parler puisqu'il s'agit d'une espèce peu territoriale (Kleiman, 1974 ; Weldon *et al.*, 2000 ; Wemmer et Murtaugh, 1981). Les composés volatils excrétés dans l'urine et utilisés pour le marquage seraient plus abondants et plus diversifiés. Il existerait par ailleurs une différence notable selon le sexe, les mâles excréant des composés plus variés et en plus grande quantité dans leur urine que les femelles. Un des composés les plus abondants chez les deux sexes est le 2-AP (2-Acetyl-1-pyrroline), lequel est à l'origine de l'odeur de pop-corn ou de riz aromatique souvent associée aux binturongs. Bien que cette molécule soit produite par les deux sexes, il a été montré qu'il existait une association entre le taux d'androgène circulant et la quantité de 2-AP dans les urines, ce qui pourrait expliquer qu'il soit retrouvé en plus forte quantité dans l'urine des mâles (Greene *et al.*, 2016).

## 3. *Reproduction*

Peu d'informations sont aujourd'hui disponibles sur la physiologie de la reproduction des binturongs.

La reproduction pourrait être saisonnière en milieu naturel avec deux périodes d'accouplements, l'une au printemps (mars-avril) et l'autre à l'automne (octobre-novembre) (Ahmad *et al.*, 2004). Cependant, des naissances sont observées tout au long de l'année en captivité (Mattoy, 2015).

Une synthèse des données concernant la reproduction des binturongs repertoriées dans la littérature a été réalisée et est synthétisée dans le Tableau 1. La durée du cycle sexuel a été évaluée à 82,5 jours  $\pm$  11.8 en captivité (Wemmer et Murtaugh, 1981) et la gestation dure selon les études entre 88 et 99 jours. La prolificité est plutôt faible pour un Carnivore puisqu'on trouve au maximum 3 petits par portée. Une étude du Studbook européen du binturong a été réalisée à l'aide du logiciel Sparks (Tableau 2) sur la totalité des données, soit entre 1997 et 2016. On observe ainsi qu'en captivité, les plus jeunes individus à s'être reproduits avaient entre 1 et 2 ans, ce qui donne une première indication sur la maturité sexuelle, inférieure à 2 ans. Dans son étude sur la population mondiale captive de binturongs, Mattoy (2015) suggère une maturité sexuelle à partir de 30 mois pour les femelles et de 27,7 mois pour les mâles, soit des valeurs un peu supérieures à celles obtenues à l'aide du Studbook européen. Le nombre moyen de nouveau-nés est de 1.9 d'après le Studbook ce qui est en concordance avec les données obtenues dans la littérature et dans l'étude de Mattoy (2015) qui a calculé une moyenne à 1.65  $\pm$  0,72 entre 2004 et 2014.

**Tableau 1 : Synthèse bibliographique des données concernant la reproduction et l'élevage des petits chez le binturong, *Arctictis binturong*.** Les données en bleues et en gras sont exprimées sous la forme de la moyenne  $\pm$  SD, en vert et en italique lorsqu'il s'agit de valeur(s) ponctuelle(s) ou d'intervalle.

Auteurs	Cycle sexuel				Gestation		Elevage des petits				
	Age de maturité sexuelle mâle (mois)	Age de maturité sexuelle femelle (mois)	Durée du cycle sexuel (jours)	Temps entre deux gestations (jours)	Durée de gestation (jours)	Taille de la portée	Poids à la naissance (g)	Taille à la naissance (cm)	Age à l'ouverture des yeux (jours)	Age à l'apparition des dents (jours)	Age au sevrage (semaines)
Kuschinski (1974)					96	3	333	37,5	9 à 10	21 à 28	
Aquilina et Beyer (1979)					92		283 à 340,5		4	34 à 41	
Wemmer et Murtaugh (1981)	27,7 $\pm$ 3,2	30,4 $\pm$ 3,7	82,5 $\pm$ 11,8	334,0 $\pm$ 27,2	91,5 $\pm$ 1	1,9 $\pm$ 0,1	307 $\pm$ 22,5				
Abra (2010)					88 à 99	1 à 3			10 à 11	27	40 à 63

**Tableau 2 : Données concernant le binturong, *Arctictis binturong*, en captivité obtenues par l'analyse du Studbook européen à l'aide du logiciel (Wilcken et al., 2012) sur les données entre 1997 et 2016.**

Reproduction								Elevage des petits				Données générales		
âge du plus jeune animal à la reproduction		âge du plus vieil animal à la reproduction		âge moyen à la première reproduction		nombre le plus élevé de petit pour un individu au cours de sa vie		temps le plus court observé entre deux gestations	nombre moyen de petits par portée	pourcentage de mortalité infantile (<30 jours)	pourcentage de mortalité infantile (<1 an)	pourcentage d'individus élevés par les parents	espérance de vie à la naissance	âge du plus vieil individu
Femelle	Mâle	Femelle	Mâle	Femelle	Mâle	Femelle	Mâle							
1 an et 10 mois	1 an et 7 mois	17 ans et 5 mois	17 ans et 2 mois	4 ans et 8 mois	4 ans et 6 mois	37	37	82 jours	1,9	31%	37%	83%	9,5 ans	22 ans

## E. Comportement

### 1. Interactions sociales

S'il apparaît évident au travers de la littérature scientifique disponible que cette espèce a un caractère docile et est facilement apprivoisable, la nature de leurs liens sociaux est sujet à davantage de controverses. Les observations de Rozhnov (1994) en milieu naturel indiquent que les binturongs sont solitaires tandis que celles de Murali *et al.* (2013) rapportent la formation de groupes de 2 à 3 individus, malgré le fait qu'aucune interaction sociale n'ait été observée au cours de leur étude. Par ailleurs, les binturongs pourraient former des paires très proches au cours de la saison de reproduction et des groupes composés d'une mère et des juvéniles issus de sa progéniture ont déjà été observés dans la nature (Ahmad *et al.*, 2004). Ces disparités pourraient par ailleurs être expliquées par la variété des lieux d'étude et rendraient compte alors d'une certaine plasticité de l'espèce par rapport à son environnement.

En captivité, la majorité des individus sont maintenus seuls ou en couple. La femelle est souvent dominante dans ces dyades, dans le sens où elle est prioritaire lors des nourrissages et pour le choix du lieu de couchage (Abra, 2010 ; Wemmer et Murtaugh, 1981). Les agressions entre individus sont toutefois rares et peu violentes : les binturongs pourraient même être maintenus en groupes de plus de trois individus d'après l'AZA et le SCTAG (Association of Zoo and Aquarium et Small Carnivore Taxon Advisory Group, 2007). Ce faible niveau d'agressivité pourrait être en réalité sous le contrôle des hormones stéroïdes. En effet, dans l'étude de Green *et al.* (2016), les mâles présentaient plus de testostérone et d'androgènes circulants que les femelles sans que la concentration d'œstradiol ne diffère chez les deux sexes. Or chez les espèces présentant un système social où les femelles sont dominantes, on retrouve le plus souvent une augmentation de la concentration des androgènes chez les femelles à l'origine d'une agressivité accrue chez ces dernières (Petty et Drea, 2015). De plus, il est rare de ne pas observer une oestrogénémie significativement plus élevée chez les femelles que chez les mâles. Il est donc possible que les mécanismes de mise en place du système de dominance du binturong passent par des variations hormonales d'œstrogènes chez le mâle à l'inverse de ce qui est constaté chez de nombreuses espèces. Or l'impact d'un taux élevé d'œstrogènes a encore été peu étudié chez les mâles : des résultats similaires ont été retrouvés chez d'autres espèces maintenant une fonction reproductrice normale sans qu'aucun lien entre le comportement et le taux d'œstrogène n'ait été établi (Bubenik *et al.*, 1997 ; Petty, 2015). De nouvelles études sont donc nécessaires afin de confirmer l'hypothèse selon laquelle l'augmentation des œstrogènes chez les mâles binturongs serait liée à un changement de comportement engendrant ainsi une dominance de la femelle sur le mâle. Ce système de hiérarchie s'il est attesté en captivité n'est toujours pas démontré en milieu naturel.

## 2. Rythme d'activité

L'activité du binturong fait également débat. Une première étude menée par Rozhnov (1994) sur un individu sauvage maintenu en captivité, a montré la présence de pics d'activité la nuit, à des horaires différents en fonction de la saison. Dans une seconde étude se déroulant en Thaïlande, Grassman *et al.* (2005) ont équipé cinq individus mâles avec des colliers émetteurs entre septembre 1998 et novembre 2002. Ils ont noté des pics d'activité entre 4h et 6h ainsi qu'entre 20h et 21h associés à une forte diminution de l'activité entre 11h et 18h. Ces deux publications sont donc en faveur d'un rythme crépusculaire à nocturne. D'autres études existent en milieu naturel et font intervenir des pièges photographiques ou des observations directes. Cependant, en raison de la très faible fréquence de photographies ou d'observations, il est difficile d'utiliser ces données pour extrapoler un rythme d'activité sur la population entière.

En captivité, une seule étude a été menée sur 3 binturongs pendant 250h à l'Arignar Anna Zoological Park (Parc zoologique d'Arignar Anna). Il s'est avéré que les pics d'activité se situaient entre 9h et 12h. En accord avec les observations de Kleiman (1974), les auteurs de cette étude sont arrivés à la conclusion que le binturong était une espèce diurne (Arivazhagan et Thiyagesan, 2001).

En conséquence, il est encore difficile de conclure sur l'activité réelle des binturongs d'autant que les informations obtenues en captivité sont à prendre avec précaution en raison de l'influence de la détention sur le comportement des individus.

## 3. Reproduction et élevage des petits

Wemmer et Murtaugh (1981) ont étudié les comportements sexuels de 6 mâles et 3 femelles pendant 3 ans. Chez ces femelles, l'*oestrus* était caractérisé par une augmentation des cris d'appel ainsi que de la locomotion avec en parallèle une diminution des comportements agonistiques. Elles présentaient des sécrétions muqueuses au niveau de la vulve, qui pouvaient leur servir au marquage. Chez les mâles, une augmentation significative des comportements olfactifs et une diminution des cris de défense ont été observés. En ce qui concerne l'accouplement, il avait lieu en général plusieurs fois à quelques minutes d'intervalles pendant plusieurs nuits d'affilées.

En captivité, il est recommandé de séparer le mâle avant la mise bas, pourtant il a été constaté que le mâle participait à l'élevage des petits dans certains zoo ne séparant pas les individus (Abra, 2010 ; Association of Zoo and Aquarium et Small Carnivore Taxon Advisory Group, 2007). De plus, dans le milieu naturel, le mâle montrerait des comportements protecteurs appuyés pendant les deux premières semaines de vie des nouveau-nés (Ahmad *et al.*, 2004).

A l'instar des chatons (*Felis catus*), ces derniers naissent avec une fine fourrure mais aveugles et n'ouvrent les yeux que quelques jours après la mise bas. Ils manifestent une nette préférence pour les tétines inguinales qui produiraient peut-être un lait de meilleure qualité (Schoknecht, 1984). Quelques données concernant leur évolution ont été collectées dans la bibliographie et sont résumées dans le Tableau 1.

## F. Connaissances vétérinaires

### 1. Anesthésie des binturongs

Actuellement il existe deux publications sur l'anesthésie des binturongs. La plus ancienne compare deux protocoles anesthésiques combinant plusieurs molécules utilisés sur des individus captifs :

1/ Kétamine = 8mg/kg, médétomidine = 0,02mg/kg, butorphanol = 0,4mg/kg

2/ Kétamine = 4mg/kg, médétomidine = 0,04mg/kg, butorphanol = 0,4mg/kg.

Les différences entre ces deux protocoles sont mineures en termes d'effet sur les paramètres physiologiques au cours de l'anesthésie. Il est cependant important de noter que le temps de récupération (décrit par l'auteur comme le temps avant que l'animal ne se lève) après le protocole n°2 est significativement plus court que celui obtenu après le protocole n°1 (respectivement 11,6±9,3 minutes contre 42,7±33,3 minutes). Le deuxième protocole présente donc un intérêt particulier à être utilisé en captivité (Moresco et Larsen, 2003).

La seconde publication s'intéresse à l'utilisation sur huit binturongs sauvages d'un protocole associant la kétamine et la xylazine aux doses respectives de 15 mg/kg et 1,3 mg/kg. Les doses réellement injectées, après pesée des individus, ont été de 19,7±4,1 mg/kg de kétamine et 1,3±0,4 mg/kg de xylazine. Ce protocole a permis une anesthésie complète des individus de 65,3±28,8 minutes en moyenne. Le temps d'induction et de récupération ont été respectivement de 7,3±2,9 minutes et 36,8±28,7 minutes. Les auteurs évoquent de plus la possibilité de réajuster la proportion de xylazine par rapport à la kétamine ainsi que d'utiliser en complément de ce protocole un antagoniste de la xylazine comme la yohimbine ou l'atipamézole afin d'avoir un protocole plus sûr. Dans une autre étude, les mêmes auteurs font référence à l'utilisation d'un protocole anesthésique utilisant de la tilétamine et du zolazépam à la posologie de 10mg/kg chacun mais ne donnent pas d'indication quant à l'efficacité de sa mise en pratique (Grassman *et al.*, 2006, 2005).

### 2. Pathologies diagnostiquées en parcs zoologiques

Les affections pathologiques principales actuellement référencées chez le binturong sont la maladie de Carré et la toxoplasmose. Dans le premier cas, il s'agit d'une maladie infectieuse qui se propage aisément en parc zoologique d'où l'intérêt de la vaccination chez cette espèce. Les individus touchés présentent une diarrhée hémorragique, une anorexie et des écoulements oculo-nasaux. La maladie est mortelle en l'espace d'une dizaine de jours (Chandra *et al.*, 2000 ; Hur *et al.*, 1999). En ce qui concerne la toxoplasmose, des anti-corps ont été retrouvés chez trois binturongs en Thaïlande et chez deux binturongs aux Etats-Unis d'Amérique, un seul de ces binturongs a présenté des signes cliniques. Un traitement à base de triméthoprime-sulfadiazine pendant 4 jours a été mis en place et a permis la guérison de l'animal. En raison du potentiel zoonotique de ce parasite, il est important de noter que les binturong peuvent être porteurs sains (Jensen *et al.*, 1985 ; Oronan *et al.*, 2014).



Les binturongs peuvent également être porteurs sains de *Chlamydia* qui est une bactérie zoonotique (Oronan *et al.*, 2014).

Les autres maladies diagnostiquées correspondent à des cas cliniques. Il s'agit d'une hernie discale, de microlithiases pulmonaires, d'une nécrose infectieuse du myocarde et d'un adénocarcinome rénal accompagné d'un carcinome hépatique et d'une tumeur pancréatique (Bush *et al.*, 1976 ; Hollamby *et al.*, 2004 ; Klaphake *et al.*, 2005 ; Spriggs *et al.*, 2007). Les deux dernières affections n'ont pu être diagnostiquées que lors de l'autopsie.

L'individu souffrant de hernie discale a subi une hémilaminectomie mais est décédé suite à des complications de l'opération. En effet, l'animal a présenté une anorexie ainsi qu'une atonie vésicale. Si l'atonie vésicale s'est résolue une dizaine de jours après l'intervention, il est possible que l'anorexie et le stress engendré par les manipulations répétées aient causé une cystite ainsi qu'une pancréatite et un sepsis entraînant la mort de l'animal 18 jours après l'opération (Spriggs *et al.*, 2007).

L'individu souffrant de microlithiases pulmonaires était au départ traité pour dyspnée et anorexie. Après un mois de traitement antibiotique les signes cliniques ont disparu mais les microlithiases pulmonaires ont persisté à la biopsie. Il est probable que l'animal souffrait d'une infection pulmonaire et que les microlithiases soient une découverte fortuite sans réelle incidence sur l'état de santé de l'animal (Bush *et al.*, 1976).

## **G. Enjeux de conservation**

### *1. Rôle du binturong dans son milieu naturel*

Plusieurs études sur la place du binturong dans son environnement montrent qu'il a un impact fort et bénéfique sur la dispersion et la germination des graines et est considéré comme une espèce clé de voute. En effet, le binturong est une civette de grande taille qui peut donc se nourrir de fruits plus gros que les autres civettes frugivores. De plus, contrairement aux Primates, il ingère la totalité du fruit à l'exception de la peau. Ainsi graines et noyaux transitent dans le tube digestif ce qui permet une dissémination à plus grande distance de l'arbre ainsi qu'une activation de leur germination sous l'action des différentes enzymes digestives. La conservation de ces forêts est donc liée en partie à la conservation du binturong (Colon et Campos-Arceiz, 2013 ; Corlett, 1998).

## 2. Causes de sa disparition

La principale cause de la disparition du binturong demeure la déforestation qui s'est intensifiée du fait de la plantation de palmiers à huile, d'hévéas et de tecks. Le binturong est également touché par le braconnage, aussi bien pour sa viande, sa compagnie ou plus rarement pour sa fourrure qui peut être utilisée comme élément de décoration (Corlett, 2007 ; Schreiber *et al.*, 1989). Il est considérée au Laos comme un met particulièrement goûteux et est réputé assez facile à attraper, ce qui en fait une espèce particulièrement sensible à la pression de chasse (Duckworth *et al.*, 1999). De plus, à l'instar des autres civettes, les glandes péri-anales sont utilisées dans la médecine traditionnelle vietnamienne pour provoquer des avortements et traiter les maladies mentales (Roberton, 2007). A ces premières menaces s'ajoute une nouvelle tendance, celle des fermes de civettes utilisées afin de produire du café. En effet, les cerises du caféier sont données à manger aux civettes car ces dernières digèrent la pulpe mais pas le grain qui est récupéré dans leurs excréments afin d'être torréfié et vendu sous la dénomination « Kopi Luwak ». Il s'agit aujourd'hui du café le plus cher au monde. Les conditions de captivité sont inadaptées à ces civettes, ce qui génère un fort taux de mortalité. On estime à quelques milliers de civettes prélevées dans leur milieu naturel chaque année pour alimenter les fermes à café, ce qui constitue une menace grandissante pour le binturong (D'Cruze *et al.*, 2014).

## 3. Abondance et statut IUCN

Les observations en milieu naturel de cet animal sont complexes étant donné son caractère arboricole, nocturne ainsi que la densité des forêts qu'il habite. Les études cherchant à évaluer la densité des populations de différentes espèces en Asie du sud-est utilisent majoritairement des pièges photographiques placés au sol ; de ce fait il est rare d'obtenir des clichés de binturongs (Annexe 1). L'inadéquation des méthodes d'étude mises en oeuvre empêche d'avoir une évaluation fiable de l'abondance du binturong dans son milieu naturel. Il serait possible d'augmenter le nombre de clichés de binturongs à l'aide de différentes techniques : positionner les pièges photographiques au niveau de zones de sans canopée, les placer en hauteur, au niveau d'arbres fruitiers ou encore mettre des appâts à proximité de ces pièges photographiques (Chutipong *et al.*, 2014 ; Semiadi *et al.*, 2016). Le manque d'informations relatives à cette espèce associé à la perte importante de son habitat l'ont conduit à être classée comme vulnérable sur la Liste rouge de l'IUCN depuis 2008 (Widmann *et al.*, 2008).

#### 4. Conservation in-situ

Actuellement il existe peu de mesures réglementaires prises par les gouvernements asiatiques pour assurer la protection de cette espèce sauf en Indonésie où le binturong est complètement protégé (Lynam *et al.*, 2006 ; Nabhitabhata et Chan-ard, 2005 ; Shepherd, 2008). L'ensemble des mesures prises à l'égard du binturong sont reprises dans le Tableau 3. Ce déficit de protection législative peut être expliqué d'une part par le manque de données scientifiques sur cette espèce et d'autre part par le fait qu'elle soit largement méconnue du grand public. Malgré cela, on observe une augmentation de la fréquence des publications sur l'espèce depuis 2014. Certaines études ont une réelle portée sur la conservation comme celle de Semiadi *et al.* (2016) qui rapporte et décrit clairement les zones sur Bornéo dans lesquelles des mesures devraient être prises pour garantir la protection du binturong. Les mentalités semblent donc évoluer.

