



Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
(ENVT)
23 chemin des Capelles
31076 TOULOUSE



Université Montpellier II
Faculté des Sciences
Place Eugène Bataillon
34 095 MONTPELLIER Cedex 5



Unité de Service Enseignement et
Formation en Elevage
Campus de Baillarguet
TA A-71 / B
34 398 MONTPELLIER Cedex 5

MASTER 2EME ANNEE
MENTION SCIENCES POUR L'ENVIRONNEMENT-BGAE
SPECIALITE BIODIVERSITE DES INTERACTIONS MICROBIENNES
ET PARASITAIRES

PARCOURS SANTE ANIMALE ET EPIDEMIOSURVEILLANCE
DANS LES PAYS DU SUD (SAEPS)

RAPPORT DE STAGE

Epidémiologie des infestations parasitaires chez le mandrill (*Mandrillus sphinx*) au Gabon : diversité, abondance, prévalence et facteurs de risque

Présenté par
Anais Herbert

Réalisé sous la direction de : Dr Delphine Verrier

Organisme et pays : Centre International de Recherches Médicales de
Franceville (CIRMF), Gabon

Période du stage : 14 mars 2009- 14 août 2009

Date de soutenance : 17-18 septembre 2009



Année universitaire 2008-2009

MASTER 2EME ANNEE
MENTION SCIENCES POUR L'ENVIRONNEMENT-BGAE
SPECIALITE BIODIVERSITE DES INTERACTIONS MICROBIENNES
ET PARASITAIRES

PARCOURS SANTE ANIMALE ET EPIDEMIOSURVEILLANCE
DANS LES PAYS DU SUD (SAEPS)

RAPPORT DE STAGE

Epidémiologie des infestations parasitaires chez le mandrill (*Mandrillus sphinx*) au Gabon : diversité, abondance, prévalence et facteurs de risque

Présenté par
Anais Herbert

Réalisé sous la direction de : Dr Delphine Verrier

Organisme et pays : Centre International de Recherches Médicales de Franceville (CIRMF),
Gabon

Période du stage : 14 mars 2009- 14 août 2009

Date de soutenance : 17-18 septembre 2009

Année universitaire 2008-2009

Résumé

Les primates non humains (PNH) sont les hôtes d'une variété considérable de parasites. Susceptibles d'avoir un effet délétère sur la santé et le succès reproducteur des individus et, par ailleurs, potentiellement pathogènes chez l'homme, les parasites de PNH posent à la fois un problème majeur de conservation et de santé publique. Il est par conséquent primordial de connaître leur nature, abondance et prévalence et de comprendre les facteurs de risque à ce type d'infections dans les populations hôtes. Nous proposons ici une étude approfondie de l'épidémiologie des infestations parasitaires chez une espèce de PNH emblématique de l'Afrique Centrale, le mandrill (*Mandrillus sphinx*). Bien que répertorié comme espèce vulnérable et listé sur l'Annexe 1 de la Convention de Washington, le mandrill reste très chassé dans son aire de répartition. Le risque zoonotique lié à ses différents pathogènes reste cependant mal évalué. En outre, dans un but de conservation, il est crucial d'acquérir davantage de connaissances sur l'écologie et les pathologies de cette espèce rare et mal connue. Aussi, la prévalence, l'abondance et la diversité des parasites externes, gastro-intestinaux et sanguins ont été étudiées au sein de deux colonies de mandrills au Gabon en ayant recours aux techniques standards de diagnostic parasitaire (coproscopie quantitative par la méthode de MacMaster, goutte épaisse et frottis) : une colonie semi-captive regroupant près de 200 individus dans un enclos forestier de 8 ha (CIRMF) et un groupe de 60 individus réhabilités en milieu naturel (Bakoumba). Ces données ont ensuite été analysées en fonction de facteurs environnementaux (saison, habitat), physiologiques (âge, sexe) et sérologiques (statuts SIV et STLV). Sur les 308 échantillons fécaux analysés, une espèce de protozoaire (*Balantidium coli*) et 6 taxa de nematodes ont pu être identifiés (*Oesophagostomum spp*, *Ancylostoma spp*, *Trichostrongylus spp*, *Strongyloides spp*, *Trichuris spp*, *Mammomonogamus spp*). Les prévalences varient de deux observations pour *Mammomonogamus spp* à 86% d'échantillons positifs pour *Oesophagostomum spp*. Des poux piqueurs ont été trouvés sur 5 des 137 individus examinés et 14% des animaux étudiés se sont révélés infectés par l'hémoparasite *Hepaticystis spp*. D'une manière globale, un effet significatif de l'habitat et de la saison sur la prévalence des parasites gastro-intestinaux ont été démontrés, puisque les mandrills sauvages sont en plus infestés que les individus en semi liberté et que la prévalence globale diminuait lors de la saison sèche. Le sexe et l'âge apparaissent également avoir un effet significatif sur les infestations parasitaires en saison humide. En effet, les femelles adultes ont montré une diversité moindre en parasites gastro-intestinaux en comparaison avec les mâles adultes, toujours en saison humide. L'effet de l'âge, quant à lui, s'est révélé contrasté en fonction de l'espèce parasitaire considérée. En outre, en saison humide, SIV et STLV tendent à modifier la composition du cortège pathogénique chez les hôtes naturellement infectés. Des analyses plus complètes devront être menées sur les facteurs sociaux affectant la distribution des parasites chez le mandrill et les études futures devront investiguer les mécanismes sous-tendant les facteurs de susceptibilité identifiés dans la présente étude.

Mots clés

Mandrillus sphinx ; parasites gastro-intestinaux ; hémoparasites ; ectoparasites ; SIV ; STLV ; âge ; sexe ; saison ; habitat

Abstract

Parasite infestations are widespread in non human primates (NHP). Due to their deleterious effects on individuals' fitness and their potential threat to human health, NHP parasites raise major concerns for both the conservation of wild species and public health. It is, therefore, crucial to gain knowledge on the diversity, prevalence, abundance and associated risk factors of those parasites within their host populations.

In the present study, we conducted a study on the epidemiology of parasite infections in an emblematic NHP species endemic to Central Africa, the mandrill (*Mandrillus sphinx*). Mandrills remain heavily hunted in their distribution area. Yet, the zoonotic risks associated to the pathogens they host have been poorly assessed. In addition, little is known of the ecology and conservation medicine of this rare and vulnerable NHP species.

Gastro-intestinal (GI), ecto- and blood parasite diversity, prevalence and abundance were monitored among two mandrill colonies in Gabon : a semi-free-ranging colony of ca 200 individuals (CIRMF) and a group of 60 individuals rehabilitated in their natural habitat (Bakoumba). Quantitative coproscopy by Mac Master was chosen for identification and quantification of gastro-intestinal parasites. Blood smear and thick smear have been used for detection of blood parasites. Data were then analyzed according to environmental (season, habitat), physiological (sex, age) and serological (SIV and STLV status) parameters.

Out of the 308 fecal samples analyzed, one species of protozoa (*Balantidium coli*) and 6 nematode taxa could be identified (*Oesophagostomum spp*, *Ancylostoma spp*, *Trichostrongylus spp*, *Strongyloides spp*, *Trichuris spp*, *Mammomonogamus spp*). Prevalence for GI parasites ranged from 2 records for *Mammomonogamus* up to 86% positive samples for *Oesophagostomum*. Sucking lice were found on 5 of the 137 inspected individuals and 14% of the study animals were infected with the hemoparasite *Hepaticocystis spp*. Overall, habitat and season had a significant impact on GI parasite prevalence, with wild individuals being more infected than their semi-free-ranging counterparts and global prevalence decreasing during the dry season. Sex and age also had significant effects on parasite infections. Adult females generally displayed lower GI parasite diversity and prevalence than adult males. Age effect varied between parasite species. Furthermore, SIV and STLV tended to alter parasite assemblage in naturally infected hosts.

Further analyses should shed light onto the social factors affecting parasite distribution in the model species and future studies investigate the mechanisms underlying the susceptibility factors identified in the present study.

Keywords

Mandrillus sphinx ; gastro-intestinal parasites ; blood parasites ; ectoparasites ; SIV ; STLV ; age ; sex ; season ; living area

SOMMAIRE

| | |
|--|----|
| Résumé | 2 |
| Mots clés | 2 |
| Abstract | 3 |
| Keywords | 3 |
| Remerciements | 6 |
| Introduction | 7 |
| I) Matériel et méthodes | 9 |
| 1) Le système d'étude : le mandrill et ses parasites | 9 |
| a) L'espèce hôte : le mandrill | 9 |
| 1) Des traits d'histoire de vie caractéristiques | 9 |
| 2) Populations d'étude | 11 |
| a) La colonie de mandrills semi-captive du Centre de Recherches Médicales de Franceville (CIRMF) | 11 |
| b) La colonie de mandrills réhabilités du Parc de la Lékédi à Bakoumba (Gabon) | 12 |
| b) Les espèces parasites | 13 |
| 2) Méthodes expérimentales | 14 |
| a) Suivi des parasites gastro-intestinaux | 14 |
| 1) Collecte non-invasive de matières fécales | 14 |
| 2) Examen coprologique | 16 |
| b) Suivi des hémoparasites et ectoparasites | 17 |
| 1) Echantillonnage | 17 |
| 2) Conservation et identification des ectoparasites | 17 |
| 3) Identification des hémoparasites | 17 |
| c) Les facteurs d'influence étudiés | 17 |
| 3) Création et gestion d'une base de données ACCESS | 18 |
| 4) Analyse de données | 20 |
| II) Résultats | 20 |
| 1) Parasites identifiés | 20 |
| a) Population CIRMF | 20 |
| 1) Parasites gastro-intestinaux | 20 |
| 2) Ectoparasites | 21 |
| 3) Hémoparasites | 21 |
| b) Colonie Bakoumba | 21 |
| 2) Facteurs de variations et facteurs de risque | 22 |
| a) Effet de la saison | 22 |
| 1) Effet de la saison et prévalences | 22 |
| 2) Effet de la saison et diversité parasitaire | 23 |
| 3) Effet de la saison et abondance | 23 |
| b) Effet de l'habitat | 23 |
| 1) Effet de l'habitat et prévalences | 23 |
| 2) Effet de l'habitat et abondance | 24 |
| 3) Effet de l'habitat sur la diversité | 24 |
| c) Effet de l'enclos | 25 |
| d) Effet du sexe | 25 |
| e) Effet de l'âge | 25 |
| 1) Effet de l'âge et parasites gastro-intestinaux | 25 |

| | |
|---|-----------|
| 2) Effet de l'âge et ectoparasites..... | 26 |
| 3) Effet de l'âge et hémoparasites | 27 |
| f) Effet du STLV | 27 |
| 1) Effet du STLV et parasites gastro-intestinaux..... | 27 |
| 2) Effet du STLV et hémoparasites | 28 |
| 3) Effet du STLV et ectoparasites | 29 |
| g) Effet du SIV | 29 |
| 1) Effet du SIV et parasites gastro-intestinaux | 29 |
| 2) Effet du SIV et hémoparasites | 29 |
| III) Discussion | 30 |
| Conclusion..... | 35 |
| Bibliographie..... | 36 |
| ANNEXE 1 : Méthodes d'analyses coprologiques | 41 |
| Flottation..... | 41 |
| 1) Objectifs et principe:..... | 41 |
| 2) Matériel:..... | 41 |
| 3) Solution saline..... | 41 |
| 4) Réalisation..... | 41 |
| Sédimentation..... | 42 |
| 1) Objectif et Principe | 42 |
| 2) Matériel..... | 42 |
| Coprocultures..... | 43 |
| 1) Objectif et principe..... | 43 |
| 3) Réalisation..... | 43 |
| ANNEXE 2 : méthodes pour recherche d'hémoparasites | 45 |
| Goutte épaisse..... | 45 |
| Frottis sanguins pour recherche de Plasmodium spp | 45 |
| Leucoconcentration pour recherche de filaires..... | 45 |
| Goutte épaisse pour identification des microfilaries..... | 46 |
| ANNEXE 3 : critères de différenciation des œufs de parasites | 46 |
| ANNEXE 4 : clés de différenciation des principaux protozoaires rencontrés chez les primates non humains | 49 |
| <i>Endolimax nana</i> | 49 |
| <i>Entamoeba histolytica</i> | 49 |
| <i>Giardia lamblia</i> | 49 |
| <i>Balantidium coli</i> | 49 |
| <i>Endolimax nana</i> | 50 |
| <i>Entamoeba histolytica</i> | 50 |
| <i>Giardia lamblia</i> | 50 |
| <i>Balantidium coli</i> | 50 |
| ANNEXE 5 : clés de différenciation des principales larves infestantes de nématodes | 51 |
| ANNEXE 6 : photos des œufs de parasites gastro-intestinaux retrouvés dans les fèces de la colonie du CIRMF..... | 52 |
| ANNEXE 7 : parasites et pathologies associées | 54 |

Remerciements

En tout premier lieu, je voudrais remercier infiniment ma maîtresse de stage, le Docteur Delphine Verrier, vétérinaire au Centre de Primatologie (CDP) du CIRMF, qui m'a proposé ce stage, formée, soutenue, aidée, et encadrée lors de mon stage, et qui voue un amour inconditionnel à nos mandrills !

Je remercie le CIRMF et son Directeur Général M. Jean Paul Gonzales, de m'avoir acceptée en stage, de m'avoir accueilli dans leur locaux et permis de travailler avec des scientifiques de talent.

Merci au Docteur vétérinaire Bettina Sallé de m'avoir accueillie et intégrée dans son équipe de vétérinaires du Centre de Primatologie du CIRMF, et m'avoir permis de réaliser cette étude.

Merci au Docteur vétérinaire Nina Jaffré et au Docteur vétérinaire Barthélémy Ngoubangoye pour leur soutien et la formation qu'ils m'ont dispensée tout au cours de mon stage concernant les soins des animaux et les techniques médicales et chirurgicales.

Un immense merci à toutes les personnes qui m'ont considérablement aidée lors de mon étude, notamment tous les animaliers du CDP, qui par leur travail et leur gentillesse, ont rendu mon séjour au CIRMF très agréable !

Un merci tout particulier à l'indispensable Rodrigue Aliéki, animalier au CDP, qui a travaillé sans relâche et sans compter ses efforts pour reconnaître les individus et récolter les fèces.

Un immense merci à Claude Ditsoga et Sylvère Mboumba, qui en plus de m'avoir accompagnée dans mes missions à Bakoumba et grandement aidé à la récolte des échantillons, ont su rendre l'ambiance du bureau très détendue !

Merci au Docteur Touré Fousseyni qui, outre son extrême gentillesse, a toujours été disponible et qui a confirmé certains des résultats, et au Docteur Ollomo qui a aidé au diagnostic des hémoparasites.

Mes remerciements vont également au service de rétrovirologie et à tous ses membres pour avoir réalisé les analyses sérologiques des mandrills du CDP sans lesquelles je n'aurais pas pu inclure l'influence des statuts rétrovirologiques à mon étude.

Merci à Odile Bain et Irène Landau pour m'avoir formée en techniques de laboratoires lors de mon passage au Muséum d'histoire naturelles de Paris, et pour m'avoir toujours aidée dès que je requerrais leur appui.

Merci à M. Ducos de Lahitte et M. Jacquiet, professeurs de parasitologie à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse (ENVT), pour m'avoir aidé à l'élaboration du protocole et à l'identification des différents parasites.

