



Direction de la
Recherche et de
l'Expertise

Unité Prédateurs et
Animaux
déprédateurs (PAD)

Equipe Loup Lynx

Auteurs :

Murielle Guinot-
Ghestem, Christophe
Duchamp

upad@oncfs.gouv.fr

Novembre 2017

NT/2017/DRE/UPAD/0
3

**Eléments de langage suite à la conférence de presse du 22 novembre 2017 organisée
par un collectif de particuliers au sujet des résultats d'analyses génétiques effectuées par le laboratoire
ForGen
Pour diffusion large**

Mots-clés : Loup, *Canis lupus lupus*, hybridation, analyses génétiques, contre-expertise

Résumé exécutif

1. Les résultats présentés par ce collectif de particuliers font état de 127 échantillons collectés et analysés, parmi lesquels 20 sont analysés de façon complète et sont tous qualifiés d'hybrides de lignée non italienne.
2. **Ces résultats paraissent étonnants pour l'ONCFS-DRE-UPAD.** Pour rappel, les résultats de l'ONCFS sont ceux-ci : 228 échantillons ont été envoyés au laboratoire Antagène durant l'été 2017 ; parmi les échantillons qui ont pu être analysés, 130 échantillons étaient soit des hybrides, soit des loups, et suite à analyse plus précise : 120 sont des loups, tous de lignée génétique italienne, 2 ont des signatures génétiques qui correspondraient à des hybrides de 1ère génération (cad père ou mère chien) et 8 ont des signatures génétiques qui correspondraient à une hybridation plus ancienne (cad grand-père, ou grand-mère, ou arrière grand-père etc chien).
3. L'ONCFS va organiser **une rencontre** afin que les deux laboratoires, ForGen et Antagène, puissent confronter leurs résultats et mieux comprendre les divergences.
4. Dans l'attente de cette rencontre, **l'ONCFS demeure extrêmement confiant dans les résultats fournis par Antagène.**
5. Au vu des documents diffusés lors de cette conférence de presse, l'ONCFS est d'autant plus confiant dans les résultats fournis par Antagène et précautionneux sur les conclusions apportées par ce collectif de particuliers : les étapes de prélèvement et manipulation des échantillons, les marqueurs recherchés –ou écartés, la lecture et l'interprétation des résultats montrent des lacunes importantes.
6. L'étude présente également d'autres méthodes telles que des analyses cartographiques qui remettent en cause le nombre de loups détectés, des analyses de crânes, de photos, sur lesquelles l'ONCFS émet également de sérieuses réserves.
7. D'autres éléments présentés dans l'étude ne sont pas de nature scientifique ni technique, mais politiques visant à remettre en cause de façon globale les actions de l'Etat sur le dossier du Loup. Ces particuliers se placent de façon évidente dans **une posture de contestation et de revendication**, à laquelle la présente note n'a pas la prétention de répondre.

Demande initiale

Demande du DG de l'ONCFS de disposer d'éléments de langage afin de pouvoir répondre aux sollicitations qui parviennent à l'ONCFS suite à cette conférence de presse. Demande du préfet de l'Isère, via sa DDT, de disposer des mêmes éléments de langage.

Cette présente note se cantonne à expliquer les réserves scientifiques et techniques qu'émet l'ONCFS sur les analyses présentées par un collectif de particuliers lors de la conférence de presse du 22 novembre 2017. Elle ne répond pas aux mises en cause qui dépassent le champ de l'ONCFS et concernent plus globalement la politique de l'Etat sur le sujet du Loup.

1- Sur la solidité des analyses génétiques

C'est un débat d'experts et l'ONCFS ne manquera pas d'organiser une rencontre entre ForGen et Antagène, une fois que l'ONCFS sera sorti de la procédure de renouvellement de son marché d'analyses génétiques (= rencontre début 2018). Antagène a l'habitude de cet exercice de confrontation des résultats et en est tout à fait preneur.

Ceci dit, dès à présent, on peut affirmer que les résultats présentés paraissent très étonnants à l'ONCFS. L'ONCFS reste très confiant dans les analyses effectuées à sa demande par le laboratoire Antagène durant l'été 2017.

En effet, concernant l'étude présentée, de nombreuses réserves peuvent être formulées :

A - le prélèvement et la manipulation des échantillons

- La méthode de collecte par écouvillonnage au niveau des plaies représente un risque majeur de pollution de l'échantillon, qui est d'ailleurs révélé sur les ¾ des échantillons traités, au vu des résultats présentés des analyses.
- Rien n'est dit sur la conservation et le transport de ces échantillons ni même sur la traçabilité ou encore le conditionnement. Il faut savoir que l'étuvage fragilise l'ADN, d'autant plus quand il est dégradé et rare.