**Tableau 3 : Mesures législatives mises en place dans le monde concernant la protection et la conservation du binturong, *Arctictis binturong*. Les données manquantes sont notées NC.**

Région ou Pays	Loi	Mesures réglementaires	Date de mise en application
International	Red list IUCN	Statut « vulnérable »	2008
International	CITES	Annexe III : commerce possible avec un permis d'exportation spécifique	1983
Bunéi	aucune	aucune	-
Cambodge	NC	NC	NC
Chine	Red list	Statut « en danger d'extinction »	NC
Indonésie	Régulation gouvernementale n° 7/1999	Chasse et commerce entièrement interdits	1999
Laos	NC	NC	NC
Malaisie	NC	Protégé	NC
Sabah (Bornéo, Malaisie)	Paragraphe 2 de l'acte de conservation de la faune sauvage de Sabah	Chasse et possession autorisée après délivrance d'une licence par le département de la faune sauvage de Sabah	1997
Sarawak (Bornéo, Malaisie)	Ordonnance de protection de la faune sauvage	NC	1998
Thaïlande	NC	NC	NC
Vietnam	Vietnam red list	Statut « vulnérable »	2000
	Décret 32 IB	Toute exploitation (chasse, domestication, ...) de l'espèce est interdite	2006

## 5. Conservation ex-situ

L'importance de la conservation ex-situ est d'autant plus grande que la conservation in-situ est actuellement très peu développée. C'est pourquoi le binturong a fait l'objet d'un Studbook européen pour l'élevage (ESB) depuis 1997 qui est devenu un Programme d'Élevage Européen (EEP) en mars 2016. Malgré ce dernier, la reproduction s'avère difficile en captivité comme en témoignent de nombreuses études descriptives sur le sujet (Aquilina et Beyer, 1979 ; Arivazhagan et Thiyagesan, 2001 ; Buliř, 1972 ; Gensch, 1963 ; Kuschinski, 1974 ; Wemmer et Murtaugh, 1981).

Au niveau mondial, on observe un nombre de naissances annuel en captivité très variable entre 2004 et 2014 avec une moyenne de 29.6 naissances par an sur la décade considérée et un pourcentage de mortalité avant l'âge d'un mois très élevé : 77 % en moyenne sur entre 2004 et 2014 (Mattoy, 2015). Ces travaux ont par ailleurs mis en évidence que les naissances au mois de mars et celles de mère jeunes ou inexpérimentées étaient statistiquement associées à une plus importante mortalité infantile.

En Europe, on compte 133 individus en janvier 2016 répartis dans 55 établissements. En plus d'un déséquilibre du *sex ratio* (70 mâles pour 50 femelles et 3 non déterminés), une partie des couples ne se reproduit pas, ou ne sont pas en mesure d'élever correctement les petits : le pourcentage de mortalité avant un mois est en moyenne de 30% d'après les données du Studbook européen. Malgré cela, certains couples sont très prolifiques, comme celui de La Ménagerie du Jardin des Plantes de Paris qui accueille une portée chaque année.

Il existe donc en captivité une grande diversité en matière de résultats de reproduction, possiblement liée à la variabilité de techniques d'élevages de ces animaux et au manque de connaissances relatives à leurs besoins physiologiques et comportementaux.

## II. Stress et bien-être du binturong (*Arctictis binturong*) en parcs zoologiques

### A. Le maintien du bien-être des binturongs en parc zoologique

#### 1. Notion de bien-être animal

La notion de bien-être animal est employée dans beaucoup de contextes et de multiples définitions ont été proposées. En 1979, le Farm Animal Welfare Council (Conseil du bien-être des animaux d'élevage) a établi cinq besoins fondamentaux à respecter afin de garantir le bien-être animal :

1. absence de faim, de soif, de malnutrition
2. présence d'abris appropriés et confort minimal
3. absence de maladie et blessure
4. expression de comportements normaux
5. absence de peur et d'anxiété

Cette définition présente un aspect pratique et définit le bien-être animal presque exclusivement de manière négative, soit par l'absence d'événements désagréables. Hill et Broom (2009) ont une approche plus adaptative du bien-être animal qu'ils définissent comme le reflet de la capacité d'un individu à faire face aux événements rencontrés dans l'environnement. Ces deux définitions situent le bien-être animal au niveau individuel. Or aujourd'hui, en parc zoologique, ce sont principalement les « guidelines », qui s'apparentent à des bonnes pratiques d'élevage, qui sont censées garantir la bientraitance des individus captifs. En effet, les « guidelines » fournissent des recommandations relatives à la conception des enclos intérieurs et extérieurs, la ration, le transport, les soins vétérinaires, la reproduction, ou encore la constitution de groupes sociaux. Elles sont le plus souvent écrites par le gestionnaire du programme de reproduction de l'espèce ou les membres du TAG (Taxon Advisory Group) et sont éditées par les associations de regroupement des parcs zoologiques comme l'EAZA (European Association of Zoo and Aquarium) ou encore l'AZA (Association des Zoo et Aquarium) (Barber, 2009). Ces préconisations portent sur une espèce ou sont parfois communes à un taxon entier ; elles peuvent donc ne pas convenir à certains individus (Whitham et Wielebnowski, 2009). De plus ces « guidelines » s'appuient, pour certains taxons, d'avantage sur un savoir empirique que sur des études scientifiques en raison d'un manque réel de données bibliographiques, comme c'est le cas pour le binturong : en Amérique par exemple, les bonnes pratiques de maintien du binturong en captivité sont comprises dans celle de la famille des *Viverridae* et la majorité des informations sont issues de communications personnelles (Association of Zoo and Aquarium et Small Carnivore Taxon Advisory Group, 2007). Ce manque de connaissances souligne l'intérêt de l'évaluation du bien-être du binturong en parc zoologique.

## 2. *Notion de stress en parcs zoologique*

### a) Définition des différents types de stress

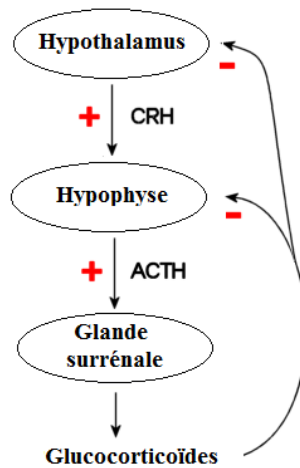
Le stress est défini par de nombreux auteurs comme la réponse biologique induite lorsqu'un individu est confronté à une menace sur son homéostasie. Ainsi tout stress n'est pas automatiquement mauvais ; il est même nécessaire pour assurer la survie de l'animal et son adaptation à son environnement (Möstl et Palme, 2002). Cependant, lorsque l'individu n'est plus capable de maintenir sa stabilité physique et mentale, c'est à dire lorsque son homéostasie est compromise, le stress est considéré comme préjudiciable au bien-être animal (Moberg et Mench, 2000 ; Möstl et Palme, 2002).

Deux types de stress sont à distinguer : le stress aigu et le stress chronique. Le premier correspond à une réponse physiologique mise en place lors de la survenue d'un événement stressant et a finalement peu de conséquences au long terme sur la biologie de l'animal. Cependant, si ces événements stressants sont récurrents et ne permettent pas la mise en place d'une réponse normale ou une récupération suffisante entre la survenue des deux événements, l'individu peut ne plus être en capacité de maintenir son homéostasie : il est alors considéré en état de stress chronique, qui est délétère pour l'organisme. Parmi les effets négatifs de ce stress, on recense notamment un déficit immunitaire, un défaut de croissance, des troubles musculaires et gastro-intestinaux, une diminution des capacités cérébrales ainsi qu'une suppression de la reproduction (Charmandari *et al.*, 2005 ; Moberg et Mench, 2000 ; Möstl et Palme, 2002 ; Wielebnowski, 2003).

### b) Mécanismes de la réponse de stress

Trois composantes distinctes composent la réponse de stress : la composante psychologique (émotions négatives plus ou moins durables comme la peur ou l'anxiété), la composante comportementale, qui correspond à la réponse face à l'événement négatif (fuite, lutte, ...) et la composante physiologique. Cette dernière fait intervenir deux éléments : dans un premier temps le système nerveux autonome, avec l'activation du système orthosympatique et la sécrétion de catécholamines, puis le système neuro-endocrine. L'activation de ce second système permet la libération de CRH (Cortisol Releasing Hormone) par l'hypothalamus, qui engendre la libération d'ACTH (Adréno Cortico Tropic Hormone) par l'hypophyse. L'action de cette hormone se fait essentiellement au niveau des glandes surrénales, permettant la libération des glucocorticoïdes (Figure 6). L'activation de ces deux systèmes est à l'origine de nombreuses modifications biologiques survenant lors de la réponse de stress, parmi lesquelles on peut citer une modification du métabolisme avec une mobilisation des réserves, une broncho-dilatation, une accélération de la fréquence cardiaque et une variation de la pression artérielle, autant de paramètres qui favorisent une réaction adaptée à l'événement survenu, comme par exemple, la fuite devant un prédateur (Moberg et Mench, 2000).

**Figure 6 : Fonctionnement de l'axe corticotrope et boucle de régulation de la libération de glucocorticoïdes (source personnelle).**



c) Les facteurs de stress du binturong en parcs zoologiques

Tout événement incontrôlable ou imprévisible peut devenir un facteur de stress, cependant tout événement inhabituel ne constitue pas obligatoirement un *stimulus* engendrant une réponse de stress (Creel, 2001). En parc zoologique, les individus sont soumis à de nombreux événements incontrôlables ou imprévisibles qui peuvent devenir des événements stressants : la présence de l'homme représenté par les visiteurs et les soigneurs, des indices olfactifs ou visuels de la présence de prédateurs soit appartenant à la faune sauvage locale soit due à la proximité des enclos, les bruits de machines, voitures et autres composants urbains, la pollution lumineuse, ... Ces facteurs sont d'autant plus importants que la captivité ne donne pas à l'animal la possibilité de répondre à un événement stressant par l'évitement ou la fuite (Moberg et Mench, 2000). En ce sens, peu d'espèces ne sont pas soumises à des facteurs de stress inhérents à la captivité et qui ne peuvent être complètement supprimés. Les facteurs de stress diffèrent d'un individu à un autre mais certains peuvent être communs à l'ensemble de l'espèce ou au taxon (Wielebnowski, 2003) : par exemple, les félins semblent sensibles au bruit et aux changements d'environnement (Chosy *et al.*, 2014 ; Dembiec *et al.*, 2004 ; Nei Moreira *et al.*, 2007), les rhinocéros indiens, *Rhinoceros unicornis*, seraient sensibles au transport (Capiro *et al.*, 2014), les suricates, *Suricata suricatta*, à l'inverse seraient peu sensibles à la présence de visiteurs (Sherwen *et al.*, 2014). Chez le binturong ainsi que chez les espèces de la famille des *Viverridae*, ces facteurs n'ont jamais été évalués.

Si on peut rarement supprimer les causes de stress générées par l'environnement de l'animal, leur impact peut néanmoins être diminué grâce à la mise en place d'enrichissements (Mason *et al.*, 2007 ; Wielebnowski, 2003).

### 3. *La notion d'enrichissement*

Un enrichissement correspond à l'ajout d'un ou de plusieurs facteurs dans un milieu relativement pauvre de nature à améliorer le bien-être comportemental et psychologique de l'animal. En parcs zoologiques, il a pour but de diminuer l'impact du stress lié à la captivité sur les animaux, c'est pourquoi il est conçu selon un ou plusieurs de ces cinq principes (Shepherdson, 1998) :

- augmenter le contrôle de l'animal sur son environnement ;
- présenter un défi cognitif ;
- correspondre à un besoin naturel de l'espèce comme le fait de se cacher dans un abri ou encore de chercher sa nourriture ;
- fournir un environnement stimulant l'exploration ;
- stimuler les interactions sociales ;

### 4. *Les différents types d'enrichissements mis en place pour le binturong en captivité*

#### a) Enrichissements structuraux

Ce premier type d'enrichissement correspond à la mise en place d'éléments dans l'environnement de l'animal lui permettant de répondre à ses besoins primaires (se cacher, grimper, se suspendre,...). Pour les binturongs, il est recommandé de proposer des structures en hauteur dans les enclos extérieurs étant donné le caractère arboricole de l'espèce (Association of Zoo and Aquarium et Small Carnivore Taxon Advisory Group, 2007). Elle doit comporter des plateformes afin que les individus puissent rester en hauteur, cependant la hauteur minimum de la structure et des plateformes n'est pas précisée dans les « guidelines ». Un bassin est également régulièrement retrouvé dans les enclos des binturongs, cependant ces derniers ont rarement été observés dans l'eau. L'adjonction de cet élément reste donc sujette à discussion. Des hamacs ainsi que des cachettes sous forme de petites maisons peuvent également faire partie des enrichissements structurels présents dans les enclos (Figure 7).

#### b) Enrichissements sensoriels

Ce type d'enrichissement permet une augmentation du comportement exploratoire de leur environnement et du marquage *via* l'utilisation d'odeurs familières pour l'animal mais nouvelles dans son environnement. Dans le cas des binturongs, ce type d'enrichissement est rarement mise en place bien que dans certains parcs des épices ou des poils de caprins soient utilisés pour les stimuler.



**Figure 7 : Exemple d'enrichissements structurels dans les enclos de binturongs, *Arctictis binturong* (source personnelle).**

Les photographies a, b et c représentent différentes structures dans les enclos situés respectivement dans le parc zoologique de La Boissière du Doré, le parc zoologique de Trégomeur et le parc zoologique de Pont-Scorff. La photographie e montre un binturong utilisant une cabane en bois servant de cachette. La photographie d montre un binturong utilisant un hamac. Les photographies d et e ont été réalisées au parc zoologique de La Boissière du Doré.



### c) Enrichissements alimentaires

Ces enrichissements ont également pour but d'augmenter l'exploration de l'environnement par l'animal mais en se basant cette fois-ci sur l'affouragement. Il s'agit certainement de l'enrichissement le plus souvent utilisé en parcs zoologiques pour les binturongs. La nourriture peut être cachée directement dans l'enclos, ou dans divers contenants (sacs en papiers, feuilles de bananier, boîtes en carton) ce qui permet d'accroître le temps de recherche alimentaire (Figure 8).

### d) Enrichissements cognitif

Ce type d'enrichissement est basé d'une part sur la complexification des enrichissements alimentaires, imposant ainsi à l'animal une augmentation du temps passé à résoudre l'exercice consistant à trouver la nourriture, et d'autre part sur des apprentissages, en particulier du « medical training » (entraînement médical) qui permet de faciliter de futures interventions vétérinaires. Actuellement, très peu d'apprentissages de ce type concernent directement le binturong au sein des parcs zoologiques européens. A l'exception des structures présentant des spectacles avec des binturongs, il se résume par ailleurs souvent à l'entraînement d'un individu à aller d'une loge à une autre ou de l'intérieur vers l'extérieur.

**Figure 8 : Exemples d'enrichissements alimentaires réalisés à La Ménagerie du Jardin des Plantes de Paris. La photographie a représente des binturong en train de chercher de la nourriture dans un sac en carton. La photographie b représente un enrichissement alimentaire avec du poulet caché dans des brindilles (Source personnelle).**





#### e) Enrichissements sociaux

L'enrichissement social passe par la constitution de groupes d'individus reflétant le plus souvent le niveau de socialité de l'espèce dans la nature. Il peut également passer par la mise en contact de deux espèces habitant la même zone naturelle mais ne pouvant se reproduire. La mise en place d'enclos mixtes est plutôt fréquente chez le binturong dans les parcs zoologiques européens. La loutre cendrée, *Amblonyx cinereus*, est l'espèce la plus souvent retrouvée (Figure 9), mais l'enclos mixte peut aussi accueillir des ours malais, *Helarctos malayanus*.

**Figure 9 : Un exemple d'enrichissement social : les loutres cendrées, *Amblonyx cinereus*, montent sur les structures destinées aux binturongs, *Arctictis binturong*, au parc zoologique de La Boissière du Doré (source personnelle).**



Ces enrichissements sont mis en place dans la majorité des institutions dans lesquelles se trouvent des binturongs. Malgré cela, ils ne résolvent pas tous les problèmes et il peut s'avérer nécessaire d'évaluer le bien-être individuel afin d'estimer quel type d'enrichissement serait nécessaire et si ceux réalisés ont un impact positif sur les animaux.

### **B. Comment évaluer le bien-être des binturongs en parc zoologique ?**

#### *1. Mesures comportementales*

Le premier type d'étude permettant d'évaluer le bien-être animal correspond aux études éthologiques. Elles ont permis d'identifier les sources de mal-être pour de nombreuses espèces ainsi que d'évaluer l'impact des solutions mises en place et en particulier celui des enrichissements. Ces travaux ont porté sur la majorité des taxons : les Primates (Cannon *et al.*, 2016 ; Gray *et al.*, 2015 ; Hosey, 2005 ; Marriner et Drickamer, 1994), les Félinés (Chosy *et al.*, 2014 ; Mallapur et Chellam, 2002 ; Paux, 2014), les Canidés (Coelho *et al.*, 2012 ; Cummings *et al.*, 2007 ; MacDonald, 2016), les Cétacés (Clark *et al.*, 2013 ; Clarke et Boinski, 1995 ; Jensen *et al.*, 2013), les Oiseaux (Collins et Marples, 2015 ; de Azevedo *et al.*, 2013 ; Sherwen *et al.*, 2015),... Cependant aucune étude éthologique à ce jour n'a été mise en place en parc zoologique sur les *Viverridae* spécifiquement.

Ces études reposent sur une connaissance préalable des comportements d'une espèce. Elles ont pour but de déterminer chez un individu ou un groupe d'individus l'existence et la fréquence de comportements anormaux ou répétitifs ainsi que l'intensification anormale d'un comportement normal. Il faut toutefois manier avec prudence le concept de "normalité", la présence d'un comportement non manifesté en milieu naturel ou absent dans un autre groupe captif ne signifie pas obligatoirement qu'il s'agit d'un comportement mal-adaptatif. De la même façon, l'augmentation de la fréquence d'un comportement ne signifie pas systématiquement qu'il y ait une diminution du bien-être animal (Hill et Broom, 2009 ; Watters *et al.*, 2009). Ainsi, ces études éthologiques scientifiques et rigoureuses peuvent être limitées par une mauvaise connaissance individuelle des sujets étudiés. Les données encore trop parcimonieuses et lacunaires sur les *Viverridae* en général, et sur le binturong en particulier, rendent donc ces études d'autant plus délicates. Pour pallier ce manque d'informations, certains auteurs ont mis en place une évaluation du comportement et du bien-être animal au travers de questionnaires et de grilles de notations remplis par les soigneurs (Whitham et Wielebnowski, 2009). En effet, ces derniers acquièrent avec l'expérience une connaissance approfondie du comportement des espèces dont ils ont la charge. Ce type d'étude a déjà été réalisée sur différentes espèces : les panthères longibandes, *Neofelis neblosa*, (Wielebnowski *et al.*, 2002), les chimpanzés, *Pan troglodytes*, (King et Landau, 2003), les rhinocéros blancs, *Ceratotherium simum*, et noirs, *Diceros bicornis*, (Carlstead et Brown, 2005), les éléphants d'Afrique, *Loxodonta africana*, (Grand *et al.*, 2012) ou encore les gorilles, *Gorilla gorilla* (Less *et al.*, 2012).

## 2. Mesures de paramètres physiologiques

Le second type d'étude concerne l'approche physiologique qui permet une évaluation de la réaction de stress qui peut être utilisée comme un indicateur de la dégradation du bien-être animal.

### a) Les hormones du stress

Comme expliqué ci-dessus, les glucocorticoïdes (GC) et les catécholamines sont les hormones médiatrices de la réponse à un événement stressant ponctuel via l'activation de l'axe corticotrope et du système nerveux orthosympathique (Sheriff *et al.*, 2011). Pour cette raison, ces hormones constituent des marqueurs utilisés afin de mesurer la réponse de stress. Le cortisol est une hormone facile à doser en raison de son augmentation lente, à l'inverse de la noradrénaline et de l'adrénaline dont les variations de concentration résultent de leur libération en de décharges fugaces liées à des sécrétions pulsatiles extrêmement difficiles à doser. C'est pourquoi, pour ces dernières, seules les conséquences physiologiques de leur libération sont mesurées.