Merci énormément à M. Juanes, professeur de bases de données au CIRAD, à Montpellier, pour m'avoir énormément appuyé lors de la confection de ma base de données, et ce toujours de façon immédiate !

Merci également à M. Messad, professeur de statistiques, qui s'est penché sur mes données et m'a considérablement aidé !

Merci à tous mes professeurs de master sans qui je n'aurais pas eu les compétences pour réaliser ce stage.

Introduction

Les parasites représentent une part importante du monde vivant. Cependant, du fait des difficultés d'observation sur le terrain et de la complexité des interactions entre hôtes et parasites, l'écologie et la biologie des populations de ces organismes restent très peu connues. Comprendre le fonctionnement des populations de parasites et de leurs hôtes au sein des écosystèmes est pourtant crucial, tant dans le but de décrypter l'épidémiologie de maladies d'importance médicale que dans le cadre de la recherche fondamentale s'intéressant, par exemple, aux mécanismes d'évolution de la virulence et de la résistance des hôtes (GEMI) (Laboratoire Génétique et Evolution des Maladies Infectieuses (CNRS-IRD)).

Par ailleurs, à l'heure où tous les écosystèmes de la planète subissent l'influence plus ou moins directe des activités anthropiques (*i.e.* destruction de l'habitat, dérangement, introduction d'animaux domestiques, déforestation, braconnage, pollution, changements climatiques globaux), la biodiversité mondiale est fortement menacée (Nogue S. et al., 2006; Senior K., 2008; Ostfeld R. S., 2009). Dans ce cadre, la précarité de l'équilibre des interactions hôtes-parasites fait des parasites de bons marqueurs de l'état de santé des écosystèmes et de la dynamique de la biodiversité dans des environnements changeants (Altizer S. et al., 2007; Lebarbenchon C. et al., 2008). Par exemple, l'étude de l'épidémiologie des infestations parasitaires de la faune sauvage a déjà permis d'évaluer les conséquences délétères des perturbations humaines, telles que la déforestation et la fragmentation de l'habitat résultant, sur les écosystèmes menacés (Weyher A. H. et al., 2006; Goldberg T.L. et al., 2008). Il a notamment été démontré que les prévalences, la diversité parasitaire et le risque d'infestation étaient plus élevés chez des espèces hôtes habitant des forêts où l'index de dégradation et de présence humaine était fort, par rapport à des fragments de forêt moins exploités (Gillespie T. R. and Chapman C. A., 2006, 2008). De même, les primates sauvages menacés d'extinction présenteraient une diversité parasitaire moindre comparée à celle des espèces de primates non menacées (Altizer S. et al., 2007). De plus, en médecine de conservation, l'introduction de pathogènes nouveaux ou plus résistants lors de réintroduction d'individus captifs dans un écosystème sauvage peuvent amener le développement de pathologies inconnues de la faune sauvage et sont donc à proscrire. Mieux appréhender les interactions entre activités humaines, parasitisme et biodiversité est ainsi essentiel pour la mise en place de programmes efficaces de conservation de la biodiversité au sein des écosystèmes modifiés et l'adoption de modes de gestion raisonnés de ces écosystèmes (GEMI).

Les primates non humains (PNH) sont les hôtes d'une variété considérable de parasites (Appleton C. C. et al., 1994; Gillespie T. R. et al., 2004, 2005; Bezjian M. et al., 2008). Susceptibles d'avoir un effet délétère sur la santé (Hennessy A. et al., 1994) et le succès reproducteur des individus et, par ailleurs, potentiellement pathogènes chez l'Homme (Friedenberg F. et al., 1999; Ziem J. B. et al., 2005; Rivasi F. et al., 2006), les parasites de PNH posent à la fois un problème majeur de conservation et de santé publique. En effet, les parasites infectant de multiples hôtes sont impliqués dans l'émergence de nouvelles maladies ; or, plus d'une centaine d'espèces de parasites ont été répertoriés comme partagés par les PNH et l'Homme et un grand nombre de ces parasites communs à l'Homme et aux PNH sont classés comme pathogènes responsables de maladie émergentes dans l'espèce humaine (ébola, trypanosomiase, tuberculose, hépatites, *Plasmodium falciparum*...) (CNRS Fagherazzi-Pagel H., 2009). De plus, il a été démontré que les maladies infectieuses sont partagées le plus souvent par des espèces phylogénétiquement proches et partageant le même habitat (Davies T.

J. and Pedersen A. B., 2008). Ainsi, la relation phylogénétique étroite entre PNH et Homme tend à faciliter les échanges de pathogènes entre ces deux groupes (Gillespie T. R. et al., 2008). Ces parasites « échangés » peuvent occasionner de forts problèmes de santé chez l'Homme, d'autant plus en cas de syndromes d'immunodéficience (Muriuki S. M. K. et al., 1998; Hirata, 2006).

De même, du fait que les pathogènes humains soient inconnus du système immunitaire des primates non humains, l'introduction d'un pathogène humain chez les populations de PNH peut avoir des conséquences désastreuses chez ces populations ; en effet, plusieurs cas de transmission humaine à des animaux en captivité ont été documentés, et selon les cas, ont sérieusement affecté la santé de l'animal jusqu'à être responsable de leur mort (Homsy J., 1999). De même, des épidémies de pathologies respiratoires dans des groupes de chimpanzés attribuées à des virus humains compliquées de bactéries humaines ont été rapportées (Kondgen S. et al., 2008), ce qui prouve la sensibilité des PNH aux pathogènes humains, même bénins chez l'homme.

Ainsi, il paraît primordial d'acquérir de plus amples connaissances sur les infestations parasitaires au sein de ce système primate, en mettant en évidence les parasites présents, et en étudiant la prévalence, la diversité et l'abondance parasitaire au sein des populations hôtes. Cela prouve la nécessité supplémentaire d'identifier les facteurs de risque des infestations parasitaires, et la dynamique des populations parasitaires au sein et entre populations hôtes. Ces données pourront alors être utilisées afin de définir les mesures à adopter pour aider à la conservation des PNH (diminution des contacts avec l'homme, gestion intégrée du risque zoonotique, gestion des infestations parasitaires), ainsi qu'à la gestion de la santé publique (connaissance des réels risques en présence et adaptation des mesures de sécurité).

Dans le cadre de cette problématique, nous proposons une étude approfondie de l'épidémiologie des infestations parasitaires chez une espèce de PNH africain, le mandrill (*Mandrillus sphinx*), au Gabon. Le mandrill est endémique des forêts denses du Bassin du Congo (sud Cameroun, Gabon, Guinée Equatoriale et nord Congo) où il vit en larges hordes multimâles-multifemelles comptant jusqu'à 800-1000 individus (Abernethy K. A. et al., 2002). Bien que classé espèce vulnérable (UICN, 2009) et listé sur l'Annexe 1 de la Convention de Washington, il reste fortement chassé dans son aire de répartition. Or, les mandrills sont les hôtes avérés d'une communauté d'agents pathogènes transmissibles englobant différents types de parasites et rétrovirus (Souquiere S. et al., 2001; Calattini S. et al., 2004; Makuwa M. et al., 2004; Setchell J. M. et al., 2007). Le risque zoonotique lié à ses différents pathogènes reste cependant mal évalué. Pourtant, au vu des forts taux de séroprévalence en SIV (Simian Immunodeficiency virus) et STLV (Simian T-Lymphotropic Virus) relevés chez les animaux sauvages (respectivement 50-80% et 27%) (Souquiere S. et al., 2001; Makuwa M. et al., 2004), et les cas de transmission de SIV et STLV du mandrill à l'Homme observés, les mandrills sont un exemple du potentiel risque zoonotique que les PNH peuvent représenter pour les populations locales, comme le prouve l'émergence d'un nouveau HTLV recombinant récemment retrouvé chez les chasseurs africains de gibier de brousse (Wolfe N. D. et al., 2005).

Au vu des spécificités du système hôte-parasites étudié ici qui en font un modèle adéquat pour l'étude de leurs interactions, nous avons étudié les infestations parasitaires au sein de deux colonies de mandrills ; la colonie semi-captive du CIRMF regroupant près de 200 individus dans un enclos forestier de 11 ha et un groupe d'une soixantaine d'individus réhabilités en milieu naturel dans le parc de La Lékédi (Bakoumba, Gabon). Les parasites présents ont été détectés et dénombrés grâce à la méthode de coproscopie quantitative de Mac

Master pour les parasites gastro-intestinaux et grâce à la technique de la goutte épaisse pour les hémoparasites. Les analyses de la prévalence (ratio d'individus infestés au sein d'une population sur la population d'animaux échantillonnée), de la diversité (nombre de types de parasites différents hébergés par un même animal) et de l'abondance (nombre de parasites du même type présents chez un animal) des divers parasites identifiés ont ensuite été effectuées de façon à mettre en évidence les potentiels facteurs de risque, comme les facteurs environnementaux (saison, habitat), sociaux (densité des groupes), éco-physiologiques (âge, sexe) et sanitaires (sérologie SIV et STLV). Nous discuterons ensuite de la pertinence des résultats obtenus et des implications pratiques et théoriques de cette étude.

I) Matériel et méthodes

1) Le système d'étude : le mandrill et ses parasites

a) L'espèce hôte : le mandrill

Le mandrill (*Mandrillus sphinx*) appartient à l'Ordre des Primates, à la Famille des *Cercopithecidae* et sous-Famille des *Cercopithecinae*, et au Genre *Mandrillus*.

1) Des traits d'histoire de vie caractéristiques

De par son écologie et ses traits d'histoire de vie, le mandrill apparaît comme un modèle pertinent pour explorer les mécanismes et facteurs de susceptibilité aux parasites : sa longévité, son extrême socialité, la structure sociale de ses populations très hiérarchisée, son régime alimentaire, le développement de caractères sexuels secondaires coûteux en énergie, et sa reproduction saisonnière, notamment, en font un modèle adéquat pour l'étude des paramètres influençant les infestations parasitaires.

Espèce nomade, hautement sociale et hiérarchisée, le mandrill vit en larges groupes multimâles-multifemelles, regroupant plusieurs centaines d'individus, au cœur des forêts tropicales denses d'Afrique Centrale (Abernethy K. A. et al., 2002). Cette socialité peut fortement influencer le niveau d'infestation parasitaire et la dynamique des populations d'espèces parasites au sein des populations hôtes (Vitone N. D. et al., 2004) ; par exemple, l'hétéro grooming pratiqué par les espèces sociales permet de diminuer la présence des ectoparasites, mais pourrait favoriser les échanges de parasites gastro intestinaux par voie orale-fécale. Par ailleurs, son mode de déplacement en quadrupédie sur le sol et son régime alimentaire (fruits, graines, feuilles, champignons, petits invertébrés et mammifères) (Rogers M. E. et al., 1996) le conduit à fouiller le sol à la recherche de nourriture, augmentant la probabilité de contact avec les parasites présents dans le sol.

Fortement polygyne et au dimorphisme sexuel marqué, il se distingue des autres espèces de primates anthropoïdes par des caractères sexuels secondaires extrêmement développés (Darwin C., 1871). Les mâles sexuellement matures présentent des colorations intenses de la face et des parties génitales, d'impressionnantes canines et une forte corpulence (Setchell J. M. and Dixon A. F., 2001) (Figure1).



Figure 1: mandrill mâle adulte dominant

Outre leur coloration faciale, les femelles développent quant à elles d'importantes intumescences des muqueuses ano-génitales au cours du cycle sexuel, supposées attirer les mâles reproducteurs et leur signaler le timing de l'ovulation (Setchell J. M. and Dixson A. F., 2001). L'expression des caractères sexuels secondaires extrêmes varie de façon marquée entre individus, entre autres en fonction de l'âge et du rang de dominance et devient paroxystique au cours de la saison de reproduction de mai à octobre (Setchell J. M. and Wickings E. J., 2005).

Les femelles se reproduisent en moyenne tous les ans et donnent naissance à un unique petit (Setchell J. M. et al., 2005). La saison de reproduction (correspondant à la saison sèche) se situe de juillet à octobre, août étant le mois médian d'ovulation. La gestation étant de 175 jours (Setchell J. M. et al., 2002), la majorité des naissances s'effectue entre janvier et avril (Setchell JM, 2004), durant la saison humide (novembre-mai).

Les femelles arrivent à maturité sexuelle en moyenne à l'âge de 3.6 ans (Setchell J.M., 2004) mais atteignent leur poids et dentition adultes seulement vers 7 ans (Setchell J. M. et al., 2001) et vivent environ 22 ans (Setchell J. M. et al., 2005).

Les mâles deviennent sexuellement développés à l'âge de 5,5 ans mais atteignent leur taille adulte et le développement des caractères sexuels secondaires à l'âge de 9 ans (Setchell J. M. and Dixson A. F., 2002). Ils vivent environ 14 ans (plus ou moins 1 an) (Setchell J. M. et al., 2005), mais n'expérimentent leur premier épisode de reproduction qu'à 11,4 ans en moyenne (Setchell J. M. et al., 2005) du fait de la compétition exercée par les mâles dominants pour l'accès aux femelles. En effet, pendant la période de reproduction, les groupes se rassemblent pour chercher à se reproduire et peuvent alors atteindre plusieurs centaines d'individus (avec une moyenne de 620 individus jusqu'à 845 observés à la Lopé, Gabon) (Abernethy K. A. et al., 2002). De ce fait, une intense compétition entre les mâles pour l'accès aux femelles fertiles génère un stress social et énergétique important au sein des populations (Setchell J. M. et al., 2005).

Il est probable que ces fortes contraintes socio-écologiques aient résulté en un compromis évolutif entre investissement reproducteur et immunité chez cette espèce (Sheldon B.C. and Verlust S., 1996; Lochmiller R.L. and Deerenberg C., 2000). L'énergie disponible de l'individu doit en effet se répartir entre autres entre l'immunité et la reproduction ; en saison de reproduction, il est probable que la part de l'énergie attribuée à l'immunité soit redistribuée au compartiment de la reproduction et que l'immunité de l'individu soit négligée par rapport à la fonction de reproduction. D'autres facteurs environnementaux et physiologiques tels que la saisonnalité, l'âge et le sexe sont aussi susceptibles de moduler le système immunitaire des

individus de façon significative et par conséquent leur degré de susceptibilité aux maladies infectieuses (Zuk M. and McKean K.A., 1996; Nelson R.J., 2004; Altizer S. et al., 2006). Du fait des caractéristiques de l'histoire de vie du mandrill, nous avons défini plusieurs classes d'âge (Tableau 1).

Tableau 1: classes d'âges des mandrills

| | Petits | Juveniles | Adolescents | Adultes | Sénescents |
|-----------------|---------------|--------------------|---------------------|----------------------|-------------------|
| Femelles | Age < 1an | 1 an < Age < 4 ans | 4 ans < Age < 8 ans | 8 ans < Age < 20 ans | Age > 20 ans |
| Mâles | Age < 1an | 1 an < Age < 4 ans | 4 ans < Age < 8 ans | 8 ans < Age < 15 ans | Age > 15 ans |

Ainsi, des facteurs tels que le stress lié à la fonction de reproduction pendant la saison sèche, l'augmentation de la taille de groupe et donc de la densité en animaux (Chapman C. A. et al., 2005), les modifications physiologiques dues à l'âge et les allocations d'énergie aux diverses fonctions physiologiques, différentes selon le sexe, peuvent être mis en jeu dans la dynamique des infestations parasitaires chez le mandrill. Cette espèce est donc un modèle adéquat afin d'étudier l'influence de ces facteurs.