B - l'analyse génétique elle-même

- Aucune répétition des amplifications n'est effectuée, un prérequis pourtant majeur sur ce type d'ADN dans la littérature internationale, afin d'éviter les faux génotypes.
- Selon Antagène, 10 marqueurs ne sont pas suffisants pour détecter l'hybridation sur de l'ADN rare et dégradé, d'autant qu'il n'est pas mentionné ni le degré de polymorphisme, ni le seuil de marqueurs « répondants » pris en compte parmi ces 10 pour considérer l'analyse comme fructueuse. Historiquement, le laboratoire qui traitait les analyses génétiques pour le compte de l'ONCFS utilisait 6 marqueurs, puis 12, mais à une époque où la technologie génétique n'était pas si avancée et où le sujet de l'hybridation n'était pas traité.
- Les allèles rares, faux allèles et encore moins des pertes alléliques ne sont pas considérés, alors que ces phénomènes sont largement connus en biologie moléculaire, (on peut s'en prémunir par la répétition des amplifications).
- Des erreurs apparaissent dans l'explication des analyses : les marqueurs ne sont pas situés sur les 0,1% du génome différent entre loup et chien, ils sont situés partout sur le génome, c'est la différence d'occurrence des allèles sur chaque marqueur qui renseigne sur la probabilité qu'on ait affaire à un loup ou à un chien.
- Au sein du génome nucléaire, on ne peut pas dire qu'il y a des gènes de loup ou de chien, ni même qu'il y a des marqueurs de loup ou de chien, ni même encore qu'il y a des allèles de loup ou de chien. Il y a des probabilités d'occurrence des allèles sur chaque marqueur plus ou moins importante pour un loup ou un chien. C'est la combinaison de l'occurrence de ces allèles sur les marqueurs, en comparaison à une population de référence, qui permet de dire si l'échantillon a de forte probabilité ou pas d'appartenir à la population.
- Quand un seul allèle apparaît, ça n'est pas forcément un homozygote. Ca peut être une perte d'allèle (et donc un questionnement sur la qualité de l'ADN présent).
- Quand 3 allèles apparaissent, ça n'est pas forcément qu'il y a 2 individus. Il peut y en avoir beaucoup plus.

- L'absence d'allèle Y ne veut pas forcément dire qu'on a affaire à une femelle, quand il s'agit d'ADN rare et dégradé, les pertes d'allèles sont courantes.
- L'ONCFS et Antagène n'ont pas connaissance d'allèles spécifiques de certaines lignées sur les marqueurs microsatellites. La lignée d'appartenance ne peut s'étudier que sur une zone bien précise de l'ADN mitochondrial par lecture de séquence (et non sur les microsatellites) et on ne peut donc renseigner que la lignée maternelle.
- L'étude présente un « allèle 80 » comme étant un marqueur de la lignée italienne. Cette dénomination dénote une incompréhension des notions génétiques. Un allèle ne s'exprime qu'en référence au marqueur qui le porte. Quel est le marqueur ici ?

C - la lecture et l'interprétation des résultats

- ForGen n'est pas le laboratoire référent pour les analyses génétiques Loup en Allemagne (communication de nos collègues allemands) et n'a jamais publié ses méthodes dans des publications sur ce sujet. Il ne le fait d'ailleurs pas ici.
- Aucune lecture des résultats en double aveugle n'est mentionnée.
- Aucune explication des méthodes mathématiques pour l'assignation au loup ou au chien n'est fournie, aucune répétition des calculs mathématiques d'assignation n'est mentionnée, aucun seuil statistique pour l'assignation à l'une ou l'autre des populations (chien ou loup) n'est affiché.
- Aucun indice de qualité final de chaque analyse n'est indiqué
- Sur 120 échantillons analysés, 20 analyses sont complètes, ce qui est la traduction de la très faible qualité des échantillons et analyses qui en deviennent ininterprétables.
- Tous sont classés en hybrides. Selon l'ONCFS, les profils génétiques présentés résultent de mélanges d'ADN appartenant à une ou plusieurs espèces, qu'il n'est pas possible de démêler au travers de la méthode utilisée.
- Même si ces 20 échantillons étaient tous hybrides, on ne pourrait pas extrapoler en affirmant que la population lupine française serait 100% hybride. Sont-ce des individus identiques ? Au vu de la faible qualité des résultats, on ne peut pas extrapoler sur le nombre d'individus différents.

2- Sur la pertinence des autres analyses

La méthode des crânes n'est pas pertinente (cf travaux de Orsini & Fabre, Muséum d'Histoire Naturel de Toulon) : on peut parvenir à discriminer les petits chiens des gros loups, en prenant en compte une combinaison de mesures allométriques, c'est-à-dire pas uniquement la mesure du crâne. Mais le pouvoir de discrimination pour les crânes de taille moyenne reste statistiquement trop peu fiable.

Dans l'étude présentée, la personne citée comme experte sur cette méthode des crânes est connue pour travailler également sur des classifications de chiens, loups et hybrides à partir des mesures morphométriques et leurs angles d'orientation sur des individus sur des photos de pièges photos et sur des empreintes des pattes.

Aucune base scientifique n'est publiée à ce sujet nulle part dans le monde.

Sur un autre domaine, se pose la question de la provenance des crânes analysées par ce collectif de particuliers, et des autorisations de détenir et transporter tout ou partie d'espèce protégée.

En conclusion,

Il subsiste de nombreuses approximations, même sur le plan technique et scientifique. Nous tâcherons de les lever avec l'aide des laboratoires prestataires, de part et d'autre. Cependant, cette étude se place davantage sur le plan politique de remise en cause de l'Etat, et de l'ONCFS en particulier.