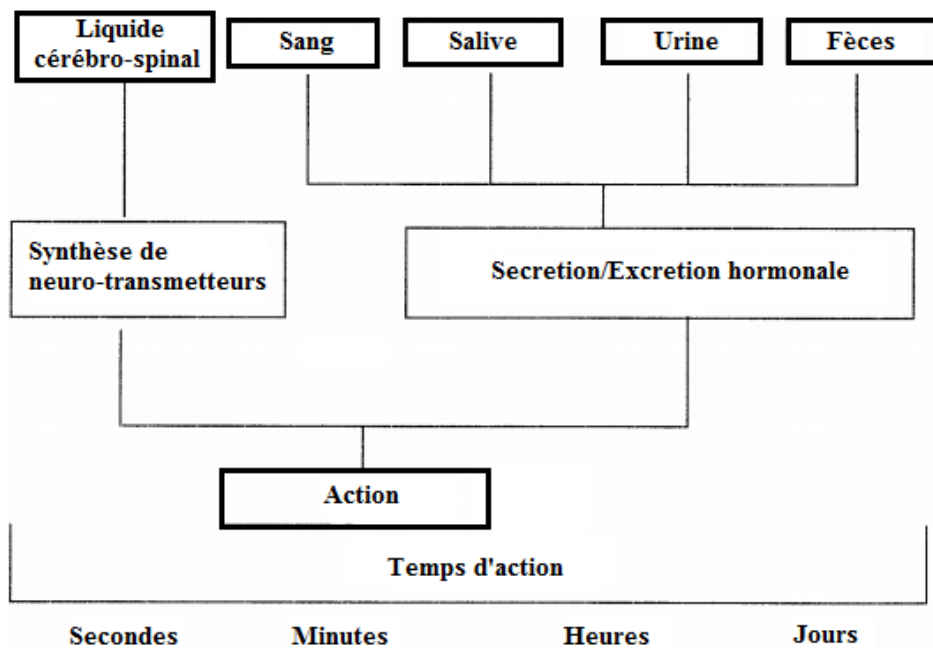
b) Mesure de la fréquence cardiaque et respiratoire

Il s'agit des conséquences de la libération de catécholamines. En pratique, ces mesures sont rarement réalisées sur les animaux sauvages car elles sont compliquées à mettre en œuvre sur des individus qui ne peuvent être approchés et sont alors entachées d'un biais lié à la présence de l'observateur (Dembiec *et al.*, 2004 ; Möstl et Palme, 2002).

c) Mesure du cortisol et de ses métabolites

Les GC peuvent être retrouvés dans différents substrats et sous différentes formes. Dans la littérature c'est principalement le cortisol ou ses métabolites qui sont recherchés, d'une part du fait de la prédominance de l'implication de cette hormone dans la majorité des taxons, mais aussi du fait de son activité biologique plus importante que les autres GC. Différents substrats sont disponibles pour son dosage : le sang, la salive, l'urine, les fèces et les poils (Möstl et Palme, 2002 ; Whitten *et al.*, 1998). Ils comportent chacun des avantages et des inconvénients et se distinguent entre autre par la facilité d'obtention du substrat, la qualité de l'information obtenue (stress unique ou stress sommé) et le temps de latence entre la survenue de l'événement stressant et le pic de cortisol associé mesurable dans ces différents supports (Figure 10).

**Figure 10 : Représentation des temps de latence entre la survenue de l'événement stressant (action) et l'apparition du pic hormonal dans les différents fluides étudiés (d'après : Whitten et al., 1998).**



### i. Dosage sanguin

Il s'agit d'un dosage couramment effectué sur les animaux domestiques et de laboratoire mais qui est plus difficile à mettre en place chez les animaux sauvages même captifs. Cette mesure a pour avantage de se focaliser uniquement sur le cortisol et de ne pas prendre en compte ses métabolites. Elle permet d'obtenir une information directe sur un facteur de stress qui vient d'avoir lieu. Cependant, cette mesure peut être faussée par la manipulation de l'animal et doit donc être réalisée rapidement c'est-à-dire dans les 3 à 5 minutes qui suivent la capture de l'animal. Par ailleurs, l'information instantanée implique une répétition des manœuvres pour avoir une information globale de la réaction d'un individu à des facteurs de stress ou pour avoir une évaluation du stress chronique de l'animal. De plus, cette information dépend fortement de l'heure de la journée en raison du cycle circadien de variation de la cortisolémie (Murtagh *et al.*, 2013 ; Palme *et al.*, 2005 ; Sheriff *et al.*, 2011 ; Whitten *et al.*, 1998).

### ii. Dosage salivaire

La liposolubilité du cortisol permet un passage libre du sang vers la salive. Cette méthode non-invasive peut être facilement mise en œuvre sur les animaux captifs. La récolte de ce type de matrice se fait alors grâce à l'utilisation de tubes à sucer avec un système de récolte de salive intégré. Elle est cependant plus difficile à mettre en place chez les animaux sauvages en milieu naturel car elle nécessite la capture de ces derniers. Par ailleurs le cortisol salivaire est très stable et peut être conservé sur de longues périodes à condition de maintenir l'échantillon humide (Sheriff *et al.*, 2011 ; Whitten *et al.*, 1998).

### iii. Dosage urinaire

Une partie du cortisol sanguin est métabolisé par les reins et excrété dans l'urine. La proportion d'excrétion dans les urines par rapport aux fèces est très variable selon les taxons, il est donc intéressant de connaître ce différentiel afin de choisir le bon substrat contenant donc le plus de métabolites du cortisol. Cette méthode est également non-invasive, ce qui explique sa large utilisation sur des animaux captifs. Cependant, la récolte des urines n'est pas toujours simple, d'autant qu'il faut veiller à ce que celles de plusieurs individus ne se mélangent pas (Möstl et Palme, 2002 ; Palme *et al.*, 2005 ; Sheriff *et al.*, 2011 ; Whitten *et al.*, 1998).

#### iv. Dosage fécal

Les métabolites du cortisol peuvent être également dosés dans les fèces car le cortisol est excrété par la bile. Il est ensuite métabolisé par les bactéries ce qui implique que les dosages fécaux mesurent davantage les métabolites que le cortisol lui-même. Ces métabolites sont différents dans leur structure et dans leur proportion selon les espèces. Le dosage fécal permet d'obtenir une information sommée reflétant les variations de cortisol sanguin sur plusieurs heures voir plusieurs jours selon les espèces. Cependant, bien que la méthode soit non-invasive, la récolte des échantillons est parfois difficile, en particulier sur les animaux sauvages en milieu naturel (Möstl et Palme, 2002 ; Palme, 2012 ; Palme *et al.*, 2013, 2005 ; Schwarzenberger, 2007 ; Sheriff *et al.*, 2011 ; Whitten *et al.*, 1998).

#### v. Dosage dans les poils

Le cortisol peut également être retrouvé et mesuré dans les poils. De plus en plus utilisé en raison de la facilité d'obtention et de stockage des échantillons, ce dosage reste soumis à controverse. En effet, le métabolisme du cortisol et la voie d'élimination par les poils n'ont pas encore été complètement déterminés et il est possible qu'une partie du cortisol retrouvée dans les poils ait une origine locale : il a récemment été montré que la peau avait un rôle endocrine mineur et qu'elle serait en mesure de produire du cortisol sous l'action d'une stimulation nerveuse. La question de la représentativité du cortisol des poils reste donc ouverte (Palme, 2012 ; Sheriff *et al.*, 2011).

#### d) Limites des mesures physiologiques

Le problème émanant des mesures physiologiques provient d'une part du fait que la production de cortisol et de catécholamine intervient au cours de tout événement inhabituel, que celui-ci soit positif ou négatif pour l'animal. Il est donc difficile d'interpréter des mesures isolées car elles peuvent être reliées à l'arrivée d'un événement nouveau et excitant (Palme, 2012). C'est le cas par exemple dans l'expérience de Cummings *et al.* (2007) sur des loups à crinière, *Chrysocion brachyurus* : la mise en place d'enrichissements alimentaire était associée avec une augmentation transitoire du cortisol fécal et également à une augmentation de la réalisation de comportements positifs. De plus, les références hormonales sont difficiles à établir en captivité en raison du trop faible effectif d'individus qui pourraient être considérés comme « indemnes » de stress chronique. A cela s'ajoute que les modifications biologiques suite à l'entrée de l'animal en stress chronique sont encore discutées aujourd'hui. Par exemple, d'après Creel (2001), un individu soumis à un stress chronique aura un taux de cortisol basal plus élevé que la moyenne et présentera un écrêtement des pics de cortisol liés aux événements stressants. Il y aura alors un double effet délétère avec une trop grande quantité de cortisol dans l'organisme couplée à une mauvaise réponse comportementale en cas de stress aigu (absence de fuite devant un prédateur par exemple). Cependant, dans une

étude sur des lièvres sauvages, *Oryctolagus cuniculus*, (Sheriff *et al.*, 2010) ont montré que les individus présentant un taux de cortisol fécal plus élevé présentaient aussi une sensibilité accrue à l'ACTH et une résistance à la dexaméthasone. Ces résultats iraient donc dans le sens inverse de ceux de Creel (2001) et tendraient à montrer que les individus présentant un stress chronique auraient une hyper-réactivité à un stress aigu et seraient moins sensibles à la boucle de retro-contrôle du cortisol. L'interprétation des dosages de cortisol est donc plus complexe qu'il n'y paraît et doit être réalisée avec précautions.

### 3. *Recoupement des différentes méthodes*

Il apparaît dans les paragraphes précédents que tous les types de mesures comportent des limites dans l'évaluation du niveau de stress et du bien-être animal en captivité. Ainsi de plus en plus d'études combinent des observations comportementales aux mesures de paramètres physiologiques (Nei Moreira *et al.*, 2007 ; Peel *et al.*, 2005 ; Proctor et Brown, 2015 ; Rafacz et Santymire, 2014 ; Wielebnowski *et al.*, 2002). Ces études croisées ont deux intérêts principaux.

Le premier est d'avoir une vision globale de l'animal. En effet, le bien-être comporte une composante physiologique mais aussi comportementale. De plus, comme il a été évoqué précédemment, les valeurs obtenues lors de dosages de cortisol ou de ces métabolites peuvent être complexes à interpréter car chaque méthode donne une image à un instant donné du système endocrinien et non une vision globale du fonctionnement hormonal (Whitten *et al.*, 1998). De la même façon, l'observation de la réalisation de certains comportements ne permet pas de tirer aisément des conclusions définitives. Ainsi, le croisement de ces deux méthodes augmente la précision de la détermination du niveau de stress perçu par l'individu et de son bien-être (Fraser, 2009 ; Palme, 2012 ; Palme *et al.*, 2005 ; Wielebnowski, 2003).

Le deuxième intérêt est de pouvoir relier la réalisation d'un comportement avec l'augmentation de l'activité de l'axe corticotrope. Cela a été constaté, par exemple, avec les comportements de stéréotypie (Liu *et al.*, 2006 ; Shepherdson, 1998 ; Wielebnowski *et al.*, 2002) mais aussi avec d'autres comportements comme l'auto-mutilation ou encore les comportements olfactifs (Carlstead et Brown, 2005 ; Clara *et al.*, 2007 ; Wielebnowski *et al.*, 2002). Ces comportements peuvent alors servir de témoins de mal-être pour l'espèce considérée dans le cadre d'études ultérieures et éviter l'emploi systématique de mesures physiologiques. Cependant il faut garder en tête que ces comportements peuvent être individu-dépendant, comme chez les gorilles pour lesquels Peel *et al.* (2005) ont montré que le comportement prédisant une augmentation du cortisol était différent pour chaque femelle (comportement d'alerte, toilettage, ...).



Pour conclure cette première partie, il apparaît clairement qu'il existe actuellement un manque crucial d'informations non seulement sur le binturong mais aussi sur le taxon entier des *Viverridae*. Ce constat transparait dans la gestion des individus captifs, sujette à une grande variabilité au sein des institutions, ainsi que par les mauvais résultats de reproduction de la plupart des couples captifs européens. Aucune évaluation du bien-être n'a été réalisée sur cette espèce jusqu'à présent et ses besoins tant physiologiques que comportementaux restent largement méconnus bien que des enrichissements soient mis en œuvre par la majorité des parcs zoologiques. C'est pourquoi il a été décidé de mettre en place une étude préliminaire sur le comportement et les facteurs de stress du binturong en captivité en recoupant des données comportementales avec une mesure des métabolites fécaux du cortisol (MFC).

## DEUXIÈME PARTIE : APPROCHE EXPÉRIMENTALE

---

## **I. Choix de la méthode d'extraction des métabolites fécaux du cortisol chez le binturong, *Arctictis binturong***

Pour l'évaluation de la réponse au stress chez le binturong, il a été décidé d'utiliser les fèces comme substrat pour le dosage des GC en raison du caractère non-invasif de sa récolte, de la possibilité de différencier aisément les excréments provenant de deux individus différents avec l'utilisation de marqueurs et aussi en raison de l'information sommée sur le stress global perçu par l'animal qu'il permet d'obtenir. Etant donné la grande diversité de méthodes d'extraction du cortisol fécal dans la littérature scientifique et l'absence de consensus, quatre protocoles d'extraction ont été comparés dans un premier temps, dans le but de déterminer lequel était le plus adapté à l'étude des MFC (métabolites fécaux du cortisol) chez le binturong.

### **A. Matériel et méthode**

#### *1. Echantillonnage*

Pour cette partie de l'étude 10 individus (6 mâles et 4 femelles) ont été recrutés dans des établissements français participant au programme d'élevage européen (Tableau 4). Un échantillon de fèces par individu a été prélevé entre le 10 avril et le 3 mai 2016 puis homogénéisé manuellement dans un mortier et congelé à  $-12^{\circ}\text{C}$  jusqu'à l'extraction. Les fèces ont pu être attribuées de manière certaine à un individu soit par observation directe de la défécation soit par l'utilisation de marqueurs insérés dans la nourriture (grains de maïs, pois ou sésame). Dans cette partie de l'étude, l'heure de la récolte n'a pas été prise en compte.

Afin de pouvoir tester le rendement des protocoles d'extraction, du cortisol pur (Cortisol Solution, 1mg/mL dans du méthanol, Cerilliant Corporation) a été ajouté dans chaque échantillon. Pour cela, les échantillons ont été répartis en deux aliquots avant la congélation : une moitié a été congelée sans ajout de cortisol et la seconde moitié a été congelée après ajout du cortisol à une concentration de  $1,5 \pm 0.06 \mu\text{g/g}$  de fèces humides.

**Tableau 4 : Liste des institutions participant à l'étude ainsi que les effectifs présents dans chaque structure**

Nom de l'institution	Nombre de binturongs	
	Mâles	Femelles
Parc zoologique de La Boissière du Doré, La Boissière du Doré, France	1	1
Zoo de Lille, Lille, France	1	0
Ménagerie du Jardin des Plantes, Paris, France	1	2
Zoo de Pont-Scorff, Pont-Scorff, France	1	0
Parc zoologique de la Tête d'Or, Lyon, France	1	0
Par zoologique de Trégomeur, Trégomeur, France	1	1
<b>TOTAL</b>	<b>6</b>	<b>4</b>

## 2. Extraction

Le premier protocole est tiré de l'étude réalisée sur les félins par Roos (2015), lui-même adapté de différents auteurs (Graham et Brown, 1996 ; Terio *et al.*, 1999 ; Wielebnowski *et al.*, 2002). Il s'agit d'une double extraction en phase liquide.

Pour ce protocole, la série d'échantillons à traiter était mise à sécher dans une étuve entre 54°C et 58°C. Elle y restait jusqu'à l'obtention de fèces déshydratées. L'extraction était ensuite réalisée sur les échantillons séchés en suivant les étapes ci-dessous :

1. Réduction en poudre de l'échantillon, passage au tamis afin d'enlever les éventuels débris puis homogénéisation.
2. Prélèvement de 0,2 g ± 0,005 g de fèces à l'aide d'une balance de précision.
3. Ajout de 3 ml d'éthanol à 96% dans le prélèvement mis dans un tube à essais d'une capacité de 5 ml. Le tube était porté à ébullition au bain marie. Le chauffage était stoppé à l'apparition des premières bulles dans le tube.
4. Centrifugation à 22.000 g pendant 10 min puis prélèvement et conservation du surnageant dans un tube Falcon.
5. Dissolution du culot dans 3 ml d'éthanol à 80% puis passage au vortex pendant 2 min.
6. Deuxième centrifugation à 22.000 g pendant 10 min puis prélèvement du surnageant à mélanger avec le premier dans le tube Falcon pour chaque échantillon.

Les trois autres protocoles (décrits dans le Tableau 5) différaient du premier sur deux étapes clés à savoir le séchage des échantillons (étape 1) et la méthode choisie pour la première extraction (étape 3). Dans les protocoles 3 et 4, les échantillons étaient traités sans être préalablement séchés. Dans ces deux protocoles, 0,6 g ± 0,005g de fèces étaient alors prélevés pour réaliser l'extraction. Dans les protocoles 2 et 4, la modification porte sur l'étape 3 : les échantillons étaient agités à l'aide d'un vortex à 1000 rpm pendant 30 minutes au lieu d'être chauffés. Ces modifications ont été choisies d'après le protocole de Wasser et al (2000) et la synthèse réalisée par Palme (2013) sur les différents protocoles d'extraction de MFC.

Chaque échantillon sans cortisol et avec cortisol a été soumis aux quatre protocoles. Après l'extraction, le surnageant récupéré a été conservé dans des tubes Falcon à -12°C et à l'abri de la lumière pour éviter la dégradation du cortisol. Quelques jours avant les analyses, un mL des échantillons à tester était prélevé et mis dans des tubes eppendorf de 1,5 mL. Ces derniers étaient séchés dans un SpeedVac puis conservés à l'état secs et à l'abri de la lumière jusqu'aux analyses.

**Tableau 5 : Comparaison des quatre protocoles d'extraction utilisés au cours de l'étude.**

N°	Solvant	Nombre d'extraction	Etape 1 : séchage des échantillons	Etape 3 : première extraction
1	Ethanol	2	Jusqu'à ce que l'échantillon soit complètement sec	Chauffage jusqu'à ébullition
2	Ethanol	2	Jusqu'à ce que l'échantillon soit complètement sec	Agitation au vortex pendant 30 minutes
3	Ethanol	2	Aucun	Chauffage jusqu'à ébullition
4	Ethanol	2	Aucun	Agitation au vortex pendant 30 minutes

### 3. *Dosage ELISA*

Le dosage par ELISA (Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay) a été réalisé au laboratoire du Muséum National d'Histoire Naturelle situé au Musée de l'Homme. Au total, 80 mesures ont été réalisées pour comparer les méthodes.

Les kits de dosage du cortisol salivaire de Salimetrics® ont été utilisés en se basant sur le principe des réactions croisées possibles entre les différents métabolites du cortisol. L'existence de ces réactions croisées nous permet d'utiliser ces kits destinés à l'analyse de salive pour détecter également les MFC. La sensibilité de ce test, pour le dosage du cortisol salivaire est de 0,007 µg/dL de salive. Ce dosage est colorimétrique et se déroule selon les étapes suivantes :

1. Mise en suspension des échantillons dans 1 mL de PBS (tampon phosphate salin) puis passage au vortex et au bain marie afin de solubiliser l'ensemble de l'échantillon sec. Aucune dilution n'a été réalisée sur ces échantillons.
2. Remplissage des puits contenant les anticorps dirigés contre les MFC : ajouter 25 µL des échantillons reconstitués dans chaque puits. Le dosage est réalisé en duplicat, chaque échantillon est donc présent dans deux puits.
3. Ajout de 200 µL de la solution de cortisol conjugué à chaque puits.
4. Mélange des solutions dans les puits 5 minutes à 500 g puis incubation pendant 55 minutes à température ambiante.
5. Lavage des puits 4 fois de suite : mettre 300 µL de solution tampon puis retourner la plaque et essuyer délicatement.
6. Ajout de 200 µL de TMB (Tétraméthylbenzidine) dans chaque puit.
7. Mélange 5 minutes à 500 rpm puis incubation 25 minutes à température ambiante à l'obscurité.
8. Ajout de 50 µL de solution stop (qui arrête la réaction entre l'enzyme, et son substrat).
9. Mélange 3 minutes à 500 g puis lecture et traitement informatique des résultats grâce à la gamme fournie (gamme de concentrations connues en cortisol).

Le TMB est le substrat de l'enzyme présente dans la solution de cortisol conjugué. Cette dernière rend son substrat, le TMB, bleu. Ainsi, moins il y a de cortisol dans la solution testée, plus le cortisol conjugué a été fixé aux anticorps du puits, plus l'enzyme sera présente et plus le puit sera bleu. La variation de coloration de la solution est donc inversement proportionnelle à la concentration en MFC de l'échantillon.

Les résultats finaux ont été exprimés en ng/g de fèces sèches (protocole 1 et 2) ou humides (protocole 3 et 4).

Les dosages ont été réalisés en duplicata afin de pouvoir déterminer un coefficient de variabilité intra-essai qui est en moyenne de 3,38 % ( $n = 133$ ). Au final, 96,2 % ( $n = 128$ ) des échantillons présentaient un coefficient de variabilité inférieur à 10 %.

#### 4. Analyses statistiques

L'objectif de cette partie de l'étude était de pouvoir comparer les différents protocoles afin de déterminer quel protocole était le plus adapté à l'étude et au dosage des MFC chez le binturong. Pour cela deux hypothèses ont été formulées :

1/ Les méthodes d'extraction des MFC sur fèces sèches et sur fèces humides sont concordantes.