2) Populations d'étude

Pour permettre une approche comparative et de mesurer les effets de l'environnement sur la composition et la dynamique du cortège pathogénique des hôtes, notre étude a été effectuée sur deux populations de mandrills distinctes, soumises à des contraintes socio-écologiques différentes (semi-captivité *versus* état sauvage après réhabilitation en milieu naturel).

a) La colonie de mandrills semi-captive du Centre de Recherches Médicales de Franceville (CIRMF)

La première population d'étude est une colonie composée de 200 mandrills hébergés en semi-liberté au sein d'un enclos forestier d'une superficie totale de 11,5 ha, sur la propriété du CIRMF à Franceville (Gabon). Cette colonie a été créée en 1983 avec l'introduction de 15 individus fondateurs (7 mâles et 8 femelles). Aucune autre introduction d'animaux n'a été effectuée par la suite, et cette colonie ne s'est renouvelée que par les naissances internes. En 1994, la population de mandrills semi captifs du CIRMF a été scindée en deux groupes distincts afin de séparer les individus naturellement infectés par les virus SIV et STLV originellement introduits par les fondateurs, et les animaux sains (Nerrienet E. et al., 1998). Deux enclos ont donc été créés : un enclos « sain » (E1) d'une superficie de 6,5 ha et un enclos « infecté » (E2) d'une superficie de 3,5 ha. Un troisième enclos (E3) d'environ 1,5 ha a ensuite été créé en 2000, regroupant des animaux issus de divers protocoles de recherche biomédicale.

Depuis sa création, cette colonie fait l'objet d'un suivi démographique et épidémiologique à long terme. Tous les animaux sont identifiés par tatouage et boucle auriculaire. Les données relatives à l'histoire de vie (date de naissance, sexe, nombre et caractéristiques des descendants, données morphométriques, longévité), la génétique (pedigree : connaissance des lignées paternelle et maternelle), l'historique médical (pathologies, trauma, diagnostics parasitaires, bilans sanguins) et le statut sérologique (SIV,

STLV, SFV (Simian Foamy Virus)) des individus, consignées dans la base de données « PRIMATES CDP », sont disponibles pour chacun des animaux nés au sein de cette colonie depuis 1983 (près de 400, début 2009). Chaque année a lieu un contrôle sanitaire de tous les individus du centre, au cours duquel tous les animaux sont anesthésiés et examinés pour recherche de pathologies, suivi de la reproduction, identification des nouveaux nés, et prélèvements divers pour un bilan global de santé (statut rétroviral, recherche de microfilaries, données hématologiques et biochimiques...).

Au début de cette étude (mars 2009), cette colonie était composée de 179 animaux (74 mâles et 105 femelles), répartis sur les trois enclos (Tableau 2) :

- l'enclos 1 comprenait 47 femelles et 26 mâles sains (*ie* non infectés en SIV et STLV) avec une densité de 11,2 animaux par ha,
- l'enclos 2 comprenait 40 femelles et 38 mâles répartis en individus sains et individus naturellement infectés SIV et/ou STLV, avec une densité de 22,3 animaux par ha,
- l'enclos 3 comprenait des individus infectés expérimentalement issus de différents protocoles (18 femelles et 10 mâles) avec une densité de 19,3 animaux par ha.

Tableau 2: répartition des mandrills au sein de la colonie du CIRMF

| | | E1 | E2 | E3 | Total |
|-----------------|--------------------|-----------|-----------|-----------|--------------|
| femelles | juvéniles | 14 | 6 | 0 | 20 |
| | adolescents | 14 | 14 | 6 | 34 |
| | adultes | 14 | 17 | 10 | 41 |
| | sénescents | 5 | 3 | 2 | 10 |
| | total | 47 | 40 | 18 | 105 |
| mâles | juvéniles | 11 | 6 | 1 | 18 |
| | adolescents | 13 | 12 | 2 | 27 |
| | adultes | 2 | 15 | 4 | 21 |
| | sénescents | 0 | 5 | 3 | 8 |
| | total | 26 | 38 | 10 | 74 |
| TOTAL | | 73 | 78 | 28 | 179 |

Les mandrills de cette colonie semi-captive ont un minimum de contact avec les animaliers, vétérinaires ou chercheurs. Ils se nourrissent naturellement à l'intérieur des enclos et reçoivent un complément journalier de fruits et de gâteaux à base de tourteau de soja comme complément protéique. Le complément alimentaire est distribué bi-quotidiennement (vers 9h et 15h) dans des zones de nourrissage grillagées en dur, accessibles aux animaux des enclos. Le sol est nettoyé quotidiennement avant d'y déposer les aliments. Un approvisionnement en eau est disponible avec des pipettes tout autour de l'enclos. Un traitement antiparasitaire (Ivermectine 400 microgrammes/kg) avait été administré aux animaux un an avant le début de l'étude pour les enclos 1 et 2, et 5 mois avant le début de l'étude pour l'enclos 3.

b) La colonie de mandrills réhabilités du Parc de la Lékédi à Bakoumba (Gabon)

La deuxième population d'étude est un groupe d'environ 60 individus réhabilités en milieu naturel (Parc de la Lékédi, Bakoumba, Gabon), en contact permanent avec des

mandrills sauvages et donc exposé à un cortège pathogénique différent et certainement plus diversifié que la population semi-captive du CIRMF.

Ce parc, situé à 100 km de Franceville, est constitué de 3 modules (module 1 : 650 ha, module 2 : 1 750 ha, module 3 : 11 600 ha) dont le paysage est une mosaïque de savane et de galeries forestières denses.

Le groupe a été constitué en 2002 à partir de deux relâchés successifs de mandrills SIV- et STLV- de la colonie du CIRMF : 36 mandrills en 2002 (Peignot P. et al., 2008), et 20 en 2005. Ce groupe a été rejoint par quelques mandrills sauvages et seuls 29 mandrills sont encore identifiés par tatouage et/ou boucle auriculaire. Trois femelles adultes sont équipées de colliers émetteurs VHF, permettant de localiser le groupe à la demande par radio-téléométrie. Cependant, du fait de leur accessibilité réduite et de l'arrêt des projets de recherche les concernant, ce groupe n'est que très peu suivi depuis 2003 et ne fait pas l'objet de suivi vétérinaire, ni de traitement médical. Ils se nourrissent principalement de façon naturelle et ne reçoivent qu'un apport complémentaire occasionnel de gâteaux à base de tourteau de soja. Peu de données sont donc disponibles concernant l'histoire de vie des individus (âge, identité génétique...) et concernant l'état sanitaire des individus (manque de données en statuts rétrovirologiques...), contrairement à la colonie du CIRMF.

b) Les espèces parasites

Les précédentes études portant sur les parasites gastro-intestinaux des mandrills avaient identifié *Oesophagostomum spp*, *Ancylostoma spp*, *Trichostrongylus spp*, *Strongyloides spp*, *Trichuris spp*, *Mammomonogamus spp*, plusieurs protozoaires et quelques trématodes et cestodes (Allela N.L., 2005; Setchell J. M. et al., 2007).

Les caractères de description, biologie, hôtes, cycle, pathogénicité et symptomatologie de ces parasites gastro-intestinaux sont décrits en annexe (Annexe 7 : (Johnstone C., 2000; WVC, 2009),(Krief S. et al., 2008), (Earthtym, 2009; parasitologie, 2009),(CDC, 2009b; MERCK, 2009) (Viney M. E. , 2009; Remfry J., 1978), (CDC, 2009a; CNRS, 2009), (Hennessy A. et al., 1994), (Coatney, 1971), (Sallé B., 2006)).

De plus, bien qu'aucun hémoparasite n'ait été décrit chez le mandrill, leur présence chez le mandrill nous a semblé probable. En effet, plusieurs espèces de *Plasmodium spp* ont été décrites chez les PNH : *Plasmodium inui*, *Plasmodium cynomolgi*, *Plasmodium knowlesi*, *Plasmodium gonderi*, *P.schwetsi (P.ovale)*, *P. rodhaini (P. malariae)*, *P.simium*, *Plasmodium brasilianum* (Amérique du Sud) et *Plasmodium pitheci* (Asie) (Coatney, 1971) et *P. schwetzi*, *P. reichenowi*, et *P. gonderi*, retrouvés chez les primates non humains africains, sont les plus susceptibles d'être présents chez le mandrill. Les principales caractéristiques de *Plasmodium spp* sont présentées en annexe (ANNEXE 7). Bien que plus de 10% de PNH aient été retrouvés infectés en Guyane Française par *P. brasilianum* chez les primates sauvages (de Thoisy B. et al., 2000; Fandeur T. et al., 2000), la prévalence chez les primates de l'ancien monde est peu connue. De même, chez les babouins, il n'est pas rare d'observer *Hepatocystis spp*, un hémopathogène ressemblant à *Plasmodium spp*.

Par ailleurs, des microfilaires sanguicoles (*Brugia malayi*, *Dirofilaria*), présentes chez les Cercopithèques (Euzéby J., 1981) pourraient être détectées. Il ne serait donc pas surprenant de retrouver des hémoparasites chez les mandrills

Enfin, bien que les PNH n'hébergent que rarement des ectoparasites, des cas ont été rapportés concernant des symptômes de pédiculoses (Ronald N. C. and Wagner J. E., 1973;

Cohn D. L. et al., 2007) et plusieurs espèces de poux ont été répertoriées chez les PNH (Reed, 2007). Ainsi, les poux faisaient partie des parasites que nous nous attendions à retrouver.

D'autre part, le mandrill héberge de façon naturelle deux sortes de rétrovirus : le SIV (Simian Immunodeficiency Virus) (Souquiere S. et al., 2001) et le STLV (Simian T-lymphotropic Virus); l'infection naturelle au SIV des primates non humains africains est généralement asymptomatique (Silvestri G. et al., 2007), même si elle peut induire une diminution modérée et transitoire des cellules T CD4 + chez le mandrill (Gordon S.). Au contraire du portage quasi sain du SIV, le STLV induit des lymphomes spontanés et des leucémies sur les primates non humains comme les macaques, babouins, chimpanzés et vervets, depuis plus de 20 ans (Allan, 2001).

De plus, chez l'homme, l'infection au HTLV a déjà été démontrée comme associée à des taux d'infestations plus élevés chez les patients infectés que chez les patients sains et/ou à des pathologies inhabituelles (Friedenberg F. et al., 1999; Hirata, 2006). Par ailleurs, l'infection à HIV a été retrouvée corrélée à une susceptibilité plus importante à l'agent du paludisme en Afrique ; de même, les patients impaludés présentaient une augmentation de la charge virale en HIV, permettant ainsi une transmission significativement augmentée du virus (Abu-Raddad L.J., 2006; Reithinger R. et al., 2009).

Ainsi, les virus HIV et HTLV sont associés avec les infestations parasitaires et les virus STLV et SIV pourraient donc suivre le même schéma et être corrélés avec les infestations parasitaires. Les rétrovirus STLV et SIV représentent ainsi un paramètre à prendre en compte dans l'étude des facteurs de risque.

2) Méthodes expérimentales

a) Suivi des parasites gastro-intestinaux

Les parasites gastro-intestinaux adultes situés dans le tractus digestif émettent des œufs, qui, éliminés dans les fèces de l'animal, rendent possible la détection des espèces parasitaires présentes, leur identification et leur quantification. Ainsi, la collecte et l'analyse des fèces fraîchement émises permet d'évaluer les parasites présents, et d'estimer leur nombre.

1) Collecte non-invasive de matières fécales

Afin d'obtenir une estimation la plus fiable possible de la présence/absence et de la diversité des parasites, il a été suggéré que 3 à 4 échantillons devraient être collectés par individu sur des jours non consécutifs (Muehlenbein M. P., 2005). Pour cette étude, notre objectif a donc été de récolter 3 fèces par individu et par mois, dans la mesure du possible.

Au sein de la colonie CIRMF, 308 échantillons fécaux ont pu être collectés : un total de 175 échantillons en saison humide (mars-avril 2009) sur 101 animaux prélevés en série (Tableau 3) et un total de 114 échantillons en saison sèche (juillet 2009) sur 79 animaux prélevés en série (Tableau 4).

Tableau 3: échantillons de la colonie du CIRMF prélevés en saison humide

| | | E1 | E2 | E3 | Total |
|-----------------|--------------------|-----------|-----------|-----------|--------------|
| femelles | juvéniles | 4 | 0 | 0 | 4 |
| | adolescents | 8 | 11 | 1 | 20 |
| | adultes | 12 | 5 | 1 | 18 |
| | sénescents | 3 | 1 | 0 | 4 |
| | total | 27 | 17 | 2 | 46 |
| mâles | juvéniles | 6 | 1 | 0 | 7 |
| | adolescents | 11 | 11 | 0 | 22 |
| | adultes | 2 | 13 | 4 | 19 |
| | sénescents | 0 | 5 | 2 | 7 |
| | total | 19 | 30 | 6 | 55 |
| TOTAL | | 46 | 47 | 8 | 101 |

Tableau 4: échantillons de la colonie du CIRMF prélevés en saison sèche

| | | E1 | E2 | E3 | Total |
|-----------------|--------------------|-----------|-----------|-----------|--------------|
| femelles | juvéniles | 3 | 0 | 0 | 3 |
| | adolescents | 6 | 4 | 1 | 11 |
| | adultes | 7 | 5 | 5 | 17 |
| | sénescents | 1 | 2 | 0 | 3 |
| | total | 17 | 13 | 6 | 36 |
| mâles | juvéniles | 8 | 0 | 0 | 8 |
| | adolescents | 10 | 10 | 0 | 20 |
| | adultes | 1 | 12 | 2 | 15 |
| | sénescents | 0 | 2 | 0 | 2 |
| | total | 19 | 24 | 2 | 45 |
| TOTAL | | 36 | 35 | 8 | 79 |

Pour la colonie du CIRMF, les échantillons de fèces ont été collectés soit lors du contrôle sanitaire annuel réalisé en avril 2009, par récolte directe des matières fécales dans le rectum des animaux anesthésiés, soit après défécation naturelle des individus venus s'alimenter en zone de nourrissage des enclos. Les individus étaient attirés dans les zones de nourrissage, aux heures de nourrissage (entre 10h et 12h), et enfermés dans cette zone. Ils étaient reconnus grâce aux boucles de couleur et taille différentes posées aux oreilles, spécifiques de chaque individu, et grâce aux tatouages sur la face interne des cuisses (Figure 2). Les défécations étaient notées, localisées et identifiées, et les fèces prélevés grâce à des pots à coprologie. Les échantillons étaient ensuite conservés au frigo pendant 48 h maximum pour permettre une analyse directe quantitative.



Figure 2: mandrill femelle identifiée grâce à une boucle auriculaire

Pour la colonie de Bakoumba, la récolte des échantillons s'est effectuée lors de deux missions, du 1^{er} au 17 Juillet 2009. Un total de 29 échantillons a été prélevé. Le groupe de mandrills était repéré et localisé par radio-télémetrie puis suivi dans l'attente d'émission de fèces. Les défécations étaient repérées et notées, avec l'identification précise de l'animal ou, à défaut, le sexe et la catégorie d'âge de l'individu. Les fèces étaient prélevés dans des pots à coprologie, conservés au frigo et analysés dans les 24-60 heures suivant défécation.

2) Examen coprologique

Afin de déterminer le type et le nombre de parasites présents dans les fèces, nous avons opté pour la méthode de coproscopie directe. Nous avons pour cela utilisé des méthodes standards (Gillespie T. R. et al., 2008; FAO, 2009) détaillées en ANNEXE 1 :

- La méthode de flottation avec dénombrement sur cellule de Mac master pour identification et quantification des œufs de nématodes présents. Pour identifier les œufs de parasites présents, les critères présentés dans l' ANNEXE 3 ont été utilisés (Euzéby J., 1981; Atlas, 2009)
- La méthode de sédimentation pour identification des œufs de trématodes et kystes de protozoaires (ANNEXE 4) (Euzéby J., 1981; Atlas, 2009)
- Des coprocultures afin de différencier les larves infestantes de *Trichostrongylus spp*, *Oesophagostomum spp*, *Ankylostoma spp* et *Strongyloides spp*. Les critères de différenciations des larves infestantes utilisés sont présentés en ANNEXE 5 (FAO, 1994; Gauthier A., 2005)

b) Suivi des hémoparasites et ectoparasites

1) Echantillonnage

Seuls les mandrills du CIRMF ont pu être échantillonnés pour le suivi des hémoparasites et ectoparasites au cours du contrôle sanitaire annuel 2009. Lors de ce contrôle sanitaire, les mandrills capturés et anesthésiés dans les zones de nourrissage des enclos par télé-anesthésie (kétamine à 1 mg / 10 kg) étaient soumis à un examen clinique complet. Au cours de cet examen, le pelage des individus était examiné avec soin afin de détecter la présence d'éventuel ectoparasite (poux, tiques, acariens). Des prélèvements sanguins étaient effectués à la veine fémorale. Le sang collecté sur anticoagulant EDTA a pu être utilisé pour la recherche d'hémoparasites chez les individus prélevés.

2) Conservation et identification des ectoparasites

Les ectoparasites détectés au cours de l'examen clinique étaient prélevés et conservés dans du formol et/ou de l'alcool à 90°. Les ectoparasites ont été par la suite identifiés par diagnose différentielle sur critères morphologiques.

3) Identification des hémoparasites

Afin de déterminer la prévalence et l'abondance des hémoparasites chez nos animaux d'étude, des gouttes épaisses et des frottis sanguins ont été réalisés (ANNEXE 2) (sémiologie) pour chaque individu prélevé en sang EDTA.

En effet, la goutte épaisse consiste à déposer une goutte importante de sang sur une lame, et à lyser les hématies afin d'en libérer les parasites. Cette méthode permet donc une concentration de parasite plus importante que le frottis sanguin, et donc une détection plus sensible (essentielle au vu des faibles parasitémies des PNH), mais n'est pas assez précise pour permettre l'identification de l'espèce. C'est pourquoi on utilise en complément un frottis sanguin, ou étalement d'une fine couche de sang sur une lame, qui diminue la sensibilité mais permet l'identification de l'espèce parasite éventuellement retrouvée grâce à des caractères morphologiques spécifiques. De même, étant donné la faible prévalence attendue en microfilaires sanguicoles, la technique de leucoconcentration, basée sur la concentration et l'extraction des microfilaires retrouvées dans le plasma, a été choisie. Leur identification sera alors effectuée par un spécialiste, sur goutte épaisse.

c) Les facteurs d'influence étudiés

Les variables susceptibles d'avoir une influence sur la dynamique des parasites au sein des populations de mandrills (cf partie I-1-a-1) ont également été suivies, de façon concomitante avec le suivi des infestations parasitaires ; les données physiologiques (âge, sexe...) sont issues de la base de données du Centre de Primatologie, et proviennent des contrôles sanitaires annuels et des renseignements issus d'observations journalières des mandrills des enclos par les vétérinaires du centre, visant à détecter et noter les dates de naissance, les rangs de dominance, l'état sanitaire des individus et leur statut reproducteur (intumescence, gestation...).

Les données concernant le statut rétroviral des individus sont quant à elles issues des analyses menées par le laboratoire de rétrovirologie du CIRMF sur les prélèvements sanguins réalisés lors du contrôle sanitaire 2009, dont les sera ont été analysés grâce aux kits *SERODIA*® -

HIV(Fujirebio Inc., Tokyo, Japon) et SERODIA®HTLV-I (Fujirebio Inc., Tokyo, Japon) détectant les anticorps respectivement anti- HIV-1 et anti- HTLV-I.

3) Création et gestion d'une base de données ACCESS

Une base de données ACCESS a été créée, visant à répertorier les analyses réalisées par animal et leurs résultats. La table « T_Animal » comportant les données des animaux (numéro d'immatriculation, date de naissance, sexe, adresse) a été créée à partir de la base de donnée du CDP. La table « T_statut infectieux » répertorie le statut des individus en SIV et STLV (positif ou négatif). La table « T_coproscopie » répertorie les analyses des fèces, avec pour chaque animal et pour chaque date, le(s) type(s) de parasite(s) retrouvé(s) et le nombre d'œufs dans les fèces en flottation et en sédimentation (Figure 3).

| N° fiche | ID mandrill | date prélèvement | date analyse | type parasite | nb œuf flottation | nb larve flottation | nb œuf/kystes sédim | nb larve/trophozoïte | sédimentation réalisée |
|----------|-------------|------------------|--------------|---------------------|-------------------|---------------------|---------------------|----------------------|-------------------------------------|
| 1576 | MD10 | 31/03/2009 | 31/03/2009 | Oesophagostomum | 0 | 13 | 0 | 3 | <input checked="" type="checkbox"/> |
| 875 | MD10A1D | 26/03/2009 | 26/03/2009 | Oesophagostomum | 3 | 0 | | | <input checked="" type="checkbox"/> |
| 876 | MD10A1D | 26/03/2009 | 26/03/2009 | Ancylostoma | 3 | 0 | | | <input checked="" type="checkbox"/> |
| 877 | MD10A1D | 26/03/2009 | 26/03/2009 | Strongles spp | 0 | 0 | 1 | | <input checked="" type="checkbox"/> |
| 878 | MD10A1D | 26/03/2009 | 26/03/2009 | Trichostrongyloides | 2 | 0 | | | <input checked="" type="checkbox"/> |
| 22 | MD10D | 19/03/2009 | 19/03/2009 | Strongles spp | 7 | 0 | | | <input type="checkbox"/> |
| 24 | MD10D | 19/03/2009 | 19/03/2009 | Strongyloides | 1 | 0 | | | <input type="checkbox"/> |
| 27 | MD10D | 19/03/2009 | 19/03/2009 | Trichuris | 57 | 0 | | | <input type="checkbox"/> |
| 29 | MD10D | 19/03/2009 | 19/03/2009 | Hymenolepsis spp | 8 | 0 | | | <input type="checkbox"/> |
| 31 | MD10D | 19/03/2009 | 19/03/2009 | Dicrocoelidés | 1 | 0 | | | <input type="checkbox"/> |
| 1502 | MD10D | 08/04/2009 | 08/04/2009 | | 0 | 0 | 0 | | <input checked="" type="checkbox"/> |
| 1573 | MD10D | 14/04/2009 | 14/04/2009 | Trichuris | 2 | 0 | 0 | | <input checked="" type="checkbox"/> |
| 1578 | MD10D | 14/04/2009 | 14/04/2009 | Balantidium coli | 0 | 1 | 0 | | <input checked="" type="checkbox"/> |
| 1611 | MD10D | 05/05/2009 | 05/05/2009 | Trichuris | 3 | 0 | 0 | | <input checked="" type="checkbox"/> |
| 1674 | MD10D | 07/06/2009 | 08/06/2009 | Oesophagostomum | 5 | 0 | 0 | | <input type="checkbox"/> |
| 1675 | MD10D | 07/06/2009 | 08/06/2009 | Ancylostoma | 1 | 0 | 0 | | <input type="checkbox"/> |
| 1676 | MD10D | 07/06/2009 | 08/06/2009 | Trichuris | 40 | 0 | 0 | | <input type="checkbox"/> |
| 1678 | MD10E | 07/06/2009 | 08/06/2009 | Oesophagostomum | 28 | 0 | 0 | | <input checked="" type="checkbox"/> |
| 1679 | MD10E | 07/06/2009 | 08/06/2009 | Balantidium coli | 0 | 1 | 0 | | <input checked="" type="checkbox"/> |
| 1066 | MD10E3 | 27/03/2009 | 27/03/2009 | Ancylostoma | 1 | 0 | | | <input checked="" type="checkbox"/> |
| 1067 | MD10E3 | 27/03/2009 | 27/03/2009 | Strongles spp | 0 | 3 | 2 | | <input checked="" type="checkbox"/> |
| 1276 | MD10E3 | 31/03/2009 | 01/04/2009 | Strongles spp | 0 | 13 | 3 | | <input checked="" type="checkbox"/> |
| 1646 | MD10E3 | 15/05/2009 | 15/05/2009 | Oesophagostomum | 18 | 0 | 0 | | <input checked="" type="checkbox"/> |
| 1647 | MD10E3 | 15/05/2009 | 15/05/2009 | Trichostrongyloides | 1 | 0 | 0 | | <input checked="" type="checkbox"/> |
| 1648 | MD10E3 | 15/05/2009 | 15/05/2009 | Ascaris spp | 1 | 0 | 0 | | <input checked="" type="checkbox"/> |
| 1505 | MD10E3B | 15/04/2009 | 15/04/2009 | Oesophagostomum | 3 | 0 | 0 | | <input checked="" type="checkbox"/> |
| 1506 | MD10E3B | 15/04/2009 | 15/04/2009 | Strongles spp | 0 | 4 | 0 | | <input checked="" type="checkbox"/> |
| 1627 | MD10E7 | 05/05/2009 | 05/05/2009 | Oesophagostomum | 4 | 0 | 0 | | <input checked="" type="checkbox"/> |
| 1628 | MD10E7 | 05/05/2009 | 05/05/2009 | Ancylostoma | 2 | 0 | 0 | | <input checked="" type="checkbox"/> |
| 1629 | MD10E7 | 05/05/2009 | 05/05/2009 | Trichostrongyloides | 2 | 0 | 0 | | <input checked="" type="checkbox"/> |
| 915 | MD10F | 26/03/2009 | 26/03/2009 | Strongles spp | 0 | 1 | 3 | | <input type="checkbox"/> |

Figure 3: Table "coproscopie_mandrills"

La table « T_coprocultures » consigne les types de larves infestantes retrouvées dans les fèces mis en culture. Enfin la table « T_hémoparasites » répertorie les résultats de la recherche de paludisme et de filariose par animal (positif ou négatif).

Ces différentes tables de résultats d'analyses parasitologiques et virologiques ont été mises en relation avec la table « T_Animaux » par le lien du numéro d'immatriculation de l'animal (Figure 4)

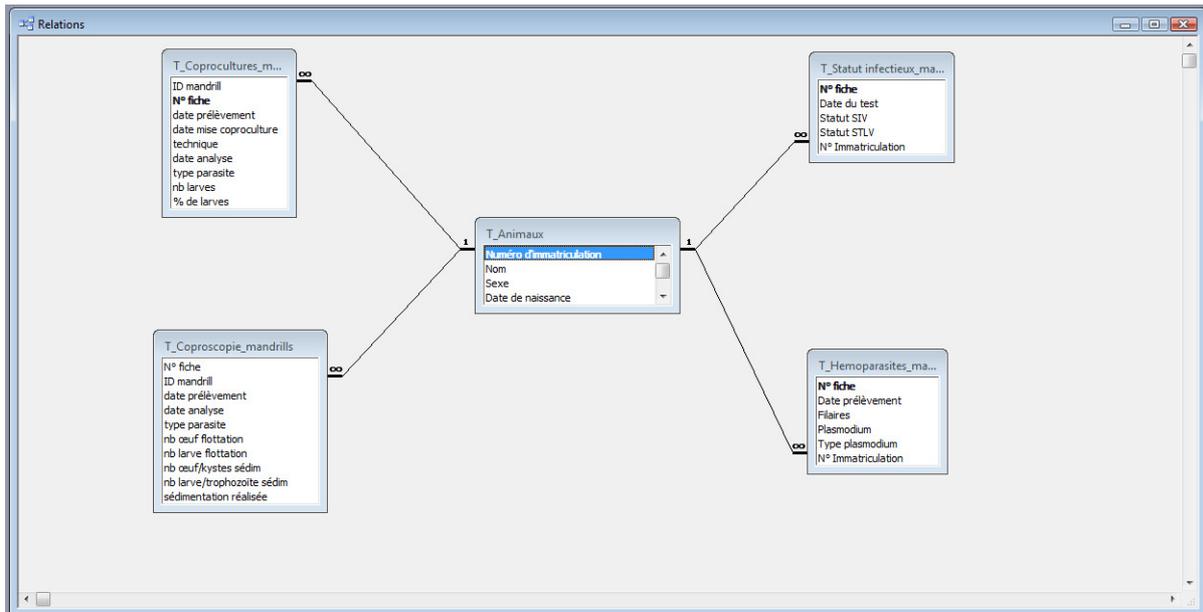


Figure 4: Relations de la base de données "suivi_parasitaire_mandrills"

Et les résultats sont rentrés grâce à un formulaire (Figure 5) :

The screenshot shows the 'Fx Animaux' data entry form. At the top, there is a dropdown for 'Accéder à l'animal' set to 'MD10D' and 'version 0.b.'. Below this, the 'Numéro d'immatriculation' is 'MD10D' and 'Nom' is 'MD10D'. The 'Sexe' is 'M' and 'Date de naissance' is '12/03/1989'. The 'Adresse' is 'E2'. There are tabs for 'Coproscopie', 'Coprocultures', 'Hémoparasites', and 'Statut Infectieux'. The 'Coproscopie' tab is active, showing a table with the following data:

| ID mandrill | date prélèvement | date analyse | type parasite | nb œuf flottation | nb larve flottation | nb œuf/ kystes sédim | nb larve/ trophozoïte sédim | sédimentation réalisée |
|-------------|------------------|--------------|---------------|-------------------|---------------------|----------------------|-----------------------------|-------------------------------------|
| MD10D | 05/05/2009 | 05/05/2009 | Trichuris | 3 | 0 | 0 | 0 | <input checked="" type="checkbox"/> |

At the bottom, there is a 'Nouvel Animal' button and a '9 sur 12' indicator.

Figure 5: Formulaire de saisie de la base "suivi_parasitaire_mandrills"

Ainsi, les résultats des recherches des différents parasites ont pu être analysés en créant des requêtes en fonction des données physiologiques, de l'habitat, et du statut rétroviral des individus.

4) Analyse de données

Au préalable, les extractions des paramètres (prévalence, diversité et abondance) ont été effectués à partir de la base de données.

La prévalence a été calculée en effectuant le ratio du nombre d'individus infesté par un parasite donné sur le nombre d'individus échantillonnés sur la colonie du CIRMF. Pour les individus de la colonie de Bakoumba, elle a été définie comme le taux d'échantillons infestés à un type de parasite parmi les 29 échantillons prélevés.

La diversité gastro-intestinale présentée ici est le nombre de types parasitaires différents retrouvés chez un animal, sommé sur l'ensemble des échantillons prélevés de cet animal.