2/ Les méthodes d'extraction des MFC par chauffage et par agitation à l'aide d'un vortex sont concordantes.

Ainsi, dans un premier temps, les protocoles 1 et 3 ainsi que les protocoles 2 et 4 ont été comparés afin de déterminer l'impact du séchage des fèces sur l'extraction des MFC. Or les résultats obtenus suite à l'application de ces protocoles n'ont pas la même unité (ng/g de fèces sèches pour les protocoles 1 et 2 et ng/g de fèces humides pour les protocoles 3 et 4), il n'était donc pas possible d'utiliser un test de concordance. C'est donc un coefficient de corrélation de Spearman qui a été calculé sur les échantillons sans ajout de cortisol. Plus la valeur de ce coefficient est proche de 1, plus les mesures des deux protocoles sont triées dans le même ordre, c'est-à-dire que les valeurs les plus faibles, celles intermédiaires et celles les plus élevées pour l'un sont également et respectivement celles les plus faibles, celles intermédiaires et celles les plus élevées pour l'autre.

En parallèle, une seconde façon de comparer ces protocoles a été utilisée en calculant les rendements de chaque protocole dont la formule est présentée en Figure 11. Les valeurs obtenues n'ayant pas une distribution suivant une loi normale, un test des rangs signés de Wilcoxon a été réalisé sur ces données pour comparer la médiane des rendements des protocoles 1 et 3 puis 2 et 4.

**Figure 11: Calcul du rendement des quatre méthodes employées sur le i-ème échantillon.**

$C_{i \text{ avec cortisol}}$  correspond à la concentration mesurée en FMC (dont le cortisol) de la moitié du i-ème échantillon dans lequel du cortisol a été ajouté (en ng/g de fèces humides ou sèches).

$C_{i \text{ sans cortisol}}$  correspond à la concentration mesurée en FMC de la moitié du i-ème échantillon dans lequel aucun cortisol n'a été ajouté (en ng/g de fèces humides ou sèches).

$C_{\text{théorique}}$  correspond à la concentration qui devrait être mesurée si la méthode permettait l'extraction de 100% du cortisol ajouté (en ng/g de fèces humides ou sèches).

$r$  correspond au rendement (sans unité)

$$r = \frac{C_{i \text{ avec cortisol}} - C_{i \text{ sans cortisol}}}{C_{\text{théorique}}}$$

Dans un second temps, des coefficients de Lin ainsi que des graphiques de Bland-Altman (Martin Bland et Altman, 1986) ont été réalisés pour comparer les protocoles 1 et 2 puis 3 et 4, et pouvoir ainsi discuter de l'impact de l'utilisation du chauffage ou de l'agitation sur l'extraction des MFC. Seules les moitiés d'échantillons sans cortisol ont été utilisées pour cette comparaison. La zone d'agrément a été fixée à 95 % et les critères cliniques de validité ont été fixés comme suit :

1/ La valeur limite de surestimation ou de sous-estimation d'un protocole par rapport à un autre est de 0,5 ng/g

2/ La très grande majorité des écarts entre les mesures provenant des deux protocoles doit être inférieure à 1 ng/g (en valeur absolue).

## B. Résultats

### 1. Comparaison des méthodes sur fèces sèches et humides

Les protocoles 1 et 3 d'une part et 2 et 4 d'autre part ont un coefficient de corrélation peu élevés (respectivement  $r=0,47$  ;  $p=0,15$  et  $r=0,49$  ;  $p=0,15$ ). De plus, on observe dans le Tableau 6 que les protocoles 3 et 4 ont un rendement médian respectivement supérieur aux protocoles 1 et 2. Ces différences sont significatives ( $p<0,01$  entre les protocoles 1 et 3 et entre les protocoles 2 et 4). Ainsi chez les binturongs étudiés, l'extraction sur fèces humides a un rendement significativement plus élevé que l'extraction sur fèces sèches, que celle-ci soit réalisée par chauffage ou par agitation.

**Tableau 6: Rendement des quatre protocoles utilisés (sans unité).**

*Les protocoles 1 et 2 ont été réalisés sur fèces sèches tandis que les protocoles 3 et 4 sont été réalisés sur fèces humides. Les protocoles 1 et 3 correspondent à une extraction par chauffage et les protocoles 2 et 4 correspondent à une extraction par agitation.*

	Protocole 1	Protocole 2	Protocole 3	Protocole 4
Rendement moyen (sans unité)	0,012	0,015	0,212	0,213
Rendement médian (sans unité)	0,015	0,013	0,217	0,214
Ecart-type	0,012	0,016	0,169	0,155



## 2. Comparaison des méthodes par chauffage et agitation

Les coefficients de Lin présentés dans le Tableau 7 montrent que les protocoles 1 et 2 d'une part et 3 et 4 d'autre part présentent une concordance plutôt bonne.

Les graphiques de Bland et Altman permettent d'obtenir la valeur du biais et de la limite supérieure d'agrément présentés dans le Tableau 7. Pour les protocoles 1 et 2, ce biais est très supérieur à la valeur de 0,5 ng/g qui avait été fixée. Pour les protocoles 3 et 4, ce biais est inférieur mais l'intervalle de confiance dépasse largement cette valeur. De plus la limite supérieure d'agrément pour les protocoles 1 et 2 ainsi que pour les protocoles 3 et 4 est très supérieure à la limite fixée qui était de 1 ng/g. Ainsi aucun des deux critères de concordance n'est respecté pour les protocoles 1 et 2 ainsi que pour les protocoles 3 et 4.

**Tableau 7 : Critères de concordance des protocoles 1 et 2 ainsi que des protocoles 3 et 4.**

*Les protocoles 1 et 2 ont été réalisés sur fèces sèches tandis que les protocoles 3 et 4 sont été réalisés sur fèces humides. Les protocoles 1 et 3 correspondent à une extraction par chauffage et les protocoles 2 et 4 correspondent à une extraction par agitation. Les valeurs entre crochets correspondent aux intervalles de confiance à 95% des valeurs précédentes. Le biais ainsi que les limites 95% supérieure et inférieure d'agrément ont été obtenus avec la méthode de Bland et Altman.*

Protocoles comparés	Coefficient de concordance de Lin	Biais	Limite 95% supérieure d'agrément	Limite 95% inférieure d'agrément
1 et 2	0,87 [0,72 ; 1,02]	2,48 [-6,73 ; 11,69]	33,02 [14,97 ; 51,08]	-28,07 [-46,13 ; -10,02]
3 et 4	0,87 [0,70 ; 1,04]	0,16 [-2,99 ; 3,31]	10,61 [4,43 ; 16,78]	-10,29 [-16,47 ; -4,12]

## C. Discussion

Il a été démontré que les protocoles sur fèces sèches et humides n'étaient pas corrélés de façon importante. De plus, chez les binturongs étudiés, qu'elle soit réalisée par chauffage ou par agitation, l'extraction sur fèces humides a un rendement significativement plus élevé que l'extraction sur fèces sèches. Cependant, cette observation obtenue *a posteriori* étant en opposition avec l'hypothèse de départ, il serait nécessaire de réaliser une seconde étude, sur un plus grand nombre d'individus, pour la confirmer. Il est malgré tout possible de conclure que chez le binturong, il est probable que l'extraction sur fèces humide ait un meilleur rendement que celle sur fèces sèches, quelle que soit la méthode d'extraction utilisée par la suite (chauffage ou agitation). C'est pourquoi dans la suite de l'étude, les extractions ont été réalisées sur fèces humides.

Cette observation contredit celles réalisées sur d'autres espèces comme les loups à crinière, *Chrysocyon brachyurus*, ou les chouettes rayées, *Strix varia*, pour lesquels une corrélation avait été observée sur quelques individus (respectivement 2 et 4) entre les mesures effectuées sur fèces humides et sèches (Vasconcellos *et al.*, 2011 ; Wasser et Hunt, 2005). Outre le faible nombre d'individus dans ces études, il est possible que le processus de séchage utilisé soit à l'origine de cette différence. En effet, les caractéristiques macroscopiques des fèces de binturongs complexifient la mise en place d'un séchage : les excréments sont de taille très variable (entre 8 et 200 g) et avec un taux d'humidité élevé (en moyenne  $80 \% \pm 6 \%$  chez les individus participant à cette étude). Par conséquent les temps de chauffage étaient plus longs que ceux utilisés classiquement : entre 41 h et 120 h à environ 55°C contre, par exemple, seulement 14h de séchage à 55°C dans l'étude de Roos (2015). Or le processus de séchage a un impact direct sur la prolifération bactérienne et la dégradation des enzymes bactériennes qui peuvent être à l'origine d'une dégradation du cortisol (Möstl *et al.*, 2005 ; Terio *et al.*, 2002). Ce phénomène pourrait expliquer la diminution du rendement des protocoles sur fèces sèches. Il serait donc intéressant dans une étude ultérieure de comparer différents processus de séchage sur les excréments de binturongs. Par ailleurs, les rendements obtenus au cours de cette étude restent faibles, même pour les protocoles sur fèces humides, comparés à ceux disponibles dans la littérature sur d'autres espèces : entre 0,569 et 0,97 (Mateo et Cavigelli, 2005 ; Palme *et al.*, 2013 ; Soto-Gamboa *et al.*, 2009 ; Wielebnowski *et al.*, 2002) contre 0,013 et 0,217 dans notre étude.

En ce qui concerne l'impact de l'utilisation d'une agitation au vortex à la place du chauffage, la comparaison *via* le coefficient de concordance de Lin indique qu'il y a de grandes chances que ces protocoles soient concordants, quel que soit le séchage préalable des fèces, ce qui a déjà été démontré chez d'autres espèces (Palme, 2005 ; Wasser *et al.*, 2000). Cependant, les critères fixés par la méthode des graphiques de Bland et Altman n'étaient pas respectés ce qui montre qu'il est probable que ces méthodes ne satisfassent pas les critères cliniques de concordance. Malgré cela, les intervalles de confiance obtenus avec cette méthode sont très larges ce qui montre l'imprécision des mesures et en augmentant le nombre d'individus étudiés il serait certainement possible d'avoir des résultats plus précis et donc plus facilement interprétables.

De plus, dans le cadre de cette étude et étant donné l'absence d'une méthode de référence, l'exactitude des mesures est difficile à évaluer et on ne peut pas déterminer quel protocole donne les valeurs les plus proches de la réalité. Cependant, par la suite, l'étude n'aura pas pour objectif de donner une valeur exacte de référence de la concentration de MFC des binturongs. En effet, ce sont les variations intra-individuelles et inter-individuelles des concentrations de MFC qui seront étudiées. Le coefficient de concordance de Lin étant plutôt bon, il est probable que les méthodes par chauffage et par agitation donnent les mêmes résultats en termes de variations même si les méthodes ne sont pas concordantes en ce qui concerne les valeurs de ces concentrations. Les deux méthodes pourraient donc être utilisées, mais étant donné par ailleurs que le vortex est plus simple d'utilisation, c'est la méthode d'extraction par agitation qui a été mise en place dans la suite de l'étude.

## II. Mesure de l'activité cortico-surrénalienne et du comportement du binturong en captivité

### A. Matériel et méthode

#### 1. Echantillonnage

Pour cette partie de l'étude les 10 mêmes individus, 6 mâles et 4 femelles, que ceux cités ci-dessus ont été recrutés (Tableau 4). Ils étaient maintenus dans des groupes de un à trois individus. Les groupes de deux individus étaient composés d'un couple reproducteur. Celui de trois individus comportait, en plus du couple, leur petit de l'année. Les informations relatives aux individus (âge et date d'arrivée dans l'institution) ont été obtenues via le Studbook et le logiciel SPARKS et sont récapitulées dans le Tableau 8.

Les fèces de 8 de ces 10 individus ont été récoltées entre le 1<sup>er</sup> février et le 30 avril 2016, avec un relevé matinal quotidien de l'intégralité des fèces lors du passage des soigneurs afin d'éviter les variations journalières physiologiques. Les fèces ont pu être attribuées de manière certaine à un individu soit par séparation des individus la nuit soit par l'utilisation de marqueurs insérés dans la nourriture (grains de maïs, pois ou sésame). Les échantillons ne pouvant être attribués de manière certaine à un individu ont été retirés de l'étude. Le nombre final d'échantillon étudié par animal ainsi que la période d'étude sont présentés dans le Tableau 9.

*Tableau 8 : Caractéristiques des individus inclus dans l'étude ainsi que quelques caractéristiques des méthodes d'élevage.*

Nom de l'animal	Sexe	Age (années)	Date d'arrivée dans l'institution	Nombre d'individus dans le groupe	Nom des autres individus du groupe	Stabulation de jour	Stabulation de nuit	Taille de l'enclos extérieur (m <sup>2</sup> )
Boka	Mâle	3	28-01-2015	1	-	Extérieur	Intérieur	220
Zim	Mâle	6,5	17-09-2010	1	-	Extérieur	Intérieur	150
Rio	Mâle	15	10-10-2001	1	-	Libre	Intérieur	190
Kaori	Mâle	2,5	14-03-2015	2	Miwa	Libre	Intérieur	150
Miwa	Femelle	1,5	23-03-2015	2	Kaori	Libre	Intérieur	150
Kroma	Mâle	5,5	04-10-2011	2	Mme Bintu	Libre	Libre	400
Mme Bintu	Femelle	9,5	18-04-2007	2	Kroma	Libre	Libre	400
Maïdy	Femelle	0,8	Née dans l'institution	3	Haya et Djagan	Libre	Libre	100
Haya	Femelle	15,5	31-07-2003	3	Maïdy et Djagan	Libre	Libre	100
Djagan	Femelle	15,5	21-02-2003	3	Haya et Maïdy	Libre	Libre	100

**Tableau 9 : Caractéristiques des échantillons récoltés au cours de l'étude par individus. Les individus sont triés du plus jeune au plus âgé.**

Nom de l'animal	Période d'étude	Nombre d'échantillons	Poids des échantillons (moyenne en g ± écart-type)
Maïdy	13/02 au 29/04	10	168 ± 60
Kaori	29/03 au 28/04	10	79 ± 62
Miwa	29/03 au 28/04	11	60 ± 38
Boka	22/03 au 30/04	40	41 ± 22
Zim	05/04 au 02/05	24	173 ± 66
Rio	02/04 au 29/04	22	28 ± 22
Haya	17/02 au 29/04	12	109 ± 53
Djagan	06/02 au 24/04	10	105 ± 90
<b>TOTAL</b>		<b>139</b>	

## 2. Protocole de la partie comportementale

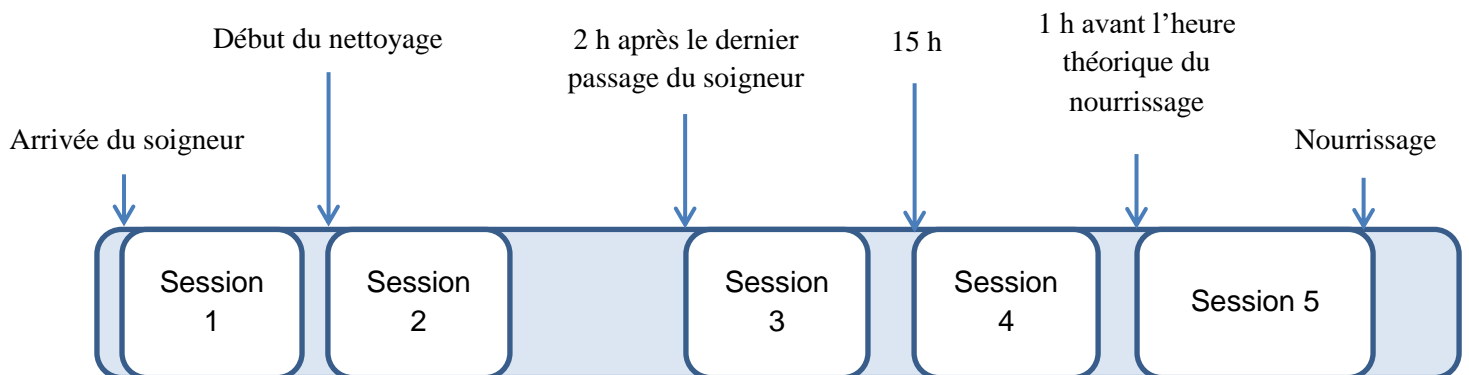
Un éthogramme a tout d'abord été réalisé auprès des individus de La Ménagerie du Jardin des Plantes de Paris (2 mâles et 2 femelles dont une juvénile) par échantillonnage *ad libitum* (Altmann, 1974) pendant 3 semaines (du 27 janvier au 20 février 2016). Ces observations ont été réalisées par observations directes le jour au cours de sessions d'une heure et demie et par l'étude de films issus de pièges photographiques placés dans les loges intérieures la nuit.

Un protocole d'observation a ensuite été mis en place sur les dix individus recrutés. Le but de ces observations était d'évaluer les différences comportementales entre les binturongs. Pour cela, les dix individus ont été observés pendant dix heures chacun. Ces heures d'observation étaient réparties en cinq sessions d'une heure qui ont été répétées chacune deux fois. Les observations se sont étalées sur deux ou trois jours consécutifs par institution entre le 10 avril 2016 et le 3 mai 2016. En raison de la variabilité des horaires des différentes institutions, il a été décidé de définir les sessions en fonction de l'emploi du temps des soigneurs et non en fonction d'heures fixées à l'avance (Figure 12). La première session débutait le matin à l'arrivée du soigneur. Pour certains individus (Boka, Miwa, Kaori et Zim) cette session comportait un premier nourrissage. La seconde session démarrait lors du nettoyage de la loge et de l'enclos. Selon les parcs, il arrivait que le nettoyage et la première visite soient trop peu espacés pour faire deux sessions distinctes. Dans ces cas-là, la seconde session était directement accolée à la première. La troisième session était réalisée au minimum 2h après le départ du soigneur. La quatrième session commençait à 15h. La cinquième session était la seule session à avoir une durée variable : les observations

débutaient une heure avant l'heure de nourrissage du soir indiquée par les soigneurs et s'arrêtaient au moment du nourrissage. Les relevés des comportements ont été réalisés par *scan sampling* (échantillonnage par balayage) toutes les 2 minutes ainsi que par *all occurrences* (toutes occurrences) (Altmann, 1974) pour les comportements ponctuels suivants : comportement agonistique entre deux individus, comportement affiliatif entre deux individus, comportement agonistique envers le soigneur, aller-retour vers la trappe de rentrée, sursaut, fuite et comportement d'alerte. Les comportements relevés au cours des scans ont été classés en huit catégories décrites dans le Tableau 10.

**Figure 12 : Schéma récapitulatif du déroulement des observations et de l'organisation des sessions au cours d'une journée.**

Les sessions 1 à 4 avait une durée d'une heure. La session 5 permettait l'observation des animaux avant l'arrivée des soigneurs et avait une durée variable. Le nourrissage à la session 5 était systématique pour tous les individus observés, certains individus avaient en plus un nourrissage au cours de la session 1.



**Tableau 10 : Description des comportements relevés au cours des observations par scan sampling (échantillonnage par balayage) des binturongs du 10 Avril au 05 Mai 2016 et leur classement en huit catégories.**

<b>Nom/Description</b>	<b>Catégorie</b>
Emet un grognement envers le soigneur	Agression envers l'Homme
S'avance vers le soigneur avec une posture menaçante	Agression envers l'Homme
Ingère de la nourriture	Confort
Se toilette	Confort
Manipule un objet	Interaction avec son environnement
Observe quelque chose	Interaction avec son environnement
Renifle l'air	Interaction avec son environnement
Renifle un objet	Interaction avec son environnement
Se frotte au niveau des glandes de marquage	Interaction avec son environnement
Donne un coup de patte à un individu	Interaction sociale agonistique
S'avance vers un individu avec une posture menaçante	Interaction sociale agonistique
Grogne envers un individu sans déplacement	Interaction sociale agonistique
Reçoit une interaction agonistique	Interaction sociale agonistique
Joue avec un congénère	Interaction sociale affiliative
Sent un congénère	Interaction sociale affiliative
Toilette un autre individu	Interaction sociale affiliative
Bouge (déplacement <1 m)	Locomotion
Se déplace (déplacement >1 m)	Locomotion
Va à sa trappe pour rentrer	Locomotion
Fuit	Peur
Sursaute	Peur
Est en alerte	Peur
Dort	Repos

### 3. *Protocole de mesure des MFC*

#### a) Validation biologique de la mesure des MFC

Dans cette étude, il a été décidé de réaliser une validation biologique de la mesure des MFC (Touma et Palme, 2005). Pour cela un individu mâle de 20 mois nommé Ekmatra a été étudié lors de son transfert de La Ménagerie du Jardin des Plantes (Paris, France) vers le parc zoologique de Zie Zoo (Volkel, Pays-Bas). Les fèces de cet individu ont été collectées pendant 1 mois avant son départ et 1 mois après son arrivée selon les mêmes méthodes que celles décrites précédemment et les échantillons ont été traités et analysés selon le même protocole décrit ci-dessous. L'objectif de ce suivi était de déterminer si une augmentation des MFC était effectivement observée après la survenue d'un événement stressant, c'est-à-dire ici, le transfert d'un parc à un autre.