Enfin l'abondance (ou intensité de l'infestation) est le nombre maximal d'œufs de la même espèce parasitaire par gramme de fèces retrouvés chez un animal.

Les abondances et les prévalences sont donc présentées spécifiquement à chaque type parasitaire.

Les analyses statistiques ont été effectuées grâce au logiciel R (version 2.8.1 (2008-12-22) pour Windows) (Team, 2008). Les comparaisons de variables qualitatives (prévalence des différents parasites) ont été réalisées avec des tests du Chi². Lorsque les effectifs étaient insuffisants, des regroupements ont été effectués et des tests de Fisher utilisés. Les comparaisons de moyennes (abondance et diversité) ont été réalisées soit par tests de Student ou ANOVA à plusieurs facteurs avec interactions si les conditions de normalité (test de Shapiro) et d'homoscédasticité (test de Bartlett) étaient vérifiées, soit par tests de Wilcoxon dans le cas contraire.

II) Résultats

1) Parasites identifiés

a) Population CIRMF

1) Parasites gastro-intestinaux

Par diagnose différentielle des différents œufs et kystes observés (ANNEXE 6), les mandrills de la colonie du CIRMF ont été retrouvés positifs en *Oesophagostomum spp* (prévalence : saison humide SH : 86.1% ; saison sèche SC : 79,8%), *Ancylostoma spp* (SH : 47.5% ; SC : 24%) , *Trichostrongylus spp* (SH : 37.6% ; SC : 15,2%) , *Strongyloïdes spp* (SH : 7,9% ; SC : 2,5%), *Trichuris spp* (SH : 5,9 % ; SC : 2,5%) , *Balantidium coli* (SH : 47.3%, SC : non déterminé) et *Mammomonogamus spp* (SH : 0% ; SC : 1,27%).

L'identification de ces espèces n'a été effectuée que sur la base de la morphologie des œufs, étant donné le très faible succès des coprocultures ; en effet, seule une coproculture s'est révélée positive avec identification de larves d'*Oesophagostomum spp*, reconnaissables grâce à leur gaine festonnée (Figure 6) (ANNEXE 5) :

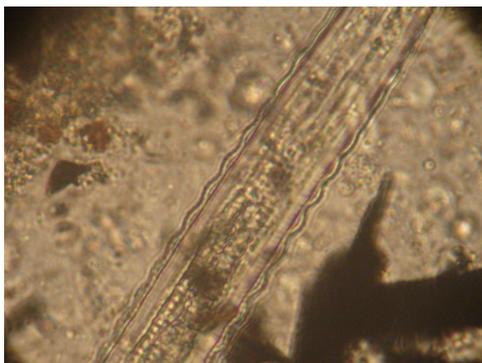


Figure 6: photo de la gaine festonnée d'une larve infestante d'*Oesophagostomum spp* retrouvée dans une coproculture de mandrill

Les formes de protozoaires mobiles n'apparaissant qu'en sédimentation n'ont pu être identifiées avec exactitude du fait de leur trop grande mobilité. Par ailleurs, la prévalence des protozoaires étant très élevée (> 90-100%) (Setchell J. M. et al., 2007), une étude des facteurs de risque sur ces parasites n'a pas paru pertinente. Aussi, seule la prévalence du protozoaire *Balantidium coli*, identifié par ses kystes de grande taille en sédimentation (ANNEXE 4), a été reporté dans cette étude.

2) Ectoparasites

Seuls 5 individus ont été observés porteurs sur les 137 mandrills de la colonie inspectés. Ces ectoparasites, retrouvés gorgés de sang et ancrés dans le tégument, ont été identifiés comme étant des poux piqueurs. L'identification précise de l'espèce reste à définir. Il pourrait s'agir d'une sous-espèce de *Pedicinus spp*.

3) Hémoparasites

Sur les 127 individus testés en hémoparasites, aucune microfilaire sanguicole n'a été retrouvée par leucoconcentration. En revanche, 18 individus se sont avérés positifs en hémoparasites sur gouttes épaisses. Sur critères morphologiques, l'espèce détectée appartiendrait au Genre *Hepaticystis spp* (Touré F. et Ollomo B., communication personnelle) avec une prévalence de 14 %. En outre, trois gouttes épaisses semblent fortement douteuses en *Plasmodium spp*, mais étant donnée la très faible parasitémie (au maximum deux parasites observés par goutte épaisse), l'identification de l'espèce en question devra être confirmée par diagnostic moléculaire.

b) Colonie Bakoumba

A Bakoumba, *Oesophagostomum spp* (prévalence : 89,7 %), *Ancylostoma spp* (10,3 %) , *Trichostrongylus spp* (20,7 %) , *Strongyloides spp* (27,6 %) et *Mammomonogamus spp* (7%) ont été retrouvés sur échantillons fécaux.

2) Facteurs de variations et facteurs de risque

a) Effet de la saison

La comparaison entre saison humide et saison sèche n'a pu être effectuée que sur la colonie du CIRMF du fait que la colonie de Bakoumba n'ait été prélevée qu'à la saison sèche, et uniquement sur les parasites gastro-intestinaux puisque la recherche d'ecto- et d'hétoparasites n'a été effectuée qu'en saison humide (à l'occasion du contrôle sanitaire).

1) Effet de la saison et prévalences

Les prévalences de parasites tendent à diminuer entre saison humide (SH) et saison sèche (SC) (Figure 7).

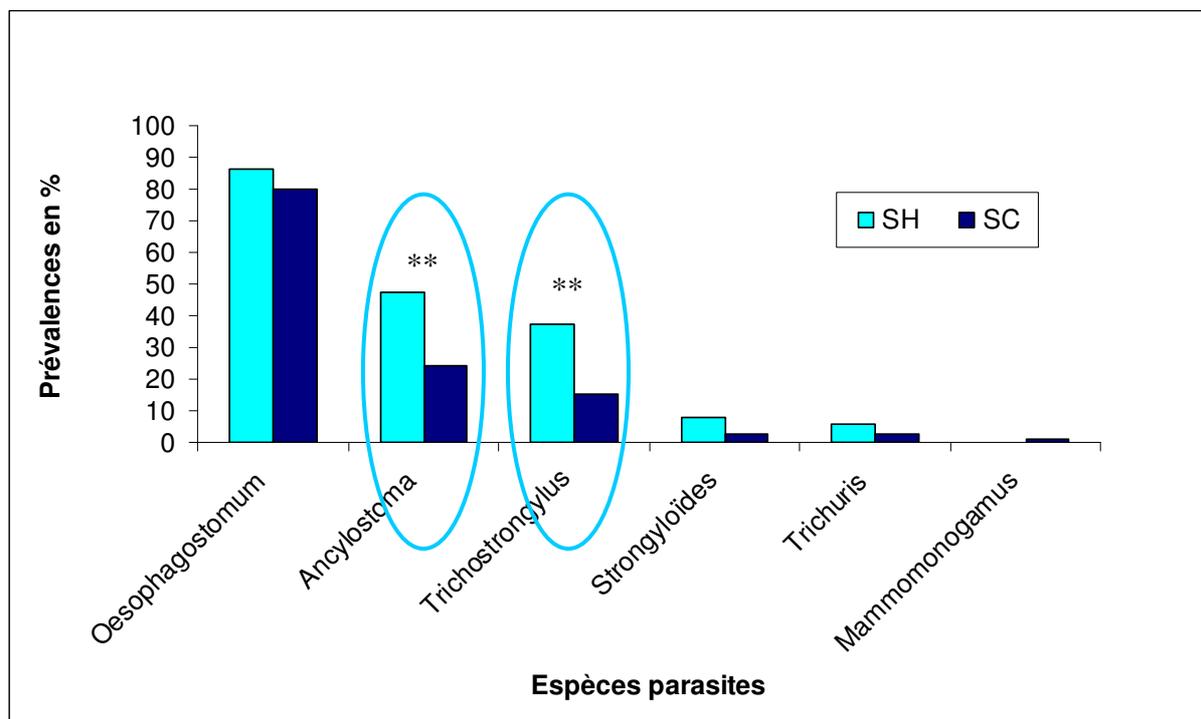


Figure 7: prévalences comparées sur la colonie du CIRMF en saison humide (SH) et saison sèche (SC) (** significatif à 1%)

Cette diminution s'est révélée très significative pour *Trichostrongylus spp* (37,6 % vs 15,2 % ; $\chi^2 = 11,12$, $P < 0,001$) et *Ancylostoma spp* (47,5 % vs 24% ; $\chi^2 = 10,45$, $P = 0,001$), mais non significative pour les autres parasites incriminés.

Mammomonogamus spp n'a également été retrouvé qu'en saison sèche, puisqu'un seul échantillon a été retrouvé positif. Cet type de parasite n'est donc en aucun cas un pathogène commun chez mandrill, et ne présente qu'une prévalence très faible au sein de la colonie. Il se pourrait même que *Mammomonogamus spp* ne soit pas un parasite du mandrill, mais que le mandrill ne soit qu'un hôte accidentel, ne permettant que le transit du parasite sans développement et infestation, au vu du seul échantillon retrouvé positif (ANNEXE 7).

2) Effet de la saison et diversité parasitaire

On a observé une diminution très significative, de près de moitié, de la diversité moyenne au sein des enclos entre SH ($2,3 \pm 0,1254$) et SC ($1,3 \pm 0,0157$) (Wilcoxon : $P = 3.59e-09$).

3) Effet de la saison et abondance

Les parasites semblent être retrouvés en moindre abondance en SC par rapport à la SH ; cependant ces différences ne sont pas significatives (Tableau 5).

Tableau 5: Abondance comparée (en nombre d'œufs par gramme de fèces) au sein de la colonie du CIRMF en saison humide et saison sèche

| | Saison humide | Saison sèche | Wilcoxon : P |
|-----------------------------|----------------------|---------------------|---------------------|
| <i>Oesophagostomum spp</i> | 600 ± 85,9 | 458 ± 124,8 | 0,1977 |
| <i>Ancylostoma spp</i> | 145 ± 27,13 | 79 ± 8,95 | 0,2121 |
| <i>Trichostrongylus spp</i> | 88 ± 9,45 | 66 ± 9,82 | 0,2438 |
| <i>Strongyloïdes spp</i> | 75 ± 10,10 | 50 ± 0 | 0,2206 |
| <i>Trichuris spp</i> | 3808 ± 3438,97 | 50 ± 0 | 0,0856 |

Les analyses menées en saison sèche seule en fonction des différents facteurs (âge, sexe, enclos, statut STLV et SIV) n'ont mis en évidence aucun paramètre expliquant significativement les variations observées en saison sèche. Ni les prévalences et abondances des différents parasites, ni la diversité parasitaire n'ont pu être corrélées avec ces facteurs. Ainsi, les autres facteurs de variation ne seront présentés qu'en saison humide, saison à laquelle ils ont pu au contraire être significativement associés avec les variations observées et donc être considérés comme facteur de variation.

b) Effet de l'habitat

1) Effet de l'habitat et prévalences

Les prévalences de saison sèche ont été comparées entre la colonie du CIRMF et celle de Bakoumba afin de déterminer les variations fonction de l'habitat (Figure 8). Les prévalences de 4 types de parasites gastro-intestinaux parmi les 6 décrits semblent supérieures à Bakoumba. Cependant, seule la différence observée pour *Strongyloïdes spp* est significative (Fisher : $P = 3.62e-04$).

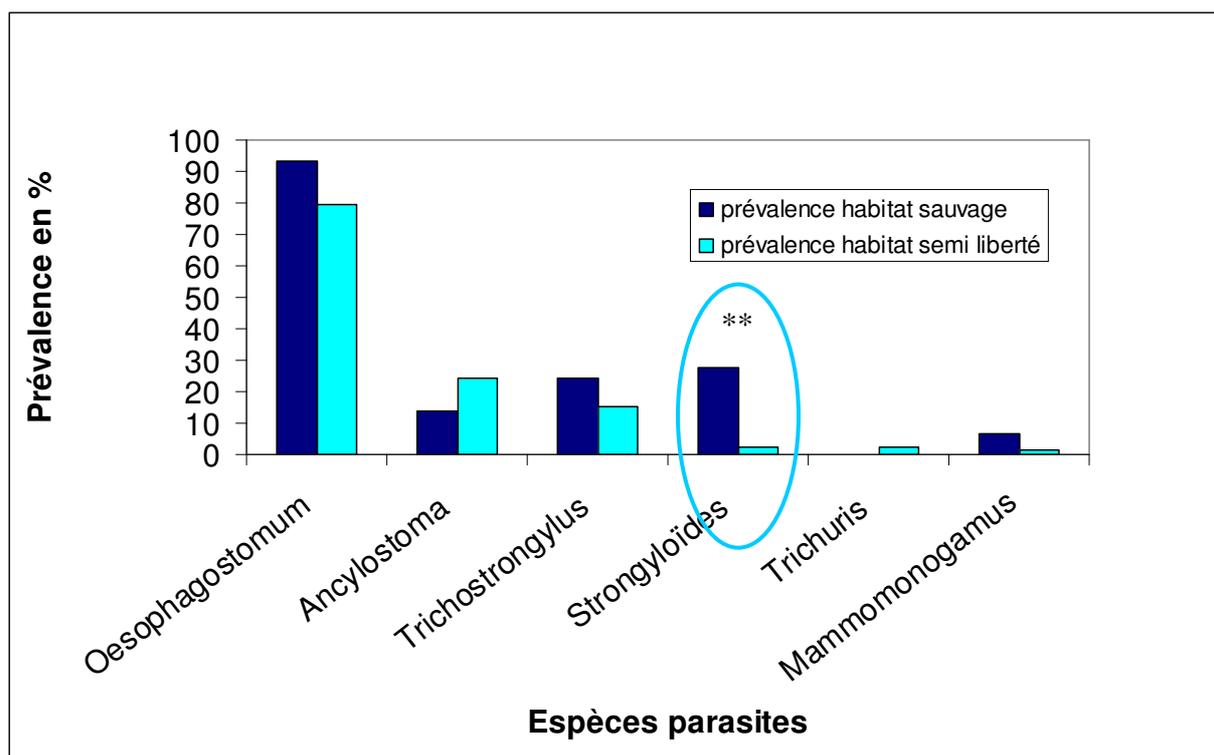


Figure 8: Prévalences comparées en saison sèche selon l'habitat (** : significatif à 1%)

2) Effet de l'habitat et abondance

Tableau 9: Abondance (en nombre d'oeufs par gramme de fèces) comparée selon l'habitat

| | CIRMF | BAKOUMBA | Wilcoxon : P |
|-----------------------------|--------------|-----------------|-----------------------|
| <i>Oesophagostomum spp</i> | 458 ± 124,78 | 832 ± 134,5 | 4,82.10 ⁻⁵ |
| <i>Ancylostoma spp</i> | 79 ± 9,05 | 288 ± 236,14 | 0,2291 |
| <i>Trichostrongylus spp</i> | 67 ± 9,82 | 100 ± 28,87 | 0,1822 |
| <i>Strongyloïdes spp</i> | 50 ± 0 | 156 ± 62,63 | 0,1578 |
| <i>Trichuris spp</i> | 50 ± 0 | 0 | |
| <i>Mammomonogamus spp</i> | 50 ± 0 | 150 ± 0 | |

On a observé que les individus de Bakoumba tendaient à présenter une abondance parasitaire supérieure à celle observée au sein de la colonie du CIRMF, ceci de façon très significative pour *Oesophagostomum spp* (Wilcoxon : $P = 4.82e-05$) (Tableau 9). *Trichuris spp* n'a pas été retrouvé à Bakoumba; aucune comparaison n'est donc possible, et les échantillons de *Mammomonogamus spp* ne sont pas assez nombreux pour être analysés statistiquement.