#### b) Méthode d'extraction et de dosage des MFC

Le protocole utilisé est constitué d'une double extraction en phase liquide sur fèces humide, comme décrit dans la partie précédente.

Pour ce protocole, la série d'échantillons à traiter était mise à décongeler à température ambiante la veille au soir. L'extraction était ensuite réalisée en suivant les étapes ci-dessous :

1. Pesée de l'échantillon puis homogénéisation dans un mortier.
2. Prélèvement de  $0,6 \text{ g} \pm 0,05 \text{ g}$  de fèces à l'aide d'une balance de précision.
3. Ajout de 3 ml d'éthanol à 96 % dans le prélèvement mis dans un tube à essais d'une capacité de 5 ml.
4. Mélange des échantillons à l'aide d'un vortex à 900 g pendant 30 minutes.
4. Centrifugation à 3.500 g pendant 10 min puis prélèvement et conservation du surnageant dans un tube Falcon d'une capacité de 15 ml.
5. Dissolution du culot dans 3 ml d'éthanol à 80% puis passage au vortex à 2.000 pendant 2 minutes.
6. Deuxième centrifugation à 3.500 g pendant 10 min puis prélèvement du surnageant à mélanger avec le premier dans le tube Falcon pour chaque échantillon.

Après l'extraction, les tubes ont été conservés à  $-12^{\circ}\text{C}$  à l'abri de la lumière. Quelques jours avant les analyses, 1mL des échantillons à tester était prélevé et mis dans des tubes eppendorf de 1,5 mL. Ces derniers étaient séchés dans un SpeedVac puis conservés à l'état sec et à l'abri de la lumière jusqu'aux analyses.

Les dosages par ELISA ont été réalisés au laboratoire du Muséum National d'Histoire Naturelle de Brunoy. Au total, 139 échantillons ont été dosés. Les mêmes kits (Salimetrics®) ainsi que le même protocole de dosage par ELISA que ceux de la partie précédente ont été utilisés afin de doser la quantité de MFC des échantillons. Les résultats ont été exprimés en ng de MFC/g de matière fécale humide.

Les dosages ont été réalisés en duplicata afin de pouvoir déterminer un coefficient de variabilité intra-essai qui était en moyenne de 3,1 % ( $n = 283$ ). Au final 96,5 % ( $n = 273$ ) des échantillons présentaient un coefficient de variabilité inférieur à 10 %.

Afin de déterminer l'importance de la variation d'humidité dans les fèces de binturong, 6 échantillons par individus ont été pesés puis séchés à l'étuve à 70°C pendant 3 jours et à nouveau pesés une fois secs.

#### 4. *Analyses statistiques*

Trois paramètres ont été déterminés pour caractériser les valeurs de MFC de chaque individu. Tout d'abord la moyenne des valeurs mesurées a été calculée. Ensuite, la valeur basale en MFC a été calculée en utilisant la méthode itérative décrite par Brown et al (1999) : les valeurs supérieures à la moyenne additionnée de 2 fois l'erreur standard ont été retirées de la série de données, ces valeurs étant considérées comme des pics de MFC. Une nouvelle moyenne a été calculée et les valeurs supérieures à la nouvelle moyenne additionnée de 2 fois la nouvelle erreur standard ont été retirées une nouvelle fois. Cette opération a été réalisée jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de valeur supérieure à la moyenne additionnée de 2 fois l'erreur standard. La dernière moyenne calculée est considérée comme étant la valeur basale de MFC de l'individu. La moyenne des valeurs retirées correspond à la moyenne des pics de MFC de l'individu.

Par ailleurs, le faible nombre d'individu dans l'échantillon, l'hétérogénéité des résultats ainsi que le faible nombre de répétition des sessions d'observations comportementales ne permettaient pas de faire des tests statistiques probants. Les résultats ont donc uniquement été interprétés dans un objectif de description de l'échantillon et ont pour but de servir à orienter des études ultérieures. Ils sont présentés sous la forme : moyenne  $\pm$  écart-type (SD).

### **B. Résultats**

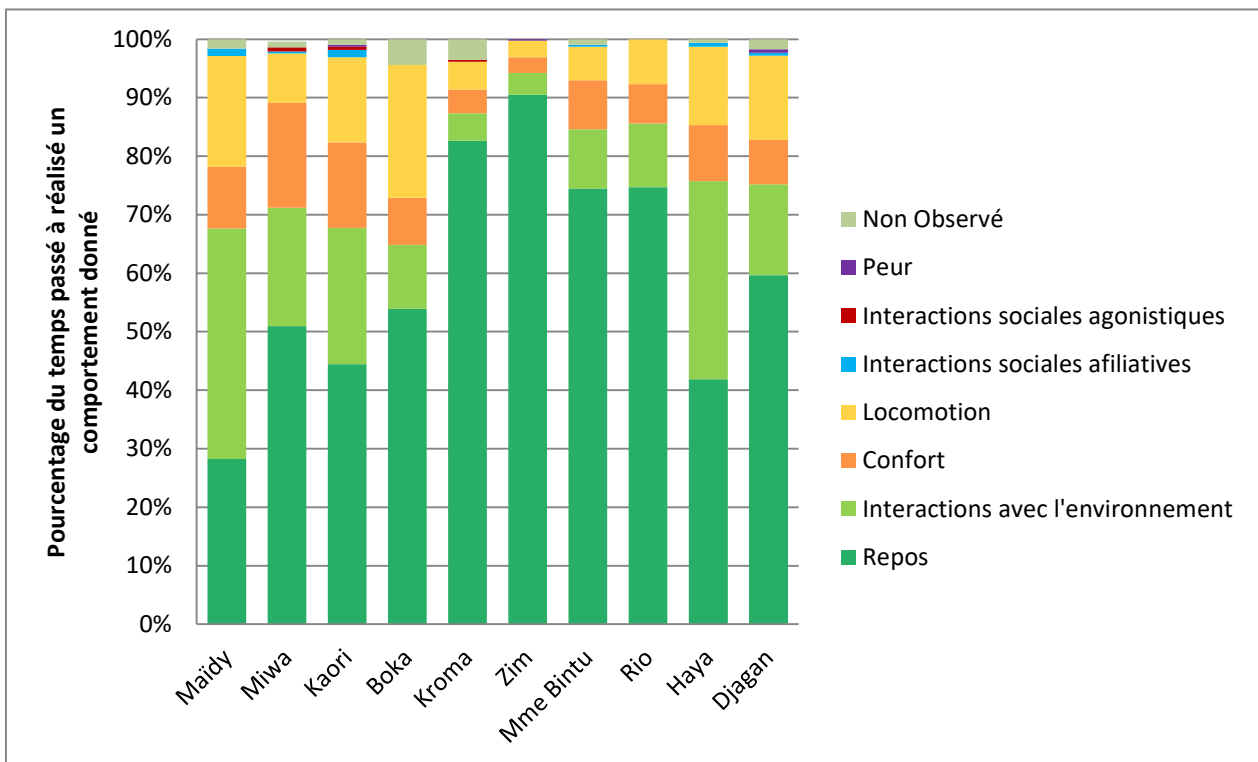
#### 1. *Ethologie du binturong*

D'après les observations obtenues lors de la réalisation de l'éthogramme, les comportements négatifs, c'est-à-dire les comportements dont la fréquence d'apparition révèle un degré de stress patent de l'animal, ont été définis dans cette étude comme étant les comportements d'alerte, de fuite, d'allers-retours vers la trappe, de sursaut, d'agression envers les soigneurs et les comportements sociaux agonistiques.



D'après les observations par *scan sampling*, sur la totalité des sessions, les binturongs partageaient leur temps majoritairement entre deux activités (Figure 13) : le repos et les interactions avec l'environnement (respectivement  $60,1 \pm 27,5$  % et  $17,3 \pm 12,9$  % du temps passé à observer les individus). Parmi les 10 individus observés, le temps passé à la locomotion était très variable : il était compris entre 2,8 % et 22,7 % avec une moyenne à  $11,3 \pm 10,6$  % du temps passé à observer les individus.

**Figure 13 : Représentation graphique du budget temps moyen de chaque individu observé obtenu avec des scans sampling toutes les deux minutes sur un total de 10h d'observations par individus. Les individus sont classés dans l'ordre croissant en fonction de leur âge.**

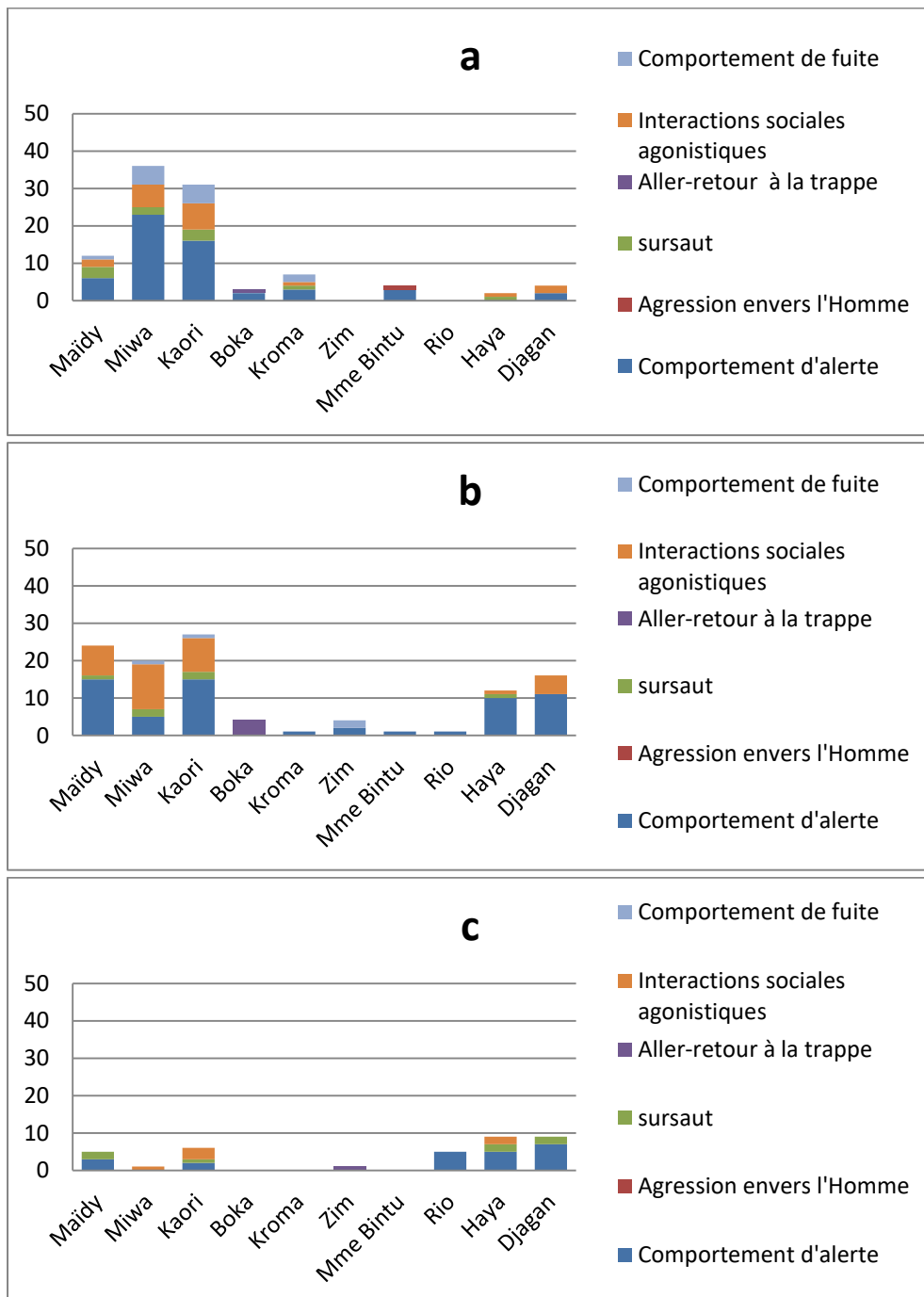


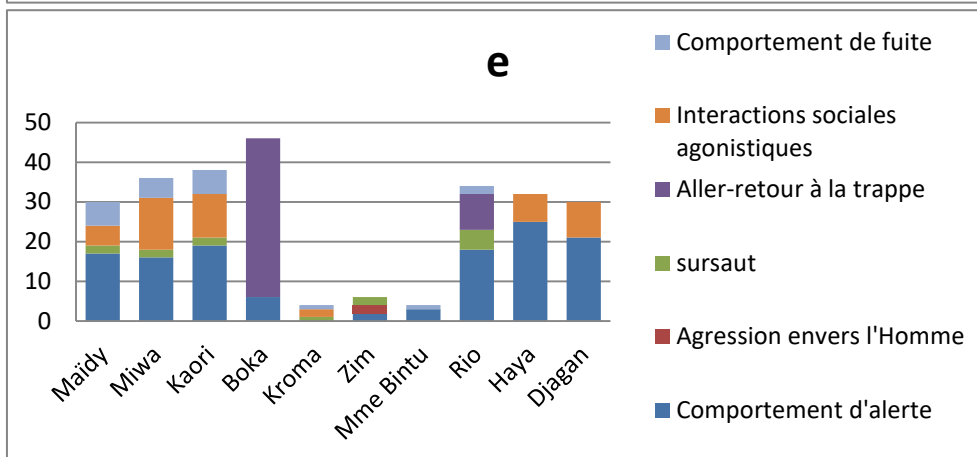
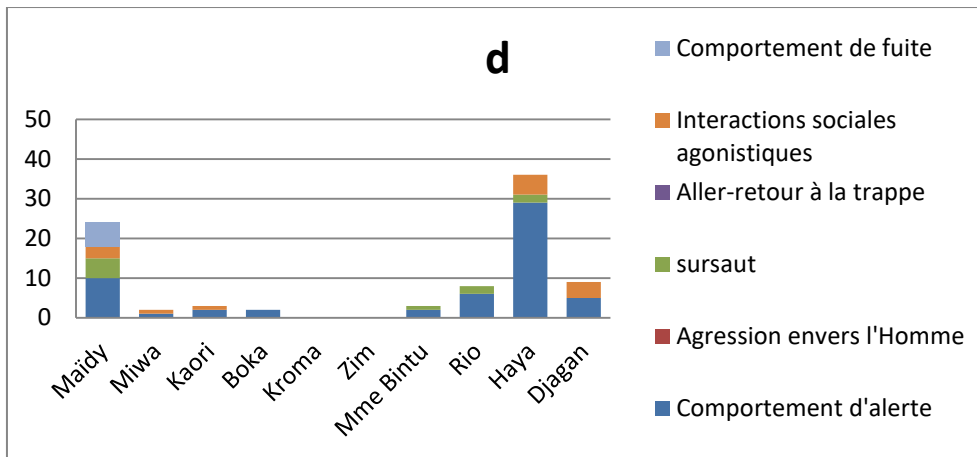
Ces activités étaient sujettes à des variations entre les sessions. La session 5, avant le nourrissage, était la session où l'on observait le plus de comportements d'interactions avec l'environnement, le plus de locomotion et le moins de repos pour chaque individus (respectivement  $24,6 \pm 15,5$  %,  $18,0 \pm 15,1$  % et  $43,6 \pm 27,1$  %). A l'inverse, la session 3, au milieu de l'après-midi, comportait le plus de comportements de repos ( $80,0 \pm 12,0$  %). Cette observation est confortée par l'expression des comportements négatifs : il existait une augmentation importante de leur nombre chez Boka, Rio, Haya et Djagan entre la session 5, c'est-à-dire avant le nourrissage, et le reste des sessions (Figure 14). Ces comportements étaient plus de deux fois plus nombreux au cours de la session 5 chez Djagan, environ trois fois plus nombreux chez Haya et sont près de dix fois plus nombreux chez Boka. Cette différence était beaucoup moins importantes chez les autres individus, notamment chez Kroma, Zim et Mme Bintu qui réalisaient de manière générale peu de comportements négatifs (respectivement 15, 13 et 15 comportements observés en *all occurrences*). Kaori et Miwa présentaient une augmentation des comportements négatifs à la fois à la première et la dernière session, qui sont les deux sessions de nourrissage pour ces individus. L'augmentation de ces comportements négatifs au cours des sessions liés au nourrissage rejoint les observations sur l'activité des individus et étaye l'hypothèse selon laquelle la majorité des individus observés présentaient une frustration liée à la captivité.

Par ailleurs, le type de comportements négatifs exprimé était principalement représenté par les comportements d'alerte, à l'exception de Boka qui manifestait une majorité de comportements d'aller-retours à la trappe (Figure 14). Pour cet individu, ces comportements apparaissaient presque exclusivement au cours de la session 5 (Figure 14), c'est-à-dire avant la rentrée et le nourrissage. Ces comportements ne correspondaient pas exactement à de la stéréotypie car l'individu restait très réactif aux stimuli de l'environnement mais pourraient plutôt être classés dans les comportements d'anticipation. Parmi tous les individus observés, c'est ce comportement qui a semblé le plus révélateur de la présence d'une frustration chez les individus observés. Par ailleurs, Boka était le seul individu bloqué dans son enclos extérieur au cours de la journée, ce qui pourrait expliquer que la frustration perçue soit plus importante que chez les autres individus de l'échantillon.

**Figure 14 : Nombre de comportement négatifs observés en all occurencies en fonction des sessions.**

Le graphique a correspond à la session 1, la session débutant à l'arrivée des soigneurs. Le graphique b correspond à la session 2, démarrart lors du nettoyage de la loge et de l'enclos. Le graphique c correspond à la session 3, réalisée au minimum 2h après le départ du soigneur. Le graphique d correspond à la session 4, commençant à 15h. Le graphique e correspond à la session 5, débutant 1h avant le nourrissage. Les comportements négatifs regroupent les comportements d'alerte, de fuite, d'allers-retours vers la trappe, de sursaut, d'agression envers les soigneurs et les comportements sociaux agonistiques.





Aucune réaction de peur ou d'agression n'a été observée à l'arrivée des soigneurs dans le bâtiment. Quelques rares agressions ont été notées ainsi que quelques comportements de fuite vers l'enclos extérieur à l'entrée du soigneur dans la loge. Ces réactions concernaient seulement quatre individus : Zim et Mme Bintu pour les agressions, Kroma et Kaori pour les fuites. Au cours des observations, aucune interaction négative à l'initiative des soigneurs n'a été observée.

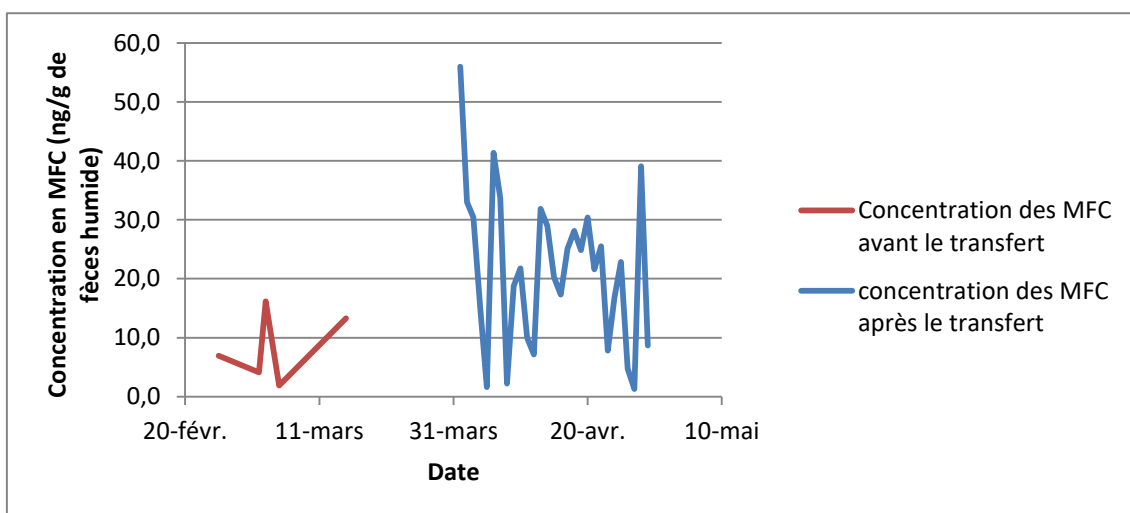
Par ailleurs, le groupe étudié présentait de fortes disparités, qui peuvent être liées à l'âge. Les plus jeunes individus, Maïdy (10 mois), Miwa (1.5 ans), Kaori (2.5 ans) et Boka (3 ans) montraient un plus faible temps de repos que les individus plus âgés ( $44,4 \pm 9,9$  % du temps d'une session contre  $70,6 \pm 15,9$  % chez les individus âgés) ainsi qu'un plus grand nombre de comportements observés en *all occurencies* ( $127 \pm 22.73$  comportements observés contre  $66 \pm 55.60$  comportements observés chez les individus âgés). Paradoxalement, les deux individus les plus âgés, Djagan et Haya (15,5 ans tous les deux), présentaient également un faible temps de repos (respectivement 41,9% et 59,7% du temps d'une session) ainsi qu'un grand nombre de comportements observés en *all occurencies* (respectivement 152 et 120 comportements).

## 2. Validation de la mesure des MFC chez le binturong

Sur la Figure 15, on observe que, chez Ekmatra, le mâle étudié au cours de son transfert, les valeurs de MFC augmentent brutalement après l'arrivée dans la nouvelle institution. En effet, la moyenne après le transfert,  $21,6 \pm 13,1$  ng/g était plus élevée que celle avant le transfert,  $8,5 \pm 6,1$  ng/g. De plus, un pic à 60 ng/g est observable le jour de l'arrivée dans la nouvelle institution, le 1<sup>er</sup> avril 2016.

Par ailleurs, la différence d'humidité entre les fèces est notable :  $81 \pm 4$  % avant contre  $74 \pm 4$  % après le transfert.

**Figure 15 : Représentation graphique de la variation de MFC avant et après le transfert d'Ekmatra.**



### 3. Variations des taux de MFC chez le binturong

La moyenne de MFC moyenne dans le groupe étudié était de  $7,62 \pm 3,13$  ng/g, la moyenne de la valeur basale était de  $4,03 \pm 2,77$  ng/g et la moyenne de la valeur des pics était de  $19,28 \pm 8,79$  ng/g (Tableau 11).

Dans cet échantillon, il n'est pas apparu de différence entre mâles et femelles ni entre les individus jeunes et âgés.

Miwa, Haya et Djagan présentaient un taux de MFC basal proche de la moyenne et des pics de forte intensité par rapport à leur taux basal (Tableau 11). C'est pourquoi ces profils se rapprochent le plus des profils considérés comme normaux : une valeur basale assez basse avec une réactivité en cas de survenue d'un facteur de stress.

Par ailleurs, deux individus, Boka et Rio, avaient une valeur basale particulièrement basse, respectivement  $1,22 \pm 0,71$  ng/g et  $1,28 \pm 0,71$  ng/g, par rapport aux autres individus du groupe et à la moyenne. Ils présentaient également une valeur basse de pics de MFC, respectivement  $13,50$  ng/g  $\pm$   $15,13$  et  $9,36 \pm 3,37$  ng/g.

Un autre individu se détache du groupe : Zim présente un taux basal de MFC élevé, avec une valeur de  $9,48 \pm 3,99$  ng/g, soit un peu plus de deux fois la moyenne des MFC basal du groupe.

En ce qui concerne l'humidité des fèces, la moyenne était de  $81 \pm 4$  %. La variation individuelle était relativement faible avec des erreurs standard comprises entre 2 et 4%. Il en va de même pour la variation inter-individuelle au sein de l'échantillon puisque que l'erreur standard de l'échantillon global était de 4%. L'humidité des fèces semble donc avoir un impact limité dans la mesure des MFC de ce groupe.

**Tableau 11: Résultats des dosages de MFC chez les neuf binturongs inclus dans l'étude. Les individus sont présentés dans l'ordre croissant selon leur âge.**

Nom des individus	Humidité moyenne des échantillons	Concentration en MFC moyen (ng/g)	Concentration en MFC basale (ng/g)	Concentration moyenne des pics de MFC (ng/g)
Maïdy	83% ( $\pm$ 4)	4,67 ( $\pm$ 3,80)	3,42 ( $\pm$ 2,46)	11,34 ( $\pm$ 2,29)
Kaori	82% ( $\pm$ 5)	4,94 ( $\pm$ 4,17)	3,19 ( $\pm$ 1,59)	11,94 ( $\pm$ 3,99)
Miwa	83% ( $\pm$ 4)	10,79 ( $\pm$ 3,65)	6,21 ( $\pm$ 3,64)	31,41 ( $\pm$ 15,44)
Boka	83% ( $\pm$ 3)	6,13 ( $\pm$ 11,20)	1,22 ( $\pm$ 0,71)	13,50 ( $\pm$ 15,13)
Zim	79% ( $\pm$ 4)	10,48 ( $\pm$ 5,13)	9,48 ( $\pm$ 3,99)	21,43 ( $\pm$ 3,02)
Rio	82% ( $\pm$ 5)	3,48 ( $\pm$ 4,08)	1,28 ( $\pm$ 0,71)	9,36 ( $\pm$ 3,37)
Haya	81% ( $\pm$ 6)	11,19 ( $\pm$ 14,41)	2,60 ( $\pm$ 2,40)	28,38 ( $\pm$ 12,56)
Djagan	79% ( $\pm$ 2)	9,24 ( $\pm$ 10,09)	4,84 ( $\pm$ 4,25)	26,84 ( $\pm$ 3,89)
<b>Moyenne</b>	<b>81% (+/ 4)</b>	<b>7,62 (<math>\pm</math> 3,13)</b>	<b>4,03 (<math>\pm</math> 2,77)</b>	<b>19,28 (<math>\pm</math> 8,79)</b>

## C. Discussion

### 1. Partie comportementale

Il est assez difficile de déduire des caractéristiques comportementales générales de groupe en raison de la forte variation des comportements observés entre les individus. L'hétérogénéité des résultats peut être expliquée d'une part par le faible nombre d'individus et leurs caractéristiques intrinsèques très variables et d'autre part par la diversité des conditions de captivité tant d'un point de vue de la conception des enclos que d'un point de vue des techniques d'élevage.

Par rapport au budget-temps, dans l'échantillon, les individus passaient la majorité de leur temps à se reposer et à l'inverse passaient peu de temps à réaliser des comportements de locomotion. Cependant, les jeunes animaux étaient plus actifs que les individus plus âgés. La seule exception concerne Haya et Djagan, les deux individus les plus âgés de l'échantillon. Or ce couple était encore en contact avec leur dernière née, Maïdy, alors âgée de 10 mois au moment de l'étude. Il est très probable que la présence de cette dernière ait engendré des modifications de leur comportement.

Plusieurs autres facteurs ont pu entraîner des biais au cours de ces observations, en particulier l'*oestrus* des femelles qui peut avoir une influence sur le comportement et sur les valeurs de MFC. Ici, ce facteur a pu engendrer un biais dans le cas de Kaori et Miwa car des accouplements ont été observés dans les jours précédant la mise en place du protocole. Les variations comportementales concerneraient essentiellement les comportements sociaux en augmentant le nombre de comportements affiliatifs et diminuant le nombre de comportements agonistiques à l'instar de l'étude menée par Wemmer et Murtaugh (1981). Ces derniers ont observés qu'en *anoestrus*, les interactions sociales entre mâles et femelles étaient exclusivement neutres ou agonistiques et qu'elles devenaient positives au moment de l'*oestrus*. L'impact de l'*oestrus* sur les valeurs de MFC sont difficiles à estimer car elles sont liées aux variations des hormones sexuelles de la femelle (Brown *et al.*, 2001 ; Rodas-Martínez *et al.*, 2013 ; Young *et al.*, 2001), or celles-ci n'ont jamais été étudiées chez le binturong.

En ce qui concerne l'influence des soigneurs sur les comportements négatifs, les sessions avec intervention du soigneur mais sans nourrissage comportent des réactions sur seulement quatre individus. Cependant, à l'exception de Kaori, ces individus appartenaient à des institutions dans lesquelles les soigneurs passaient moins de temps avec les binturongs (autour de 20 minutes contre 40 à 60 minutes par jour dans les autres institutions), ce qui pourrait être une première hypothèse concernant leur réaction de stress à l'arrivée du soigneur. Une seconde hypothèse peut être émise pour Kaori. En effet, Miwa et Kaori étaient présent dans la même institution et seul Kaori présentait une réponse de stress à la présence des soigneurs. Cette réponse pourrait donc être plutôt liée à l'historique de l'individu qu'au comportement des soigneurs. Or Kaori est arrivé à l'âge d'un an et demi dans l'institution

étudiée. Cela pose donc la question de l'impact de l'attitude des soigneurs durant la première année de vie des individus, qui pourrait conditionner l'appréhension du soigneur comme un élément stressant ou non par la suite. Les soigneurs semblent donc constituer un facteur de stress limité chez le binturong et qui peut être maîtrisé.

Enfin, les sessions engendrant le plus d'activité et de comportements négatifs étaient les sessions comportant un nourrissage (les sessions 1 et 5 pour Kaori, Miwa, Zim et Boka, la session 5 pour Maïdy, Djagan, Haya, Rio, Mme Bintu et Kroma) ce qui témoigne d'une frustration des individus observés, malgré les enrichissements présents dans la majorité des zoos. Par ailleurs, deux individus, Boka et Rio, présentaient une augmentation des comportements négatifs importante au cours de cette session en particulier des comportements d'aller-retours à la trappe pour Boka et d'alerte pour Rio. Cette observation était également retrouvée chez Haya et Djagan mais dans une moindre mesure et est difficile à interpréter en raison de la présence du jeune. Chez Rio et Boka cependant, ces comportements seraient assimilables à des comportement d'anticipation avec une hausse importante de l'activité locomotrice et de la vigilance juste avant un événement très positif. Or d'après Watters (2014) l'intensité des comportements d'anticipation reflète la dégradation du bien-être d'un animal. En effet, d'après cette théorie, un individu dont la journée est constituée de nombreux événements positifs ne portera pas d'importance particulière à la survenue d'un événement très positif comme le nourrissage. A l'inverse, un animal en état de mal-être va fortement anticiper la survenue de cet événement en exprimant des comportements inhabituels (Watters, 2014). Ainsi, Boka et Rio semblent soumis à un stress provoquant chez eux une agmentation importante de l'intensité des comportements d'anticipation.

## 2. *Validation du dosage des MFC*

Une augmentation des MFC a été observée moins de 24h après le transfert d'Ekmatra. Ceci constitue une première validation biologique de l'utilisation des MFC permettant de penser qu'ils constituent un bon marqueur du stress chez les binturongs.

Cependant, les résultats obtenus ici sont discutables sur trois points. Tout d'abord, du fait de la difficulté d'obtention des échantillons dans l'institution de départ, seuls 5 échantillons ont été exploitables avant le départ, or 29 échantillons ont été récoltés dans l'institution d'arrivée. Il y a donc une grande différence entre les deux séries de données qui pourrait entraîner un biais dans les résultats. De plus, l'étude se faisant sur matières humides, la différence du taux d'humidité entre les deux séries de mesures peut avoir influencé et surestimé les valeurs obtenues après le transfert. Cela étant, la différence d'humidité reste modérée et ne semble pas expliquer à elle seule l'augmentation importante des MFC après le transfert de l'individu. Enfin cette validation n'a été effectuée que sur un seul individu, il serait nécessaire de faire à nouveau ces mesures sur d'autres individus afin de confirmer les premiers résultats obtenus.



Un second type de validation, la validation physiologique, pourrait par ailleurs permettre de confirmer l'intérêt de l'utilisation des MFC chez le binturong. Cette méthode passe par l'injection soit de dexaméthasone soit d'ACTH, des hormones qui ont toutes deux une action sur la production de cortisol. Ainsi leur injection doit provoquer, respectivement, une diminution ou une augmentation des MFC. Si cette modification est observée au cours de l'étude, il sera alors confirmé que les MFC mesurés reflètent bien les variations hormonales sanguines. De plus, ce type de validation donne une information complémentaire sur le temps de latence entre la variation hormonale sanguine et la variation consécutive observée dans les MFC (Touma et Palme, 2005).

### 3. *Dosage des MFC*

Plusieurs profils se dégagent des valeurs obtenues.

Les profils de Haya, Miwa et Djagan montraient une valeur basale dans la moyenne et des pics élevés. On peut supposer, comme leur valeur basale est dans la moyenne, qu'ils ont une synthèse de cortisol dans les normes en l'absence de stress aigus. Par ailleurs, les pics seraient liés à l'arrivée d'un événement stressant, qui induit, dans leur cas, une synthèse de cortisol suffisamment importante pour engendrer une réponse de stress physiologique. Cette description correspondrait alors au profil d'individus peu stressés et présentant une réponse physiologique aux stress aigus, nécessaire à l'adaptation de l'individu à son milieu. L'absence de normes pour les valeurs de MFC constitue cependant une réelle limite à ce raisonnement.

Par ailleurs, Zim, qui présentait un taux de cortisol basal deux fois plus élevé que la moyenne ainsi qu'un taux de pics de MFC plutôt élevé, pourrait être considéré dans l'état de stress chronique décrit par Creel (2001) avec par conséquent un taux de cortisol élevé, délétère pour l'organisme.

Les valeurs particulièrement basses de Boka et Rio, tant en ce qui concerne les valeurs basales de MFC que les valeurs des pics posent plusieurs questions. En effet, ces profils peuvent être interprétés de plusieurs manières différentes. D'une part, il est possible que ces deux individus soient particulièrement peu stressés. D'autre part, on peut se demander s'il ne s'agit pas d'animaux dans un état de stress chronique tel que la production de cortisol est complètement inhibée. Enfin, la dernière possibilité concerne l'échantillonnage. En effet, la taille particulièrement petite des échantillons de ces deux individus (respectivement  $41 \pm 22$  g et  $28 \pm 22$  g, Tableau 9) laisse penser que la totalité des fèces n'a pas été collectée. Or il a été démontré que les MFC n'étaient pas répartis de façon homogène dans les fèces et qu'il était nécessaire d'homogénéiser les échantillons avant l'extraction (Palme *et al.*, 2013). Il est donc possible qu'un biais lié à l'échantillonnage ait impacté les mesures pour ces deux individus et explique les valeurs particulièrement basses observées.

#### 4. *Liens entre comportement et MFC*

Il est complexe de mettre en évidence des corrélations entre l'apparition de comportements particuliers et les valeurs de MFC dans ce cas précis en raison du faible nombre d'individus dans l'échantillon et de la grande variabilité des individus observés.

Le principal recoupement qui peut être fait concerne Boka et Rio. Ces deux individus présentaient l'augmentation des comportements négatifs la plus importante au cours de la session du nourrissage sont ceux qui présentaient également les plus faibles taux de MFC basal. Ainsi la présence de ces comportements, témoignant d'une grande frustration, laisse supposer que leur taux faible de cortisol serait plutôt dû à un état de stress chronique tel, que la production de cortisol serait complètement inhibée.

## CONCLUSION

Cette étude avait deux objectifs principaux : déterminer un protocole de dosage de MFC chez le binturong, et mesurer le niveau de stress des individus captifs *via* une étude comportementale associée à une mesure des MFC chez des binturongs captifs dans des parcs zoologiques français

Il a été démontré dans un premier temps que les protocoles d'extraction des MFC sur fèces humides étaient plus efficaces que ceux sur fèces secs chez le binturong. Par ailleurs, les résultats obtenus par utilisation d'un vortex ou de chauffage étaient corrélés, l'une ou l'autre des méthodes peut donc être utilisée indifféremment.

L'évaluation du comportement a confirmé que les binturongs passaient la majeure partie de leur temps à dormir, bien que les individus plus jeunes soient plus enclins à explorer leur environnement et à se déplacer. Par ailleurs, dans l'échantillon, deux individus ont présenté des comportements négatifs d'anticipation marqués suggérant une frustration voire du mal-être.

La mesure des MFC chez un individu ayant subi un transfert au cours de l'étude a permis de réaliser une validation biologique de la méthode et indique que les MFC apparaissent comme un bon indicateur du stress perçu par l'individu.

La mesure des MFC sur les autres individus inclus dans l'étude n'a pas permis de tirer de conclusion majeure. Il est cependant intéressant de noter qu'une augmentation de la concentration de MFC basale et des pics pourrait être associée à une forte diminution des comportements négatifs et une apparition de comportement agressifs envers l'homme. A l'inverse, les comportements d'anticipation ont été retrouvés chez des individus présentant de faibles concentrations de MFC.

Ces observations nécessitent néanmoins d'être prises avec précautions en raison du faible nombre d'individus présent dans l'étude mais peuvent servir de point de départ pour des études ultérieures. Par ailleurs, étant donné aujourd'hui le manque d'information qui existe pour cette espèce, une étude en milieu naturel apporterait d'avantages de connaissances utiles à la conservation à la fois *in-situ* mais aussi *ex-situ*.

## BIBLIOGRAPHIE

- Abra L (2010). Notes on the development and behaviour of two Binturong *Arctictis binturong* litters born at Taronga Zoo, Sydney. *Int. Zoo Yearb.*, **44**, 238–245.
- Ahmad, Kulia, Manusia, Tugas (2004). Basic Facts on binturongs *In*: [en ligne]. [<http://pkukmweb.ukm.my/ahmad/kuliah/manusia/tugas/2004/binturong.pdf>] (Consultation le 27/11/15).
- Altmann J (1974). Observational Study of Behavior: Sampling Methods. *Behaviour*, **49**, 227–266.
- Aquilina G, Beyer R (1979). Exhibition and breeding of binturongs. *Int. Zoo Yearb.*, **19**, 185–188.
- Arivazhagan C, Thiyagesan K (2001). Studies on the Binturongs (*Arctictis binturong*) in captivity at the Arignar Anna Zoological Park, Vandalur. *Zoo's Print J.*, **16**, 395–402.
- Association of Zoo and Aquarium, Small Carnivore Taxon Advisory Group (2007). *Viverrids (Viverridae) Care Manual*.
- Azlan M, Lading E (2006). Camera trapping and conservation in Lambir Hills National Park, Sarawak.. *Raffles Bull. Zool.*, **54**, 469–475.
- Barber JCE (2009). Programmatic approaches to assessing and improving animal welfare in zoos and aquariums. *Zoo Biol.*, **28**, 519–530.
- Brodie JF, Giordano A (2011). Small carnivores of the Maliau Basin, Sabah, Borneo, including a new locality for Hose's Civet *Diplogale hosei*. *Small Carniv. Conserv.*, **44**, 1–6.
- Brown JL, Bellem AC, Fouraker M, Wildt DE, Roth TL (2001). Comparative analysis of gonadal and adrenal activity in the black and white rhinoceros in North America by noninvasive endocrine monitoring. *Zoo Biol.*, **20**, 463–486.
- Brown JL, Schmitt DL, Bellem A, Graham LH, Lehnhardt J (1999). Hormone Secretion in the Asian Elephant (*Elephas maximus*): Characterization of Ovulatory and Anovulatory Luteinizing Hormone Surges. *Biol. Reprod.*, **61**, 1294–1299.
- Bubenik GA, Schams D, White RJ, Rowell J, Blake J, Bartos L (1997). Seasonal Levels of Reproductive Hormones and Their Relationship to the Antler Cycle of Male and Female Reindeer (*Rangifer tarandus*). *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.*, **116**, 269–277.
- Buliř L (1972). Breeding binturongs (*Arctictis binturong*) at Liberec Zoo. *Int. Zoo Yearb.*, **12**, 117–118.
- Bush M, James E, Montali RJ, Stitik FP (1976). Pulmonary Alveolar Microlithiasis in a Binturong (*Arctictis binturong*): A Case Report. *Vet. Radiol.*, **17**, 157–160.
- Cannon TH, Heistermann M, Hankison SJ, Hockings KJ, McLennan MR (2016). Tailored Enrichment Strategies and Stereotypic Behavior in Captive Individually Housed Macaques (*Macaca spp.*). *J. Appl. Anim. Welf. Sci.*, **19**, 171–182.
- Capiro JM, Stoops MA, Freeman EW, Clawson D, Schook MW (2014). Effects of management strategies on glucocorticoids and behavior in Indian rhinoceros (*Rhinoceros unicornis*): Translocation and operant conditioning. *Zoo Biol.*, **33**, 131–143.
- Carlstead K, Brown JL (2005). Relationships between patterns of Fecal corticoid excretion and behavior, reproduction, and environmental factors in captive black (*Diceros bicornis*) and white (*Ceratotherium simum*) rhinoceros. *Zoo Biol.*, **24**, 215–232.
- Chandra S, Ginn P, Terrell S, Ferguson B, Adjiri-Awere A, Dennis, *et al.* (2000). Canine Distemper Virus Infection in Binturongs (*Arctictis Binturong*). *J. Vet. Diagn. Invest.*, **12**, 88–91.