3) Effet de l'habitat sur la diversité

Les individus de Bakoumba présentaient une diversité moyenne accrue par rapport à ceux du CIRMF en saison sèche: $1,65 \pm 0,1840$ types de parasites différents *versus* $1,26 \pm 0,1064$ (Wilcoxon : $P = 0.056$).

Cependant, l'effet « habitat » doit intégrer également les différences de densité et de présence d'hôtes supplémentaires pour les parasites entre les colonies. Ainsi cet effet comprend les effets conjoints de la densité plus faible et de la présence d'hôtes intermédiaires à Bakoumba.

c) Effet de l'enclos

Des différences entre les trois enclos de la colonie du CIRMF n'ont été observées que pour les parasites gastro-intestinaux. En particulier, la prévalence en *Trichuris spp* dans l'enclos 3 (E3) (37,5 %) s'est avérée significativement plus forte que dans les deux autres enclos réunis (4,3 %) (Fisher : $p = 0.0097$). De même, la prévalence en *Balantidium coli* s'est montrée significativement plus élevée en E3 (83,3 %) qu'en E1 (31,0 %) (Fisher : $p = 0.028$). L'abondance en *Trichostrongylus spp* suit le même schéma : E3 présente une moyenne de $125 \pm 72,16$ œufs par gramme de fèces versus $73 \pm 21,1$ en E1 (Kruskal-Wallis : $p = 0.034$). Ainsi, E3 a été retrouvé comme plus infesté que les autres enclos alors qu'il ne présente pas une densité plus forte que les autres. Par contre, tous les individus de E3 sont infectés en rétrovirus, ce qui a pu biaiser l'influence de cet enclos. C'est pourquoi ce facteur « enclos » a été considéré comme non interprétable et ne donnera pas lieu à discussion.

d) Effet du sexe

Des différences marquées ont été observées entre les deux sexes. Notamment, on a observé une prévalence en *Trichostrongylus spp* significativement plus élevée chez les mâles en saison humide (46% vs 26%; $\chi^2 = 4,35$; $P = 0,037$). De même, les mâles se sont avérés héberger une diversité de parasites gastro-intestinaux significativement plus importante que les femelles ($2,6 \pm 0,18$ vs $2,0 \pm 0,17$; Student : $t_1 = -2,60$; $P = 0,011$).

e) Effet de l'âge

1) Effet de l'âge et parasites gastro-intestinaux

A travers nos résultats, il a été mis en évidence que l'âge avait une influence significative sur les infestations par les parasites gastro-intestinaux mais avec des effets contrastés selon les espèces concernées.

Par exemple, les juvéniles et adolescents présentaient des prévalences en *Trichostrongylus spp* significativement moins élevées que les adultes et individus sénescents regroupés (27% vs 48 % ; $\chi^2 = 4,72$; $P = 0,030$). La même tendance a également été observée pour *Balantidium coli* (33% vs 58% ; $\chi^2 = 4,61$; $P = 0,032$). Au contraire, les animaux juvéniles et sénescents présentaient des prévalences plus élevées en *Ancylostoma spp* (27% vs 53% ; $\chi^2 = 4,63$; $P = 0,031$) que les individus adolescents et adultes.

Par ailleurs, *Oesophagostomum spp* a été retrouvé à des niveaux d'abondance significativement plus élevés chez les juvéniles que dans les autres classes d'âge (ANOVA: $F_{3,83} = 4,37$; $P = 0.007$ et Sidak (comparaison des classes d'âge deux à deux) : $P < 0,05$ dans tous les cas) (Figure 9) (adolescents : moyenne (m) = $376 \pm 59,67$ œufs par gramme ; adulte : $m = 628 \pm 155,33$; juvéniles : $m = 1500 \pm 420,83$; sénescents : $m = 356 \pm 126,75$).

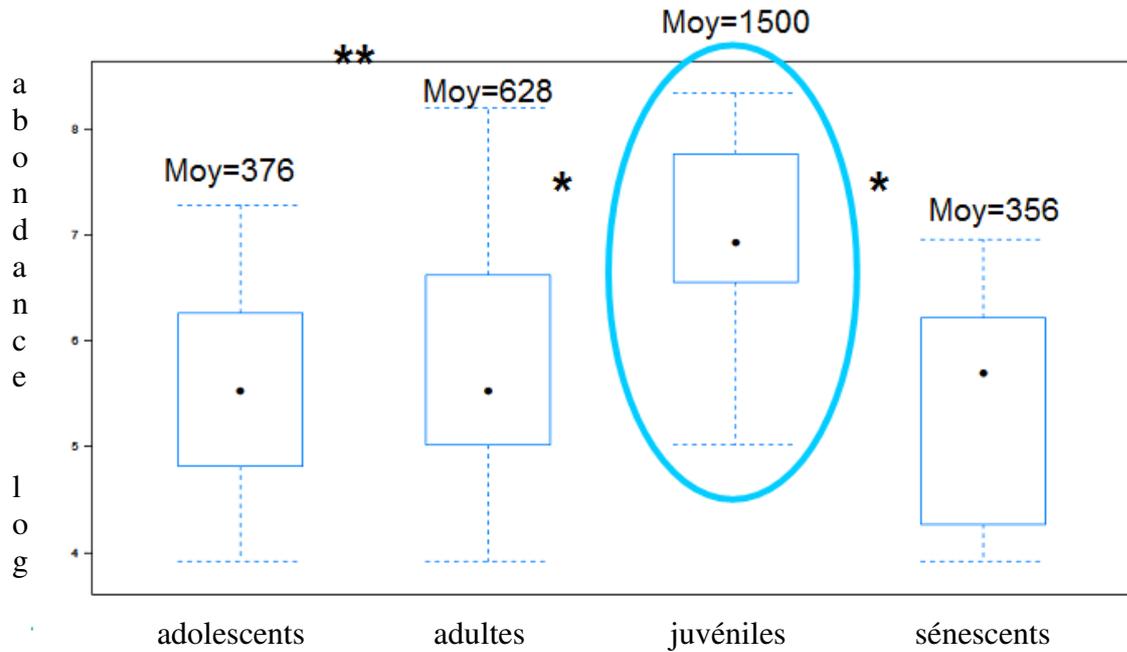


Figure 9: boîte à moustache de l'abondance (en log) d'*Oesophagostomum spp* en fonction des classes d'âge

2) Effet de l'âge et ectoparasites

On a observé un effet significatif de l'âge sur la présence d'ectoparasites sur les mandrills de l'étude (Wilcoxon : $P = 0,0022$). En effet, les animaux présentant des ectoparasites ($n = 5$) étaient en moyenne âgés de $20,5 \pm 2,36$ ans alors que le reste de la colonie (ne présentant aucun ectoparasite) avait une moyenne d'âge de $7,9 \pm 0,51$ ans (Figure 10).

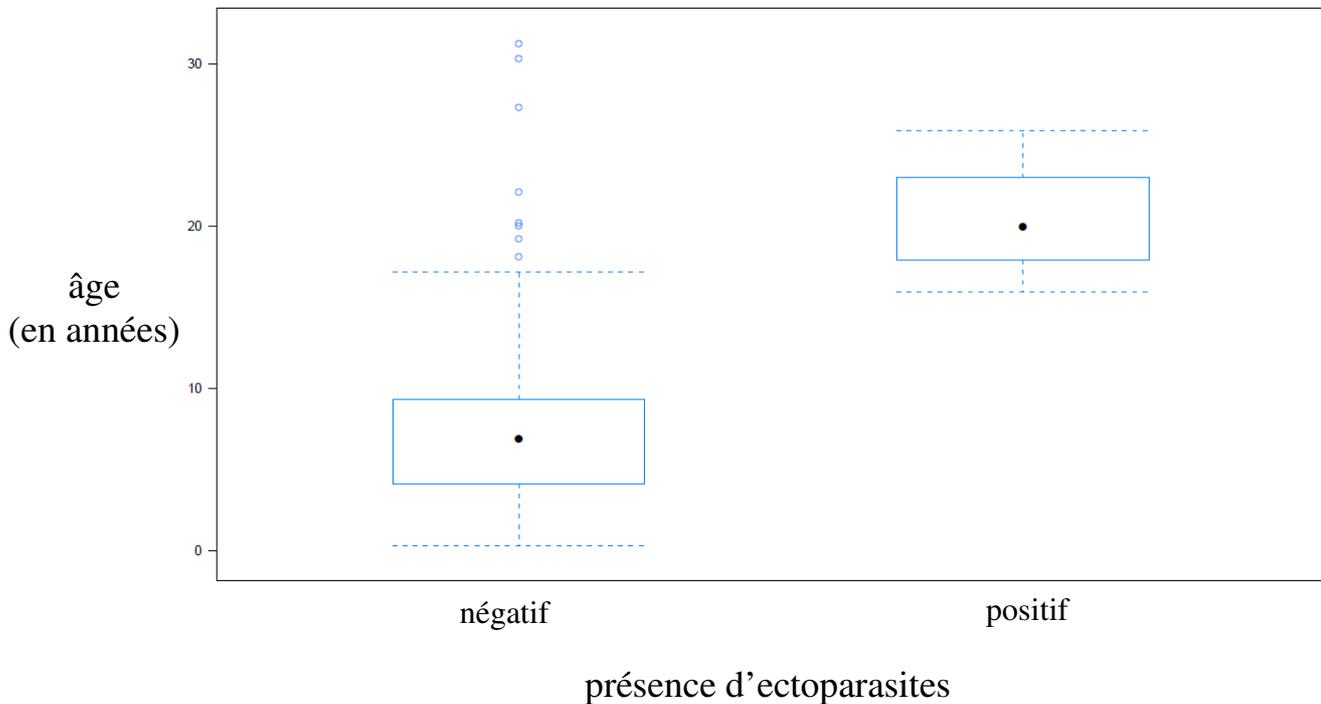


Figure 10: boîte à moustache représentant l'âge des individus en fonction de la présence (positif) ou absence (négatif) d'ectoparasites

3) Effet de l'âge et hémoparasites

On a trouvé que les animaux positifs en *Hepatozoon* spp étaient significativement plus âgés (moyenne = $11,0 \pm 1,83$ ans) que les animaux négatifs ($7,9 \pm 0,54$ ans) (Wilcoxon : $P = 0.045$) (Figure 11).

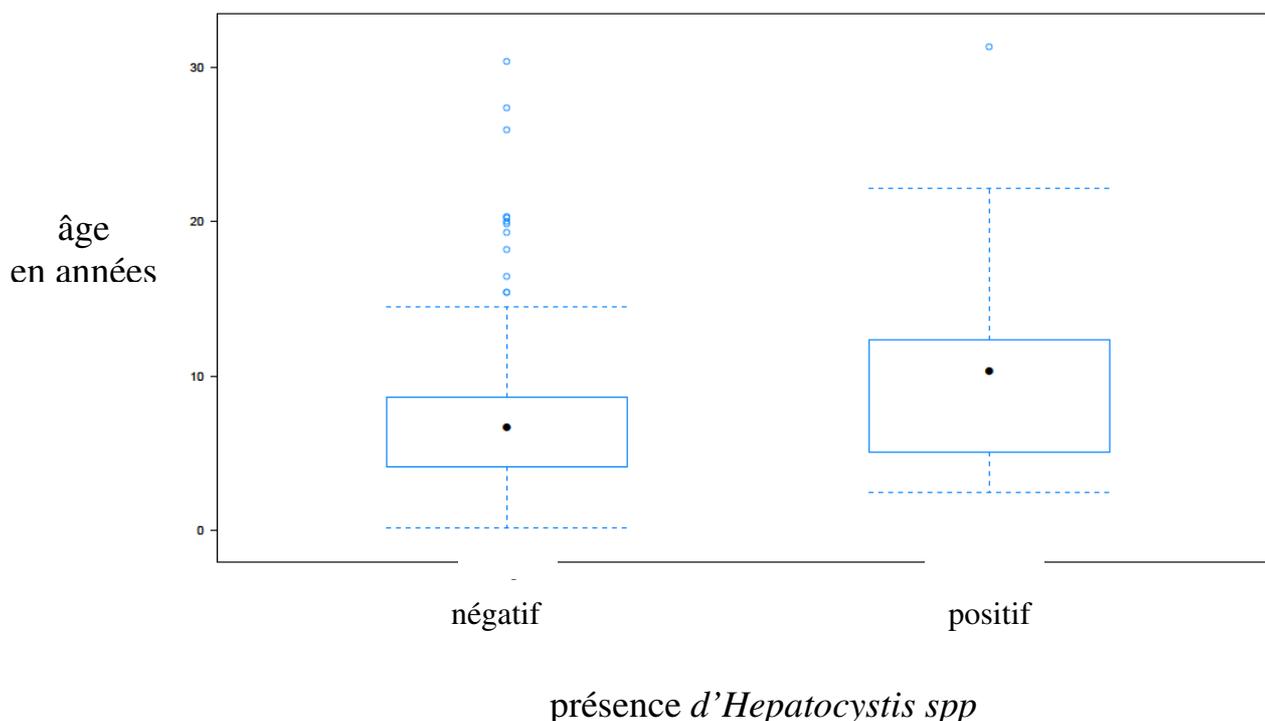


Figure 11: boîte à moustache représentant l'âge des animaux selon la présence (positif) ou absence (négatif) d'*Hepatozoon* spp

f) Effet du STLV

1) Effet du STLV et parasites gastro-intestinaux

La prévalence en *Trichostrongylus* spp a été trouvée significativement supérieure chez les animaux infectés par STLV (56 % vs 32 % ; $\chi^2 = 4,78$, $P = 0,029$). Le risque relatif s'élève à 1,9, ce qui signifie que les animaux infectés par STLV ont 1,9 fois plus de chance d'être infestés par *Trichostrongylus* spp que les individus STLV négatifs.

Par ailleurs, une corrélation entre la diversité parasitaire et le statut STLV a été mise en évidence. Du fait de l'interaction significative entre les facteurs sexe et STLV, cette relation a été étudiée dans chaque sexe de façon indépendante. Chez les mâles, il a bien été trouvé une relation significative, suggérant que les mâles infectés par STLV présentaient une diversité parasitaire significativement augmentée par rapport à leurs congénères non infectés ($3,2 \pm 0,31$ vs $2,3 \pm 0,21$; Student : $t_1 = 23,95$; $P = 0,027$) (Figure 12). Chez les femelles, en revanche, une telle relation n'a pu être mise en évidence ($1,4 \pm 0,57$ vs $2,0 \pm 0,17$; Student : $t_1 = -2,28$, $p = 0,21$).