- Charmandari E, Tsigos C, Chrousos G (2005). Endocrinology of the Stress Response. *Annu. Rev. Physiol.*, **67**, 259–284.
- Cheyne SM, Husson SJ, Chadwick RJ, Macdonald DW (2010). Diversity and activity of small carnivores of the Sabangau Peat-swamp Forest, Indonesian Borneo. *ResearchGate*, **43**, 1–7.
- Chosy J, Wilson M, Santymire R (2014). Behavioral and physiological responses in felids to exhibit construction. *Zoo Biol.*, **33**, 267–274.
- Chutipong W, Steinmetz R, Savini T, Gale GA (2015). Sleeping site selection in two Asian viverrids: effects of predation risk, resource access and habitat characteristics. *RAFFLES Bull. Zool.*, **63**, 516–528.
- Chutipong W, Tantipisanuh N, Ngoprasert D, Lynam AJ, Steinmetz R, Jenks K, *et al.* (2014). Current distribution and conservation status of small carnivores in Thailand: a baseline review.. *Small Carniv. Conserv.*, **51**, 96–136.
- Clara E, Tommasi L, Rogers LJ (2007). Social mobbing calls in common marmosets (*Callithrix jacchus*): effects of experience and associated cortisol levels. *Anim. Cogn.*, **11**, 349–358.
- Clark FE, Davies SL, Madigan AW, Warner AJ, Kuczaj SA (2013). Cognitive enrichment for bottlenose Dolphins (*Tursiops truncatus*): Evaluation of a novel underwater maze device. *Zoo Biol.*, **32**, 608–619.
- Clarke AS, Boinski S (1995). Temperament in nonhuman primates. *Am. J. Primatol.*, **37**, 103–125.
- Clements GR (2013). The environmental and social impacts of roads in southeast Asia (phd). James Cook University.
- Coelho CM, Schetini de Azevedo C, Young RJ (2012). Behavioral responses of maned wolves (*Chrysocyon brachyurus*, Canidae) to different categories of environmental enrichment stimuli and their implications for successful reintroduction. *Zoo Biol.*, **31**, 453–469.
- Collins CK, Marples NM (2015). Zoo Playgrounds: A Source of Enrichment or Stress for a Group of Nearby Cockatoos? A Case Study. *J. Appl. Anim. Welf. Sci.*, **18**, 375–387.
- Colon CP, Campos-Arceiz A (2013). The impact of gut passage by binturongs (*Arctictis binturong*) on seed germination. *Raffles Bull. Zool.*, **61**, 417–421.
- Corlett R (1998). Frugivory and seed dispersal by vertebrates in the Oriental (Indomalayan) Region. *Biol. Rev.*, **73**, 413–448.
- Corlett RT (2007). The Impact of Hunting on the Mammalian Fauna of Tropical Asian Forests. *Biotropica*, **39**, 292–303.
- Cosson L, Grassman LL, Zubaid A, Vellayan S, Tillier A, Veron G (2007). Genetic diversity of captive binturongs (*Arctictis binturong*, *Viverridae*, *Carnivora*): implications for conservation. *J. Zool.*, **271**, 386–395.
- Coudrat CNZ, Nanthavong C, Sayavong S, Johnson A, Johnston JB, Robichaud WG (2014). Conservation importance of Nakai-Nam Theun National Protected Area, Laos, for small carnivores based on camera trap data.. *Bull. Zool.*, **62**, 31–49.
- Creel S (2001). Social dominance and stress hormones. *Trends Ecol. Evol.*, **16**, 491–497.
- Cummings D, Brown JL, Rodden M, Songsasen N (2007). Behavioral and Physiologic Responses to Environmental Enrichment in the Maned Wolf (*Chrysocyon brachyurus*). *Zoo Biol.*, **26**, 331–343.
- D’Cruze N, Toole J, Mansell K, Schmidt-Burbach J (2014). What is the true cost of the world’s most expensive coffee?. *Oryx*, **48**, 170–171.
- de Azevedo CS, Lima MFF, Cipreste CF, Young RJ, Rodrigues M (2013). Using environmental enrichment to reduce the expression of abnormal behaviours in Greater rhea *Rhea americana* at Belo Horizonte Zoo. *Int. Zoo Yearb.*, **47**, 163–170.

- Dembiec DP, Snider RJ, Zanella AJ (2004). The effects of transport stress on tiger physiology and behavior. *Zoo Biol.*, **23**, 335–346.
- Duckworth JW (1997). Small carnivores in Laos: a status review with notes on ecology, behaviour and conservation.. *Small Carniv. Conserv.*, **16**, 1–21.
- Duckworth JW, Salter RE, Khounboline K (1999). Wildlife in Lao PDR: 1999 status report. IUCN/Wildlife Conservation Society/Centre for Protected Areas and Watershed Management, Vientiane, Lao PDR, Lao PDR.
- Farm Animal Welfare Council webmaster@defra.gsi.gov.uk (n.d.). FAWC - Farm Animal Welfare Council In: [en ligne]. [http://webarchive.nationalarchives.gov.uk/content/20121007104210/http://www.fawc.org.uk/freedoms.htm] (Consultation le 20/8/16).
- Flower WH (1869). On the Value of the Characters of the Base of the Cranium in the Classification of the Order Carnivora, and on the Systematic Position of *Bassaris* and other disputed Forms. *Proc. Zool. Soc. Lond.*, **37**, 4–37.
- Fraser D (2009). Assessing animal welfare: different philosophies, different scientific approaches. *Zoo Biol.*, **28**, 507–518.
- Gahkod AH (1878). Note on the Anatomy of the Binturong (*Arctictis binturong*).. *Proc. Zool. Soc. Lond.*, **46**, 142–142.
- Gaubert P (2003). Systématique et phylogénie du genre *Genetta* et des énigmatiques “genet-like taxa” *Prionodon*, *Poiana* et *Osbornictis* (Carnivora, Viverridae): caractérisation de la sous-famille des viverrinae et étude des patrons de diversification au sein du continent africain. Paris, Museum national d’histoire naturelle. 334p
- Gensch W (1963). Successful rearing of the binturong *Arctictis binturong*. *Int. Zoo Yearb.*, **4**, 79–80.
- Graham LH, Brown JL (1996). Cortisol metabolism in the domestic cat and implications for non-invasive monitoring of adrenocortical function in endangered felids. *Zoo Biol.*, **15**, 71–82.
- Grand AP, Kuhar CW, Leighty KA, Bettinger TL, Laudenslager ML (2012). Using personality ratings and cortisol to characterize individual differences in African Elephants (*Loxodonta africana*). *Appl. Anim. Behav. Sci.*, **142**, 69–75.
- Grassman L (2005). Ecology and behavior of four sympatric carnivore species (Mammalia:Carnivora) in Kaeng Krachan National Park, Thailand. *J. Mammal.*, **86**, 29–38.
- Grassman L, Janecka J, Austin S, Tewes M, Silvy N (2006). Chemical immobilization of free-ranging dhole (*Cuon alpinus*), binturong (*Arctictis binturong*), and yellow-throated marten (*Martes flavigula*) in Thailand. *Eur. J. Wildl. Res.*, **52**, 297–300.
- Grassman LI, Tewes ME, Silvy NJ (2005). Ranging, habitat use and activity patterns of binturong *Arctictis binturong* and yellow-throated marten *Martes flavigula* in north-central Thailand. *Wildl. Biol.*, **11**, 49–57.
- Gray AE, Wirdateti, Nekaris KAI (2015). Trialling exudate-based enrichment efforts to improve the welfare of rescued slow lorises *Nycticebus* spp.. *Endanger. Species Res.*, **27**, 21–29.
- Gray TN. (2014). Camera-trap records of small carnivores from eastern Cambodia, 1999–2013. *Small Carniv. Conserv.*, **50**, 21–24.
- Greene LK, Wallen TW, Moresco A, Goodwin TE, Drea CM (2016). Reproductive endocrine patterns and volatile urinary compounds of *Arctictis binturong*: discovering why bearcats smell like popcorn. *Sci. Nat.*, **103**, 1–11.
- Gupta A (2002). A preliminary survey on the status of binturong (*Arctictis binturong*) in Trishna Wildlife Sanctuary, tripura.. *Tigerpaper*, **29**, 17–21.

- Heydon MJ, Bulloh P (1996). The impact of selective logging on sympatric civet species in Borneo. *Oryx*, **30**, 31–36.
- Hill SP, Broom DM (2009). Measuring zoo animal welfare: theory and practice. *Zoo Biol.*, **28**, 531–544.
- Holden J, Neang T (2009). Small carnivore records from the Cardamom Mountains, southwestern Cambodia.. *Small Carniv. Conserv.*, **40**, 16–21.
- Hollamby S, Simmons H, Bell T, Duncan A, Stadler C (2004). Myocardial necrosis in a captive binturong (*Arctictis binturong*). *Vet. Rec.*, **154**, 596–597.
- Hosey GR (2005). How does the zoo environment affect the behaviour of captive primates?. *Appl. Anim. Behav. Sci., Primates in Zoos*, **90**, 107–129.
- Hunt RM (1974). The auditory bulla in carnivora: An anatomical basis for reappraisal of carnivore evolution. *J. Morphol.*, **143**, 21–75.
- Hur K, Bae J-S, Choi J-H, Kim J-H, Kwon S-W, Lee K-W, *et al.* (1999). Canine Distemper Virus Infection in Binturongs (*Arctictis binturong*). *J. Comp. Pathol.*, **121**, 295–299.
- IUCN Red List maps (n.d.). *In: Explore Discov. Red List Species Ranges Obs.* [en ligne]. [<http://maps.iucnredlist.org/map.html?id=41690>] (Consultation le 29/11/15).
- Jenks K, Chanteap P, Damrongchainarong K, Cutter P, Redford T, Lynam AJ, *et al.* (2011). Using relative abundance indices from camera-trapping to test wildlife conservation hypotheses – an example from Khao Yai National Park, Thailand.. *Trop. Conserv. Sci.*, **4**, 113–131.
- Jensen A-LM, Delfour F, Carter T (2013). Anticipatory behavior in captive bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*): A preliminary study. *Zoo Biol.*, **32**, 436–444.
- Jensen JM, Patton S, Wright BG, Loeffler DG (1985). Toxoplasmosis in Marsupials in a Zoological Collection. *J. Zoo Anim. Med.*, **16**, 129–131.
- King JE, Landau VI (2003). Can chimpanzee (*Pan troglodytes*) happiness be estimated by human raters?. *J. Res. Personal.*, **37**, 1–15.
- Kitamura S, Poonswad P (2010). Mammal diversity and conservation in a small isolated forest of southern Thailand.. *Raffles Bull. Zool.*, **58**, 145–156.
- Klaphake E, Shoieb A, Ramsay E, Schumacher J, Craig L (2005). Renal Adenocarcinoma, Hepatocellular Carcinoma, and Pancreatic Islet Cell Carcinoma in a Binturong (*Arctictis binturong*). *J. Zoo Wildl. Med.*, **36**, 127–130.
- Kleiman DG (1974). Scent Marking in the Binturong, *Arctictis binturong*. *J. Mammal.*, **55**, 224–227.
- Kuschinski L (1974). Breeding binturongs: *Arctictis binturong*: at Glasgow Zoo. *Int. Zoo Yearb.*, **14**, 124–126.
- Lam WY, Hedges L, Clements GR (2014). First record of a clouded leopard preying on a binturong. *Cat News*, **60**, 16.
- Lambert JE, Fellner V, McKenney E, Hartstone-Rose A (2014). Binturong (*Arctictis binturong*) and Kinkajou (*Potos flavus*) Digestive Strategy: Implications for Interpreting Frugivory in Carnivora and Primates. *PLoS ONE*, **9**
- Lau MW-N, Fellowes JR, Chan BPL (2010). Carnivores (Mammalia: Carnivora) in South China: a status review with notes on the commercial trade. *Mammal Rev.*, **40**, 247–292.
- Less EH, Kuhar CW, Dennis PM, Lukas KE (2012). Assessing inactivity in zoo gorillas using keeper ratings and behavioral data. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, **137**, 74–79.
- Liu J, Chen Y, Guo L, Gu B, Liu H, Hou A, *et al.* (2006). Stereotypic Behavior and Fecal Cortisol Level in Captive Giant Pandas in Relation to Environmental Enrichment. *Zoo Biol.*, **25**, 445–459.

- Lynam AJ, Kreetiyutanont K, Mather R (2001). Conservation status and distribution of the Indochinese tiger ( *Panthera tigris corbetti* ) and other large mammals in a forest complex in northeastern Thailand. *Nat Hist Bull Siam Soc*, **49**, 61–75.
- Lynam AJ, Round PD, Brockelman WY (2006). Status of birds and large mammals in Thailand's Dong Phrayayen – Khao Yai Forest Complex. Biodiversity Research and Training (BRT). Program and Wildlife Conservation Society, Bangkok, Thailand. 122p
- MacDonald M (2016). The Effects of Crowd Size and Keeper Presence on the Stereotypic Pacing of Mexican Gray Wolves (*Canis lupus baileyi*) (Thesis). 45p
- Mallapur A, Chellam R (2002). Environmental influences on stereotypy and the activity budget of Indian leopards (*Panthera pardus*) in four zoos in Southern India. *Zoo Biol.*, **21**, 585–595.
- Marriner LM, Drickamer LC (1994). Factors influencing stereotyped behavior of primates in a zoo. *Zoo Biol.*, **13**, 267–275.
- Martin Bland J, Altman D (1986). Originally published as Volume 1, Issue 8476 STATISTICAL METHODS FOR ASSESSING AGREEMENT BETWEEN TWO METHODS OF CLINICAL MEASUREMENT. *The Lancet*, **327**, 307–310.
- Mason G, Clubb R, Latham N, Vickery S (2007). Why and how should we use environmental enrichment to tackle stereotypic behaviour?. *Appl. Anim. Behav. Sci., Conservation, Enrichment and Animal Behaviour*, **102**, 163–188.
- Mateo JM, Cavigelli SA (2005). A Validation of Extraction Methods for Noninvasive Sampling of Glucocorticoids in Free-Living Ground Squirrels. *Physiol. Biochem. Zool. PBZ*, **78**, 1069–1084.
- Mathai J, Hon J, Juat N, Peter A, Gumal M (2010). Small carnivores in a logging concession in the Upper Baram, Sarawak, Borneo. *Small Carniv. Conserv.*, **42**, 1–9.
- Mattoy L (2015). Mortalité des jeunes Carnivores en captivité ; étude du cas de la population de civettes entre 2004 et 2014. Université Claude Bernard - Lyon 1, Lyon. 100p
- McKenney E, Ashwell M, Lambert J, Fellner V (2014). Fecal microbial diversity and putative function in captive western lowland gorillas (*Gorilla gorilla gorilla*), common chimpanzees (*Pan troglodytes*), Hamadryas baboons (*Papio hamadryas*) and binturongs (*Arctictis binturong*). *Integr. Zool.*, **9**, 557–569.
- Moberg GP, Mench JA (2000). The Biology of Animal Stress: Basic Principles and Implications for Animal Welfare. CABI.
- Moresco A, Larsen RS (2003). Medetomidine-ketamine-butorphanol anesthetic combinations in binturongs (*Arctictis binturong*). *J. Zoo Wildl. Med. Off. Publ. Am. Assoc. Zoo Vet.*, **34**, 346–351.
- Möstl E, Palme R (2002). Hormones as indicators of stress. *Domest. Anim. Endocrinol.*, **23**, 67–74.
- Möstl E, Rettenbacher S, Palme R (2005). Measurement of Corticosterone Metabolites in Birds' Droppings: An Analytical Approach. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **1046**, 17–34.
- Murali K, Ray P, Kumar A, Sarma K (2013). Feeding observations of a Binturong *Arctictis binturong* group in Namdapha National Park, Arunachal Pradesh, India. *Small Carniv. Conserv.*, **49**, 28–30.
- Murtagh R, Behringer V, Deschner T (2013). LC-MS as a method for non-invasive measurement of steroid hormones and their metabolites in urine and faeces of animals. *Wien Tierärztl Monat–Vet Med Austria*, **100**, 247–254.
- Nabhitabhata J, Chan-ard T (2005). Thailand Red Data: mammals, reptiles and amphibians., Office of Natural Resources and Environmental Policy and Planning, Bangkok, Thailand. ed. Office of Natural Resources and Environmental Policy and Planning. 182p



- Nakabayashi M, Ahmad AH, Kohshima S (2016). Fruit selection of a binturong (*Arctictis binturong*) by focal animal sampling in Sabah, Malaysian Borneo. *Mammalia*, 1–4.
- Naniwadekar R, Shukla U, Viswanathan A, Datta A (2013). Records of small carnivores from in and around Namdapha Tiger Reserve, Arunachal Pradesh, India. *Small Carniv. Conserv.*, **49**, 1–8.
- Nei Moreira JLB, W. Moraes WFS, E.L.A. Monteiro-Filho (2007). Effect of Housing and Environmental Enrichment on Adrenocortical Activity, Behavior and Reproductive Cyclicity in the Female Tigrina (*Leopardus tigrinus*) and Margay (*Leopardus wiedii*). *Zoo Biol.*, **26**, 441–460.
- Nettelbeck AR (1998). Encounters between Lar Gibbons (*Hylobates lar*) and Binturongs (*Arctictis binturong*). *Folia Primatol. (Basel)*, **69**, 392–396.
- Oronan R, Licuan D, Licuan D, Santos JP, Lastica E (2014). Detection of antibodies *Toxoplasma gondii* and *Chlamydomydia felis* in malayan civets (*Viverra zibetha*), palawan bearcats (*Arctictis binturong whitei*) and asian palm civets (*Paradoxurus hermaphroditus*) at a wildlife facility in Quezon City, Phils. *Philipp. J. Vet. Anim. Sci.*, **39**, 287–292.
- Palme R (2005). Measuring Fecal Steroids: Guidelines for Practical Application. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **1046**, 75–80.
- Palme R (2012). Monitoring stress hormone metabolites as a useful, non-invasive tool for welfare assessment in farm animals. *Anim. Welf.- UFAW J.*, **21**, 331–337.
- Palme R, Rettenbacher S, Touma C, El-Bahr SM, Möstl E (2005). Stress Hormones in Mammals and Birds: Comparative Aspects Regarding Metabolism, Excretion, and Noninvasive Measurement in Fecal Samples. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **1040**, 162–171.
- Palme R, Touma C, Arias N, Dominchin MF, Lepschy M (2013). Steroid extraction: get the best out of faecal samples. *Wien Tierarztl Monatsschr.*, **100**, 238–246.
- Patou M-L, Debruyne R, Jennings AP, Zubaid A, Rovie-Ryan JJ, Veron G (2008). Phylogenetic relationships of the Asian palm civets (*Hemigalinae* & *Paradoxurinae*, *Viverridae*, *Carnivora*). *Mol. Phylogenet. Evol.*, **47**, 883–892.
- Peel AJ, Vogelnest L, Finnigan M, Grossfeldt L, O'Brien JK (2005). Non-invasive fecal hormone analysis and behavioral observations for monitoring stress responses in captive western lowland gorillas (*Gorilla gorilla gorilla*). *Zoo Biol.*, **24**, 431–445.
- Petty JMA (2015). Understanding female social dominance: comparative behavioral endocrinology in the Genus *Eulemur*. Duke University.
- Petty JMA, Drea CM (2015). Female rule in lemurs is ancestral and hormonally mediated. *Sci. Rep.*, **5**, 1–5.
- Pocock RI (1933). The rarer Genera of Oriental *Viverridae*. *Proc. Zool. Soc. Lond.*, **103**, 1016–1031.
- Proctor CM, Brown JL (2015). Influence of Handling Method on Adrenal Activity in Zoo African and Asian Elephants. *J. Zoo Aquar. Res.*, **3**, 1–5.
- Rabinowitz AR, Walker SR (1991). The carnivore community in a dry tropical forest mosaic in Huai Kha Khaeng Wildlife Sanctuary, Thailand. *J. Trop. Ecol.*, **7**, 37–47.
- Rafacz ML, Santymire RM (2014). Using odor cues to elicit a behavioral and hormonal response in zoo-housed African wild dogs. *Zoo Biol.*, **33**, 144–149.
- Raffles TS (1821). XVII. Descriptive Catalogue of a Zoological Collection, made on account of the Honourable East India Company, in the Island of Sumatra and its Vicinity, under the Direction of Sir Thomas Stamford Raffles, Lieutenant-Governor of Fort Marlborough; with additional Notices illustrative of the Natural History of those Countries.. *Trans. Linn. Soc. Lond.*, **13**, 239–274.
- Robertson S (2007). The Status and Conservation of Small Carnivores in Vietnam. University of East Anglia. 348p

- Rodas-Martínez AZ, Canales D, Brousset DM, Swanson WF, Romano MC (2013). Assessment of adrenocortical and gonadal hormones in male spider monkeys (*Ateles geoffroyi*) following capture, restraint and anesthesia. *Zoo Biol.*, **32**, 641–647.
- Roos J (2015). Le stress lié à la relation Homme-Animal objectivé par des méthodes non invasives (dosages radio-immunologiques et immuno-enzymologiques des glucocorticoïdes fécaux) sur les grands félins de la ménagerie du Jardin des Plantes. ENVA. 154p
- Rozhnov V (1994). Notes on the behaviour and ecology of the Binturong (*Arctictis binturong*) in Vietnam. *Small Carniv. Conserv.*, **10**, 4–5.
- Rustam, Yasuda M, Tsuyuki S (2012). Comparison of Mammalian Communities in a Human-Disturbed Tropical Landscape in East Kalimantan, Indonesia. *Mammal Study*, **37**, 299–311.
- Samejima H, Ong R, Lagan P, Kitayama K (2012). Camera-trapping rates of mammals and birds in a Bornean tropical rainforest under sustainable forest management. *For. Ecol. Manag.*, **270**, 248–256.
- Schoknecht P (1984). Growth and teat ownership in a litter of binturongs. *Zoo Biol.*, **3**, 273–277.
- Schreiber A, Wirth R, Riffel M, Van Rompaey H (1989). Weasels, civets, mongooses, and their relatives. An action plan for the conservation of mustelids and viverrids., IUCN. ed. IUCN, Gland, Switzerland. 99p
- Schwarzenberger F (2007). The many uses of non-invasive faecal steroid monitoring in zoo and wildlife species. *Int. Zoo Yearb.*, **41**, 52–74.
- Semiadi G, Ross J, Hearn AJ, Heydon M, Samejima H, Mathai J, *et al.* (2016). Predicted distribution of the binturong *Arctictis binturong* (Mammalia: Carnivora: Viverridae) on Borneo. *RAFFLES Bull. Zool.*, **33**, 96–102.
- Shepherd C (2008). Civets in trade in Medan, North Sumatra, Indonesia (1997–2001) with notes on legal protection.. *Small Carniv. Conserv.*, **38**, 34–36.
- Shepherdson DJ (1998). Tracing the path of environmental enrichment in zoos. *Second Nat. Environ. Enrich. Captive Anim.*, **5**, 1–12.
- Sheriff MJ, Dantzer B, Delehanty B, Palme R, Boonstra R (2011). Measuring stress in wildlife: techniques for quantifying glucocorticoids. *Oecologia*, **166**, 869–887.
- Sheriff MJ, Krebs CJ, Boonstra R (2010). Assessing stress in animal populations: Do fecal and plasma glucocorticoids tell the same story?. *Genral Comp. Endocrinol.*, **166**, 614–619.
- Sherwen SL, Magrath MJL, Butler KL, Hemsworth PH (2015). Little penguins, *Eudyptula minor*, show increased avoidance, aggression and vigilance in response to zoo visitors. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, **168**, 71–76.
- Sherwen SL, Magrath MJL, Butler KL, Phillips CJC, Hemsworth PH (2014). A multi-enclosure study investigating the behavioural response of meerkats to zoo visitors. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, **156**, 70–77.
- Shih-Chih Y (2009). Activity pattern and habitat selection of the medium-to-large terrestrial mammals in Cat Tien National Park, Vietnam. National Pingtung University of Science and Technology, Pingtung, Taiwan. 365p
- Soto-Gamboa M, Gonzalez S, Hayes LD, Ebersperger LA (2009). Validation of a radioimmunoassay for measuring fecal cortisol metabolites in the hystricomorph rodent, *Octodon degus*. *J. Exp. Zool. Part Ecol. Genet. Physiol.*, **311A**, 496–503.
- Spriggs M, Arble J, Myers G (2007). Intervertebral Disc Extrusion and Spinal Decompression in a Binturong (*Arctictis binturong*). *J. Zoo Wildl. Med.*, **38**, 135–138.
- Story HE (1945). The External Genitalia and Perfume Gland in *Arctictis binturong*. *J. Mammal.*, **26**, 64–66.

- Terio KA, Brown JL, Moreland R, Munson L (2002). Comparison of different drying and storage methods on quantifiable concentrations of fecal steroids in the cheetah. *Zoo Biol.*, **21**, 215–222.
- Terio KA, Citino SB, Brown JL (1999). Fecal Cortisol Metabolite Analysis for Noninvasive Monitoring of Adrenocortical Function in the Cheetah (*Acinonyx jubatus*). *J. Zoo Wildl. Med.*, **30**, 484–491.
- Touma C, Palme R (2005). Measuring Fecal Glucocorticoid Metabolites in Mammals and Birds: The Importance of Validation. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **1046**, 54–74.
- Vasconcellos AS, Chelini M-OM, Palme R, Guimarães MABV, Oliveira CA, Ades C (2011). Comparison of two methods for glucocorticoid evaluation in maned wolves. *Pesqui. Veterinária Bras.*, **31**, 79–83.
- Veron G (2007). Phylogénie des petits carnivores feliformes (Mammalia, Carnivora). *Bull. Société Zool. Fr.*, **132**, 261–268.
- Wasser SK, Hunt KE (2005). Noninvasive Measures of Reproductive Function and Disturbance in the Barred Owl, Great Horned Owl, and Northern Spotted Owl. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **1046**, 109–137.
- Wasser SK, Hunt KE, Brown JL, Cooper K, Crockett CM, Bechert U, *et al.* (2000). A Generalized Fecal Glucocorticoid Assay for Use in a Diverse Array of Nondomestic Mammalian and Avian Species. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **120**, 260–275.
- Watters JV (2014). Searching for behavioral indicators of welfare in zoos: Uncovering anticipatory behavior. *Zoo Biol.*, **33**, 251–256.
- Watters JV, Margulis SW, Atsalis S (2009). Behavioral monitoring in zoos and aquariums: a tool for guiding husbandry and directing research. *Zoo Biol.*, **28**, 35–48.
- Weldon P, Gorra M, Wood W (2000). Short-chain carboxylic acids from the anal glands of the binturong, *Arctictis binturong* (Viverridae, Mammalia). *Biochem Syst Ecol*, **28**, 903–904.
- Wemmer C, Murtaugh J (1981). Copulatory Behavior and Reproduction in the Binturong, *Arctictis binturong*. *J. Mammal.*, **62**, 342–352.
- Whitham JC, Wielebnowski N (2009). Animal-based welfare monitoring: using keeper ratings as an assessment tool. *Zoo Biol.*, **28**, 545–560.
- Whitten PL, Brockman DK, Stavisky RC (1998). Recent advances in noninvasive techniques to monitor hormone-behavior interactions. *Am. J. Phys. Anthropol.*, **107**, 1–23.
- Widmann P, De Leon J, Duckworth JW (2008). *Arctictis binturong* In: *IUCN Red List Threat. Species* [en ligne]. [<http://www.iucnredlist.org/details/41690/0>] (Consultation le 29/11/15).
- Wielebnowski N (2003). Stress and distress: evaluating their impact for the well-being of zoo animals. *J.-Am. Vet. Med. Assoc.*, **223**, 973–976.
- Wielebnowski NC, Fletchall N, Carlstead K, Busso JM, Brown JL (2002). Noninvasive assessment of adrenal activity associated with husbandry and behavioral factors in the North American clouded leopard population. *Zoo Biol.*, **21**, 77–98.
- Wilcken J, Lees C, Christie S (2012). SPARKS.
- Wiltling A, Samejima H, Mohamed A (2010). Diversity of Bornean viverrids and other small carnivores in Deramakot Forest Reserve, Sabah, Malaysia. *Small Carniv. Conserv.*, **42**, 10–13.
- Young K m., Brown J l., Goodrowe K l. (2001). Characterization of reproductive cycles and adrenal activity in the black-footed ferret (*Mustela nigripes*) by fecal hormone analysis. *Zoo Biol.*, **20**, 517–536.
- Yue S, Brodie JF, Zipkin EF, Bernard H (2015). Oil palm plantations fail to support mammal diversity. *Ecol. Appl.*, **25**, 2285–2292.

Zaw T, Po SHT, Htun S, Maung M, Lynam AJ, Duckworth JW, *et al.* (2008). Status and distribution of small carnivores in Myanmar. *Small Carniv. Conserv.*, **38**, 2–28.

# ANNEXES

---

### **Annexe 1: Recensement des observations des binturongs en milieu naturel dans la bibliographie.**

*Les données non communiquées dans les publications sont notées NC dans le tableau.*

Lieu					Nombre d'observation	Méthode	Date	Heure	Etude
Sites	Région	Pays	Type d'habitat	Altitude (m)					
Chhlong	-	Cambodge	NC	NC	1	Piège photographique	entre juillet 2003 et janvier 2006	NC	Gray, 2014
Phnom Prich Wildlife Sanctuary	-	Cambodge	NC	NC	1	Piège photographique	entre novembre 2001 et mars 2007	NC	Gray, 2014
Phnom Prich Wildlife Sanctuary	-	Cambodge	NC	NC	2	Piège photographique	entre décembre 2011 et février 2013	NC	Gray, 2014
Phnom Tumpor	-	Cambodge	-	250	1	Saisie dans un village	NC	NC	Holden et Neang, 2009
Prey Long	-	Cambodge	NC	NC	1	Piège photographique	entre avril 2002 et mars 2007	NC	Gray, 2014
Plateau de Hornbill, Reserve des tigres de Namdapha	Arunachal Pradesh	Inde	Forêt tropicale primaire de sempervirens	590-680	10	Observation directe	entre février 2009 et mars 2011	le matin (6h-11h), en début d'après-midi (13h-15h) et le soir (22h)	Naniwadekar <i>et al.</i> , 2013

Parc national de Nandapha	NC	Inde	NC	NC	13	Observation directe	4-déc.-14	de nuit	Murali <i>et al.</i> , 2013
Tengapani RF	Arunachal Pradesh	Inde	Forêt de plaine	210	1	Observation directe	7-févr.-09	7h	Naniwadekar <i>et al.</i> , 2013
Trishna Wildlife Sanctuary	Tripura	Inde	NC	NC	12	Observation directe	entre mai et aout 2001	entre 18h et 20h et entre 5h30 et 7h30	Gupta, 2002
Forêt de Bukit Soeharto	Kalimantan, Bornéo	Indonésie	Forêt secondaire	107	2	Piège photographique	entre mars 2005 et juin 2010	NC	Rustam <i>et al.</i> , 2012
Laboratoire naturel de l'étude de la forêt de Peat Swamp	Kalimantan, Bornéo	Indonésie	NC	NC	1	Observation directe	2008	10h	Cheyne <i>et al.</i> , 2010
Forêt de Sungai Wain	Kalimantan, Bornéo	Indonésie	Forêt primaire	36	2	Piège photographique	entre mars 2005 et juin 2010	NC	Rustam <i>et al.</i> , 2012
Hin Nammo	-	Laos	NC	NC	1	Piège photographique	NC	NC	Duckworth <i>et al.</i> , 1999
Nam Chae Makfueng, Aire protégée nationale de Nakai-Nam Theun	-	Laos	NC	828	1	Piège photographique	NC	1h18	Coudrat <i>et al.</i> , 2014

Nam Kading	-	Laos	Forêt de sempervirens	300-400	2	Piège photographique	mars-avril 1995	17h et 5h55	Duckworth, 1997
Nam mon, Aire protégée nationale de Nakai-Nam Theun	-	Laos	NC	NC	1	Observation directe	1-mars-12	de jour	Coudrat <i>et al.</i> , 2014
Aire de conservation Danum Valley	Sabah, Bornéo	Malaisie	NC	NC	1	Suivi télémétrique	de janvier 2013 à mars 2014	de nuit	Nakabayashi <i>et al.</i> , 2016
Reserve de la forêt de Deramakot	Sabah, Bornéo	Malaisie	NC	NC	NC	Piège photographique	entre février 2008 et septembre 2009	NC	Samejima <i>et al.</i> , 2012
Deramakot Forest Reserve	Sabah, Bornéo	Malaisie	NC	NC	1	Piège photographique	Juillet 2008 à janvier 2009	NC	Wilting <i>et al.</i> , 2010
Réserve de la forêt de Deramakot	Sabah, Bornéo	Malaisie	NC	NC	6	Observation directe	Juillet 2008 à janvier 2010	de nuit	Wilting <i>et al.</i> , 2010
NC	Terengganu	Malaisie	NC	NC	3	Piège photographique	entre avril 2011 et mars 2012	NC	Clements, 2013
NC	Perak	Malaisie	NC	NC	2	Piège photographique	entre avril 2012 et mars 2013	NC	Clements, 2013
Parc national de Lambir Hills	Sarawak, Bornéo	Malaisie	NC	NC	1	Piège photographique	entre février 2004 et septembre 2004	NC	Azlan et Lading, 2006



Aire de conservation du Maliau Basin	Sabah, Bornéo	Malaisie	Forêt de dipterocarpes	280	4	Piège photographique	entre janvier et mai 2010	11h et 23h	Brodie et Giordano, 2011
Forêt de Sela'an-Linau	Sarawak, Bornéo	Malaisie	Forêt exploitée	NC	4	Piège photographique	entre janvier 2005 et septembre 2008	de nuit	Mathai <i>et al.</i> , 2010
Forêt de Sela'an-Linau	Sarawak, Bornéo	Malaisie	Forêt exploitée	NC	3	Observation directe	entre mars 2004 et septembre 2008	matin	Mathai <i>et al.</i> , 2010
Réserve forestière de Ulu Segama	Sabah, Bornéo	Malaisie	Forêt primaire	NC	3	Observation directe	entre janvier 1992 et décembre 1993	de nuit	Heydon et Bulloh, 1996
Western linkage	Perak	Malaisie	NC	NC	21	Piège photographique	entre mai 2012 et février 2013	NC	Clements, 2013
Htamanthi Night	-	Myanmar	NC	280	1	Piège photographique	1-sept.-99	NC	Zaw <i>et al.</i> , 2008
Rakhine Yoma	-	Myanmar	NC	580	1	Piège photographique	5-janv.-01	07h10	Zaw <i>et al.</i> , 2008
Tanintharyi	-	Myanmar	NC	60	1	Piège photographique	20-janv.-02	16h13	Zaw <i>et al.</i> , 2008
Bumphabum	-	Myanmar	NC	800	3	Piège photographique	1-mai-01	de nuit et le matin	Zaw <i>et al.</i> , 2008

Hukaung Valley	-	Myanmar	NC	220	6	Piège photographique	entre février 2001 et juin 2005	de nuit et le matin	Zaw <i>et al.</i> , 2008
Naungmung	-	Myanmar	NC	1,2	1	Piège photographique	24 août 2002	18h52	Zaw <i>et al.</i> , 2008
Hala Bala wildlife sanctuary	Bala	Thaïlande	Forêt primaire et exploitée	NC	7	Piège photographique	entre novembre 2004 et octobre 2007	NC	Kitamura et Poonswad, 2010
Huai Kha Khaeng Wildlife Sanctuary	-	Thaïlande	NC	NC	3	Observation directe	entre 1987 et 1989	NC	Rabinowitz et Walker, 1991
Parc national de Khao Yai	-	Thaïlande	NC	NC	24	Observation directe	entre février 1992 et mai 1996	de jour	Nettelbeck, 1998
Parc national de Khao Yai	-	Thaïlande	NC	NC	2	Piège photographique	entre octobre 2003 et mars 2007	NC	Jenks <i>et al.</i> , 2011
Phu Khieo Wildlife Sanctuary	Chayaphum Province	Thaïlande	Forêt de <i>sempervirens</i>	NC	31	Capture en vue de suivi télémétrique	entre septembre 1998 et novembre 2002	-	Grassman <i>et al.</i> , 2005
Phu Khieo Wildlife Sanctuary	Chayaphum Province	Thaïlande	Forêt de <i>sempervirens</i>	800-1000	2	Piège photographique	entre février 2001 et juillet 2002	de nuit	Grassman <i>et al.</i> , 2006

Phu Khieo Wildlife Sanctuary	Chayaphum Province	Thaïlande	NC	NC	1	Piège photographique	entre décembre 1997 et janvier 1999	NC	Lynam <i>et al.</i> , 2001
Thung Yai Naresuan Wildlife Sanctuary	-	Thaïlande	NC	NC	2	Suivi télémétrique	de décembre 2010 à janvier 2012	-	Chutipong <i>et al.</i> , 2015
Cat Tien NP	Dong Nai	Vietnam	NC	NC	NC	Piège photographique	entre 2006 et 2007	NC	Shih-Chih, 2009
Pu Mat NR	Nghe An	Vietnam	NC	NC	NC	Piège photographique	entre 1998 et 1999	NC	Chutipong <i>et al.</i> , 2014



# MESURE DE L'ACTIVITÉ CORTICO-SURRÉNALIENNE ET DU COMPORTEMENT CHEZ UNE ESPÈCE DE VIVERRIDÉ EN CAPTIVITÉ, LE BINTURONG, *Arctictis binturong*

**NOM et Prénom :** DEBRUILLE Agathe

## **Résumé**

Le binturong, *Arctictis binturong*, est une espèce de *Viverridae* asiatique menacée de disparition en raison principalement de la destruction de son habitat naturel. Pour cette raison, les programmes d'élevage du binturong en captivité prennent toute leur importance, ils doivent cependant faire face à de nombreux échecs. C'est pourquoi, cette thèse avait pour objectif dans un premier temps de réaliser une synthèse bibliographique sur le binturong afin de regrouper les données déjà existantes puis dans un second temps de mettre en place une méthode d'évaluation du stress chez les individus captifs. Pour cela, des observations comportementales et le dosage par ELISA des métabolites fécaux du cortisol (MFC) ont été réalisés sur 10 individus provenant de 6 parcs zoologiques français. En comparant quatre protocoles d'extraction, il a été montré que le dosage des MFC sur fèces humides avec une extraction par agitation constituait la méthode présentant le meilleur rendement chez le binturong. Par la suite, l'étude particulière d'un individu au cours de son transfert dans un nouveau parc zoologique a permis de valider l'utilisation des MFC chez le binturong en tant que marqueur de stress. Enfin, l'étude comportementale a révélé la présence d'une frustration chez la majorité des individus s'exprimant par des comportements d'anticipation marqués. Les animaux présentant la plus grande intensité de ces comportements avaient par ailleurs les plus faibles taux de MFC, laissant supposer que chez le binturong, un stress chronique important serait à l'origine d'une inhibition de la synthèse de cortisol.

**Mots clés :** GLANDE SURRENALE / CORTICOSURRENALE / CORTISOL / STRESS / EVALUATION / ETHOLOGIE / COMPORTEMENT / ANIMAUX EN CAPTIVITE / MAMMIFERE / VIVERRIDAE

**Jury :**

**Président : Pr.**

**Directeur : Dr. Caroline Gilbert**

**Assesseur : Dr. Pacal Arné**

# **MESURE OF THE HPA AXIS AND THE BEHAVIOUR OF A CAPTIVE SPECIES OF VIVERRIDE, THE BEARCAT, *Arctictis binturong***

**SURNAME : DEBRUILLE**

**Given name : Agathe**

**Summary :**

The binturong, *Arctictis binturong*, is a threatened species living in the forest of South-East Asia. According to its decline, the raising programs in zoological parks play an important role, but they have to face some issues with the reproduction of this species. This thesis aimed first to make a complete bibliography of the binturong, and then to set up a method to evaluate the stress of captive individuals. From this perspective, behavioral observations and assays of fecal cortisol metabolites (FCM) have been realized on 10 individuals from 6 French zoological parks. By the comparison of 4 extraction protocols, it appears that the FCM dosage on wet samples and with the use of a vortex is the most efficient method on binturongs. The next stage of the study with the assay of FCM from an individual towards its transfer from an institution to another allowed the biological validation of FCM as stress indicators in binturongs. Finally, the behavioral observations revealed that the majority of the group showed frustration by expressing anticipatory behavior. Furthermore, the individuals with strongest anticipatory behaviors had low levels of FCM that leads us to suppose that an important chronic stress could imply a severe inhibition of cortisol excretion in binturongs.

**Keywords : ADRENAL GLAND / CORTICOSURRENALE / CORTISOL / STRESS / EVALUATION /  
ETHOLOGY / BEHAVIOUR / CAPTIV ANIMALS / MAMMIFERE / VIVERRIDAE**

**Jury :**

**President : Pr.**

**Director : Dr. Caroline Gilbert**

**Assessor : Dr. Pascal Arné**