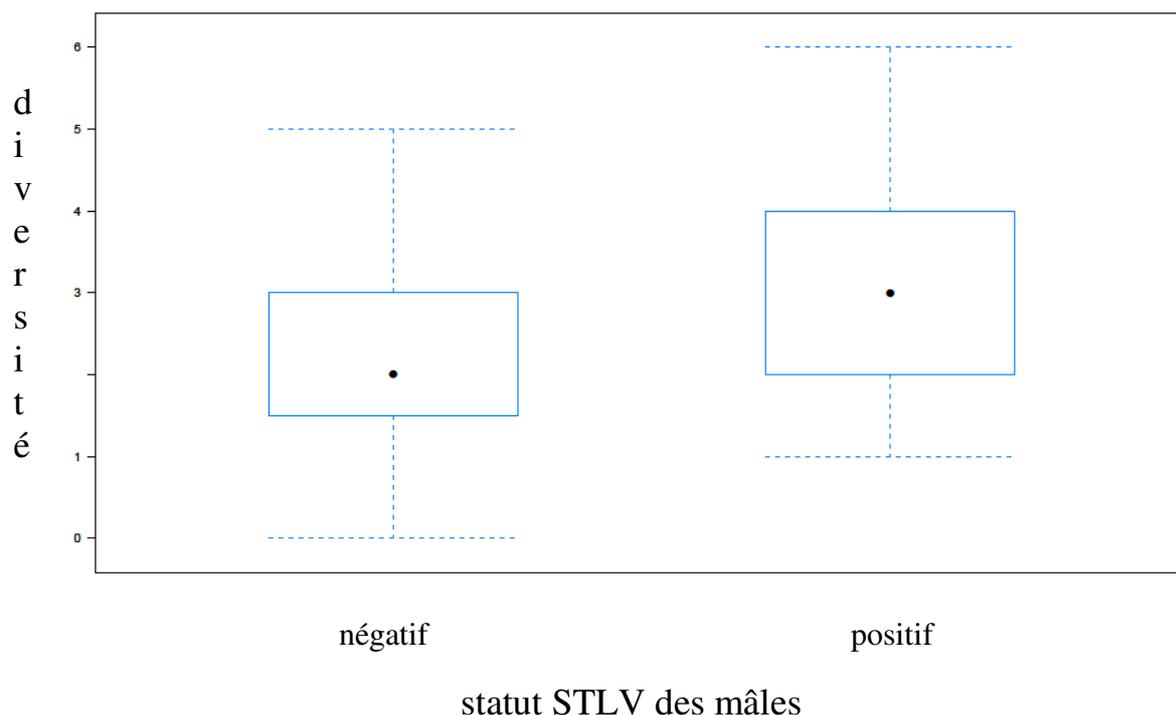


Figure 12: boîte à moustache représentant la diversité parasitaire en fonction du statut positif ou négatif en STLV chez les mâles

2) Effet du STLV et hémoparasites

Sur les 18 animaux positifs en *Hepatocystis spp*, 8 sont également infectés par STLV, alors qu'au sein de la colonie non infestée par *Hepatocystis spp* (110 individus), 18 animaux seulement sont infectés par STLV. Les animaux positifs en STLV présentent donc une prévalence de 30% d'*Hepatocystis spp* alors que les animaux négatifs ne sont positifs en *Hepatocystis spp* qu'à 9% ($\chi^2 = 7,40$; $P = 0,0065$). Le risque relatif de 3,1 signifie que le fait d'être infecté par STLV est associé à une multiplication de la probabilité d'être infesté par cet hémoparasite par un facteur 3,1 (Figure 13).

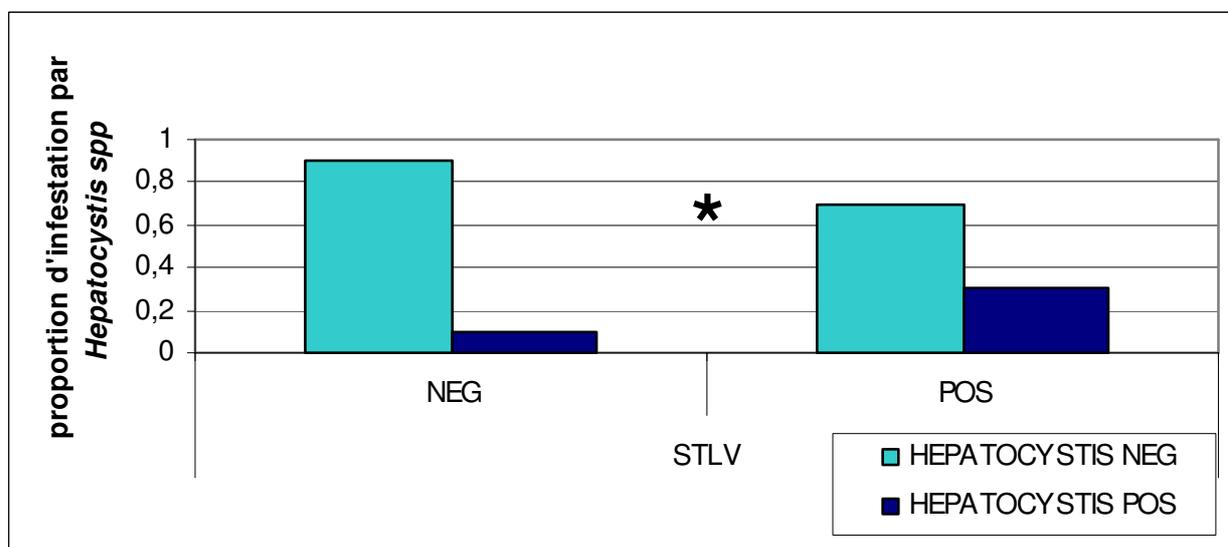


Figure 13: proportion d'infestation à *Hepatocystis spp* en fonction du statut STLV

Cependant, comme il a été montré que la présence d'*Hepaticystis spp* était également significativement associée à l'âge (cf III-2-e), l'analyse a été reconduite en séparant animaux adultes et sénescents d'une part, et animaux jeunes d'autre part (juvéniles et adolescents). Il s'est avéré que le statut en STLV n'était en réalité corrélé avec l'infection par *Hepaticystis spp* que chez les animaux de plus de 8 ans ($\chi^2 = 4,11$; $P = 0,043$) mais pas chez les jeunes animaux, ce qui semble logique vu le peu de jeunes animaux infectés par STLV.

3) Effet du STLV et ectoparasites

Des résultats semblables ont été retrouvés concernant la présence d'ectoparasites ; en effet, les animaux infectés par STLV présentent une prévalence en ectoparasites de 12% alors que les animaux non infectés ne sont positifs qu'à 0,99 % (Fisher : $P = 0.02447$). Cependant, lorsque l'effet du STLV n'est analysée que chez les animaux sénescents, cette différence n'est plus significative ($P = 0,22$). Ainsi, la présence d'ectoparasites semble être plus liée à l'âge qu'au statut sérologique STLV.

On peut donc en conclure que le fait d'être infecté par STLV n'a que peu d'influence sur les infestations par les ectoparasites, mais qu'en revanche, le statut STLV positif est un réel facteur de variation quant à l'infestation par les parasites gastro-intestinaux chez les mâles et à l'infection par *Hepaticystis spp* chez les animaux âgés.

g) Effet du SIV

1) Effet du SIV et parasites gastro-intestinaux

Les animaux positifs en SIV présentent des prévalences en *Trichuris spp* significativement plus élevées que les individus non infectés SIV- (16,1 % vs 1,4% ; Fisher : $P = 0.01$). Le risque d'être contaminé par ce parasite est donc 11,3 plus élevé pour les animaux positifs en SIV. On observe une tendance similaire pour l'abondance en *Trichostrongylus spp* ; les animaux positifs en SIV présentent une abondance moyenne significativement supérieure aux animaux négatifs ($112,5 \pm 18,56$ vs $70,5 \pm 8,01$ œufs de *Trichostrongylus spp* par gramme de fèces ; Wilcoxon : $P = 0,027$). L'infection par SIV apparaît donc comme un facteur de variation concernant la sensibilité des animaux à *Trichostrongylus spp* et à *Trichuris spp*.

2) Effet du SIV et hémoparasites

Les animaux positifs pour SIV présentent des prévalence en *Hepaticystis spp* significativement plus élevées que les animaux SIV négatifs (27% vs 10% ; $\chi^2 = 5,04$; $P = 0,025$) et une proportion d'infestation par *Hepaticystis spp* 2,6 fois supérieure (Figure 14).

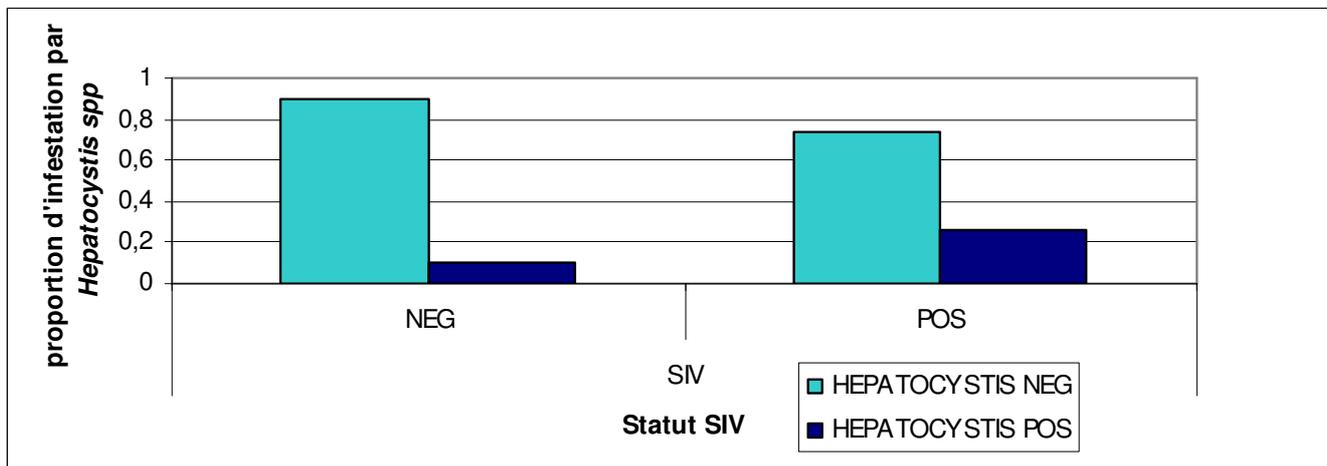


Figure 14 : proportion d'infestations à *Hepatocystis* spp en fonction du statut SIV

Cependant, l'étude de l'influence du SIV en fonction des classes d'âge (adulte et âgés contre juvéniles et adolescents) a été menée, au vu de l'influence de l'âge démontrée plus haut (cf III-2-e). Les tests réalisés sur chaque classe d'âge ont démontré que le risque d'infestation par *Hepatocystis* spp était lié au statut SIV positif chez les animaux de plus de 8 ans uniquement ($\chi^2 = 4,04$; $p = 0.004$).

III) Discussion

Cette étude a ainsi montré l'influence de plusieurs facteurs vis-à-vis des infestations parasitaires, à savoir l'habitat, la saisonnalité, l'âge, le sexe et les statuts rétro-virologiques. Il a permis de détecter également des types de parasites non encore décrits chez le mandrill (poux et hémoparasites) et d'identifier les statuts STLV et SIV comme facteurs modifiant le cortège pathogénique des hôtes infectés, ce qui représente un résultat fort intéressant au vu des nouvelles problématiques qu'il implique.

Concernant les parasites identifiés et leurs prévalences associées, cette étude a mis en évidence les parasites habituellement retrouvés chez les Cercopithèques. En effet, les *Oesophagostomum* spp sont toujours très présents et à des fortes prévalences proches de 85%, que ce soit sur des babouins en Uganda (Bezjian M. et al., 2008), ou les mêmes mandrills du CIRMF (Gauthier A., 2005). Les parasites *Trichostrongylus* spp, *Strongyloïdes* spp et *Trichuris* spp sont communément observés chez ces mêmes babouins de forêt, mais à une prévalence bien supérieure à celle relevée durant cette étude (22%, 44% et 46% respectivement) (Bezjian M. et al., 2008). Cependant, l'étude précédente menée chez les mandrills du CIRMF avait révélé des prévalences équivalentes à cette étude, excepté pour *Trichostrongylus* spp (2%)(Gauthier A., 2005). En revanche, il n'a été relevé aucun trématode ni cestode alors que *Schistosoma mansoni* (trématode) avait été observé chez des babouins olive (*Papio anubis*) au Nigeria (Weyher A. H. et al., 2006).

La présence d'ectoparasites chez ces mandrills a été une découverte surprenante, étant donné qu'aucun poux n'avait été décrit chez le mandrill auparavant. Pourtant, les poux sont les ectoparasites les plus communément observés, hormis quelques cas de *Demodex* spp chez les macaques rhesus (*Macaca mulatta*) (Starost M. F. et al., 2005). Chez les grands singes, on observe des poux de l'espèce *Pediculus* (*Pediculus schaeffi* chez le chimpanzé) (Reed, 2007) et des *Pthirus gorillae* chez le gorille (Reed, 2007), alors qu'il s'agit plutôt de *Pedicinus* spp chez les singes de l'ancien monde (Cohn D. L. et al., 2007) et (Ronald N. C. and Wagner J. E., 1973). Au total, 14 espèces de poux sont connus chez les singes de l'ancien monde (Cohn

D. L. et al., 2007), mais aucun symptôme de pédiculose n'a été reporté dans la littérature chez les primates non humains à ce jour. Cependant, au CDP, un cas de pédiculose avait été répertorié en 2007 sur un vieux mâle de 16 ans STLV positif. Ce mandrill avait perdu 7 kg en un an et présentait une dépilation latérale où les poux avaient été retrouvés. La plus proche espèce de poux qui pourrait se rapprocher de celle que nous avons retrouvée chez nos mandrills serait *Pedicinus hamadryas* décrite par Mjöberg en 1910, retrouvée chez *Papio hamadryas*, (Phthirapterists, 2003) de par la phylogénie proche de leurs hôtes. Les analyses à venir mèneront à une description précise de cette espèce, et si elle s'avère être une espèce inconnue, elle devra être nommée et classifiée. Par ailleurs, la présence de ces poux est assez inhabituelle chez une espèce sociale (excepté les ectoparasites retrouvés chez *Papio hamadryas*); en effet, les espèces sociales pratiquent activement l'allo-grooming ou épouillage des ectoparasites entre eux. L'allo-grooming est donc un comportement altruiste pour éliminer les ectoparasites sur les autres, surtout les mères pour leurs enfants (Tanaka I. and Takefushi H., 1993). C'est pourquoi il est rare d'observer des ectoparasites chez les singes d'un groupe social, et le fait que nous en ayons retrouvé sur les animaux âgés et infectés laisse à penser que l'âge et leur infection permettent aux poux de coloniser leur hôte, sans que l'allo-grooming ne puisse stopper leur colonisation.

Les hémoparasites identifiés (*Hepatocystis spp*) représentent une découverte surprenante étant donné qu'ils n'avaient pas encore été décrits chez le mandrill. Ce parasite, déjà retrouvé chez des macaques (Seethamchai S. et al., 2008), des babouins (Phillipsconroy J. E. et al., 1988), des vervets (Turner T. R. et al., 1982) des orangutans (Stafford E. E. et al., 1978) des écureuils et des chauves souris (Manwell R.D. and Kuntz R.E., 1966; Olival K. J. et al., 2007), est transmis par les moustiques *Culicoides spp* (Garnham P. C. et al., 1961). Les *Culicoides* étant nombreux au Gabon (Itoua A. et al., 1987), la transmission de *Hepatocystis spp* est possible. Concernant les filaires, peu d'espèces de primates non humains ont déjà été retrouvées porteuses : seuls des vervets (Bain O. et al., 1989), des babouins (Bain O. et al., 1988), des singes du nouveau monde (Bain O. et al., 1987), des saïmiris (Petit G. et al., 1985) et des singes laineux (Chiba T., 1961) ont été retrouvés infestés. Il n'est donc pas étonnant qu'aucune microfilaire sanguicole n'ait été retrouvée chez ces mandrills.

Plusieurs facteurs de variation du degré des infestations parasitaires ont également été mis en évidence, agissant comme facteur de risque face aux infestations chez le mandrill. Les mâles présentent notamment une diversité parasitaire accrue par rapport aux femelles en saison humide, contrairement à ce qui avait été démontré en mars 2005 sur cette même colonie de mandrills (Setchell J. M. et al., 2007). En effet, aucune différence sexuelle sur l'infestation n'avait été constatée. Étant donné la compétition constante que les mâles éprouvent à l'approche de la saison de reproduction afin d'accéder à un plus haut rang de dominance, on peut dire que ce stress induit une allocation de l'énergie plus importante à la compétition qu'à la lutte contre les pathogènes, alors que les femelles ne subissent pas un stress si intense à ce moment là. Ceci pourrait expliquer une diminution de l'immunité des mâles et de fait une infestation facilitée par plusieurs types parasitaires. De même, l'handicap d'immunocompétence éprouvé par les mâles, hypothèse supposant que la testostérone des mâles agirait en diminuant l'efficacité de leur système immunitaire, pourrait apporter une explication à la diversité parasitaire plus élevée chez les mâles (Roberts M.L. et al., 2004). Le fait que cette différence observée ne se retrouve pas en saison sèche est contraire à nos hypothèses, étant donné que la saison sèche correspond à la saison de reproduction et donc à la période de plus grand stress de la colonie. Un facteur semble donc biaiser les résultats attendus de la saison de reproduction : les implants contraceptifs très efficaces posés aux femelles et réduisant de façon radicale les signaux de fertilité émis par les femelles pourrait être un facteur confondant, et gommer les spécificités propres à la saison de reproduction .

Par ailleurs, la différence observée entre les saisons, tant la baisse de la prévalence de *Trichostrongylus spp* et d'*Ancylostoma spp*, que la diminution de la diversité parasitaire pourrait s'expliquer par les caractères biologiques des parasites, qui ne survivent que difficilement sur sol sec, et ne perdurent ainsi quasiment pas en saison sèche. De plus, le fait que les sols soient plus secs et moins boueux en saison sèche pourrait expliquer une diminution de la probabilité de contact des individus avec de l'eau souillée et donc une transmission plus difficile des *Ancylostoma spp* par voie transcutanée. Les co-infestations au sein d'un même animal sont donc moins fréquentes. Cela confirme les résultats de mars 2005 chez les mandrills où la prévalence et l'abondance avaient été plus basses durant la saison sèche (Setchell J. M. et al., 2007) mais contredit les résultats concernant les guenons d'Uganda (Gillespie T. R. et al., 2004), et les colobes d'Uganda (Gillespie T. R. et al., 2005) où aucun effet de saison n'avait été observé.

L'âge a également été impliqué ; les individus jeunes seraient plus sensibles à l'infestation à *Oesophagostomum spp*, alors que les animaux plus âgés seraient plus souvent infestés par *Trichostrongylus spp*, *Balantidium coli*, des poux et des hémoparasites. On peut donc en déduire que les animaux âgés sont plus réceptifs aux parasites sanguins, ou que les jeunes éliminent immédiatement ce parasite, rendant la détection impossible. Encore une fois, cette corrélation avec l'âge avait souvent été démontrée comme non significative, autant chez les mandrills (Setchell J. M. et al., 2007) que chez des colobes d'Uganda (Gillespie T. R. et al., 2005).

L'étude des facteurs de risque concernant les statuts rétro-virologiques n'avaient pas été précédemment réalisée en primatologie ; nos résultats prouvent que le statut en STLTV est lié à la prévalence en *Hepaticystis spp*, avec une augmentation de la prévalence chez les animaux infectés en virus. De même, l'infection au virus STLTV a été définie comme facteur de risque chez les mâles puisqu'elle est corrélée avec une augmentation de la diversité parasitaire. Cela prouverait que le virus STLTV, en plus d'être responsable de leucémies et de lymphomes, favoriserait les infestations parasitaires en diverses familles de parasites, probablement du fait de l'affaiblissement du système immunitaire du sujet et de l'handicap d'immunocompétence chez les mâles. Cela représente une découverte innovante et importante au point de vue de la recherche fondamentale et de la médecine en primatologie, et conforterait au niveau des primates non humains ce qui avait déjà été découvert chez l'homme (Hirata, 2006), à savoir que les hommes infectés en HTLV ont été plus souvent sujets à des infestations par des *Strongyloides spp* que les hommes non infectés. Cependant cette étude chez les humains avait été réalisée chez un nombre bien plus important de sujets que nous n'en possédons dans notre étude ; il sera donc nécessaire de continuer l'étude présentée ici pour accroître l'échantillon observé et conforter ces résultats. De même, le statut SIV a été retrouvé significativement lié à l'infestation en *Hepaticystis spp*, à la prévalence en *Trichuris spp* et à l'abondance de *Trichostrongylus spp*. Ces résultats prouvent que, malgré la non pathogénicité affirmée du SIV chez le mandrill, il constituerait pourtant un facteur corrélé à une augmentation des probabilités d'infestation à ces parasites. Ce résultat est également novateur et intéressant, d'autant plus qu'il a été très récemment prouvé que le SIV chez les chimpanzés pourrait être pathogène, et serait impliqué dans l'investissement reproducteur et dans le statut sanitaire des chimpanzés ; en effet, les chimpanzés étudiés infectés par SIV présentaient un taux de mortalité accru et une reproduction perturbée (taux de natalité diminué et taux de mortalité infantile plus élevé) par rapport aux individus indemnes de SIV (Keele B. F. et al., 2009). Etant donné que le statut en SIV de nos mandrills est lié à des prévalences de nématodes dont l'effet pathogène est important (voir ANNEXE 7), l'infection des animaux en SIV semble jouer un rôle primordial dans la santé des individus.

Par ailleurs, notre étude a démontré que le statut sauvage ou semi captif des individus était impliqué dans la prévalence en *Strongyloides spp* et dans l'abondance en *Oesophagostomum*

spp, et que la colonie de Bakoumba était en général plus infestée que la colonie du CIRMF. Ces résultats sont en adéquation avec une étude menée au Kenya sur des babouins, vervets et Sykes' Monkeys (singe à gorge blanche) qui avait montré que les infestations aux helminthes étaient plus communes chez les primates sauvages (Munene E. et al., 1998). Cela peut s'expliquer par la plus grande proximité et donc la plus grande fréquence de contacts des animaux sauvages avec la faune locale, et par l'effet de l'hygiène des zones de nourrissage diminuant la pression parasitaire au sein de la colonie du CDP. Cependant, considérant que ces colonies ne diffèrent pas seulement au niveau de leur habitat mais aussi au niveau de la densité d'animaux et de l'apport alimentaire, ces différences ne peuvent être attribuées au seul facteur habitat et doivent être considérées avec précaution. De plus, le faible nombre d'échantillons collectés (29) nous amène à considérer ces résultats avec soin et montrent la nécessité de continuer le suivi de cette colonie afin d'avoir des échantillons plus nombreux et des données physiologiques fiables. Le faible échantillon collecté s'explique par la difficulté d'accès aux mandrills sauvages, et au faible temps de présence à leur contact. Par ailleurs, le manque de données rétro-virologiques et de données physiologiques certaines est à déplorer car l'étude des facteurs de risque n'a pu être effectuée. La collecte de ces données et d'échantillons de sang lors d'un contrôle sanitaire initialement prévu n'a pu se réaliser du fait de la difficulté technique et matérielle concernant la capture d'une soixantaine de mandrills sauvages. Il sera donc nécessaire de suivre cette colonie de façon plus régulière, et de compléter les résultats de la présente étude avec ces futures données récoltées.

Au point de vue du protocole, l'absence d'un groupe témoin peut être déplorée mais les études en écologie comportementale impliquant des espèces de faune sauvage protégées en sont souvent dépourvues, de par la nature même de ce type d'étude, qui reste donc de type corrélative ; aussi est-il nécessaire de travailler avec un nombre suffisant de sujets et un effectif important afin d'obtenir un degré de puissance statistique suffisant. Les analyses statistiques utilisées nous ont permis d'inclure l'influence des différents facteurs confondants liés afin de ne pas induire de biais. Par ailleurs, l'étude réalisée présente des résultats d'abondance, *ie* des nombres d'œufs par gramme de fèces, que nous considérons lors de nos conclusions comme corrélée avec le nombre d'adultes présents dans l'intestin. Or ce postulat n'a pas été clairement démontré chez les primates non humains, comme dans d'autres espèces, et, d'après certains primatologues, le nombre d'œuf dans les fèces ne devrait pas être considéré comme des indicateurs pertinents de l'intensité en vers (Gillespie T. R. , 2006). De plus, du fait que les *Oesophagostomum spp* s'installent dans la muqueuse intestinale en formant des nodules, il paraît peu pertinent de s'intéresser aux œufs de cette espèce parasitaire excrétés dans les fèces, puisque ces œufs sont piégés dans ces nodules et donc peu excrétés. Aussi la mesure de l'abondance d'*Oesophagostomum spp* en nombre d'œufs excrétés par gramme de fèces pourrait être erronée et ne devrait être analysée qu'en terme de critère qualitatif de l'infestation et non en tant que critère quantitatif. Concernant les autres espèces parasitaires, considérant que cette mesure est utilisée chez de nombreuses espèces animales, et que nous n'avons d'autres moyens non invasifs que de mesurer cette abondance, nous avons tout de même opté pour cette mesure. Il serait cependant préférable d'avoir des niveaux d'infestations définis afin que nous puissions classer ces infestations en « basses », « moyenne » et « haute » afin de surmonter cette difficulté. Ces données n'étant pas encore disponibles, nous nous sommes contentées de cette mesure peut être approximative de l'abondance. Enfin, il est à regretter l'échec des coprocultures, qui auraient permis une identification précise de tous les œufs retrouvés de façon certaine. Cet échec n'est pas vraiment expliqué, mais il semblerait qu'une culture, même réalisée de façon adéquate, ne permette pas le développement des larves, d'après de nombreux scientifiques interrogés à ce

sujet, et ce de manière inexplicite. L'identification des œufs a donc été effectuée sur les œufs de parasites seuls, et pourrait donc comporter des erreurs.

L'étude des infestations parasitaires en fonction du rang de dominance aurait également très intéressante à effectuer, étant donné les différences extrêmes entre mandrills dominants et dominés en terme d'accès à la nourriture, développement des caractères sexuels, accès aux femelles fertiles, stress, et corpulence ; ces analyses nécessitent cependant l'établissement d'un diagramme de dominance très précis, qui n'a pu être réalisé lors de cette étude, mais l'analyse de l'influence de la dominance dans les infestations parasitaires du mandrill est prévue très prochainement au CDP.

Au niveau des applications pratiques, cette étude aura permis de participer à la gestion future de la colonie de mandrills des enclos du CDP. En effet, il a été nécessaire de mettre en place la plateforme technique pour analyse coprologique en réaménageant un petit laboratoire et en faisant une synthèse bibliographique des critères d'identification des parasites et des techniques de coprologie, de frottis et goutte épaisse. Ce laboratoire est donc désormais opérationnel pour toute future analyse parasitologique.

Par ailleurs, ce bilan sanitaire parasitaire des individus lors de cette étude a initié un suivi parasitaire global (parasites gastro-intestinaux, ectoparasites et hémoparasites) des animaux qui sera à poursuivre ; en effet, ce suivi permet de détecter précocement les animaux trop infestés, et ce avant qu'ils ne développent de pathologie associée. Par exemple, lors de mon passage, deux cas de trichurose ont pu être détectés grâce à ce suivi quotidien des animaux et un traitement à base d'Albendazole (400 mg en une prise) a été mis en place afin de stopper les symptômes cliniques observés (maigreur, poil piqué...). Au contraire, un bilan annuel ponctuel ne permet de connaître l'état parasitaire de la colonie à un instant t et ne permet qu'opportunistement de traiter les animaux infestés. De même, étant donné que les animaux ne développent une pathologie parasitaire qu'en cas d'infestation massive, réaliser des coprologies uniquement lors de l'observation clinique des symptômes ne permet qu'un traitement dans l'urgence et met en péril la vie de l'animal. Il est donc préférable pour la santé des animaux de détecter ces infestations avant qu'elles ne soient responsables de pathologies, et de ce fait mettre en place un traitement ciblé, plutôt que de réagir précipitamment.

Bien que la majeure partie de la colonie n'ait pas été traitée depuis un an pour le besoin de cette étude, ce bilan a permis de montrer que les individus ne développaient pas plus de pathologie parasitaire que lorsqu'ils étaient traités. Le meilleur exemple est celui d'un mandrill décédé en mars, dont l'autopsie a révélé une infestation parasitaire intense (3650 œufs d'*Oesophagostomum spp* et 19 350 œufs de *Trichuris spp* par gramme de fèces), et qui faisait partie des animaux traités aux anthelminthiques seulement cinq mois avant sa mort, alors qu'au sein des 85% de la colonie qui n'avaient pas été traités depuis un an, aucun décès n'a été observé, du fait également de ce suivi. Le traitement annuel dispensé depuis des années à l'Ivermectine ne constitue donc pas à mon sens un traitement utile, du fait de la non rémanence du produit et de la faible infestation parasitaire des mandrills. Il permet seulement une purge parasitaire à un instant donné, et ne s'inclut pas dans la gestion raisonnée et intégrée du risque parasitaire. De plus, il semblerait que les parasites les plus communément retrouvés, à savoir *Oesophagostomum spp*, seraient des parasites communs des mandrills et limiteraient la colonisation de l'appareil digestif par d'autres espèces parasitaires plus pathogènes, par leur simple présence. Il serait même donc préférable de conserver cet équilibre hôte-parasites peu pathogènes mis en place, non préjudiciable à la santé de l'individu s'il est régulièrement contrôlé, plutôt que de bouleverser cet équilibre et permettre alors la colonisation par d'autres pathogènes comme *Trichuris spp*, causes de pathologies plus importantes. Ce suivi aura donc permis de modifier l'approche de la traitement anthelminthique, en ne traitant que les animaux réellement infestés à des taux importants. De

ce fait, il aura contribué à la limitation des traitements anthelminthiques, apportant également un frein au développement des résistances à l'Ivermectine au sein de la colonie. Ce bilan parasitaire de la colonie devra donc être poursuivi tout au long de l'année, et un animalier a été formé à cet effet. Il est désormais capable de prélever les animaux, de réaliser les analyses nécessaires et de désigner aux vétérinaires les individus dont l'infestation dépasse le nombre d'œufs habituellement observé chez les animaux en bonne santé au sein de la colonie ; les vétérinaires pourront alors décider des soins et/ou traitements à apporter. Plusieurs autres chercheurs ont été formés en analyse parasitaire coprologique et hématologique en vue de leurs études portant sur d'autres espèces de singes, ou en d'autres lieux.

Ce stage m'aura permis de me former dans toutes les analyses parasitologiques, ainsi qu'en recherche d'information. Il m'aura apporté de solides connaissances parasitologiques, tant au niveau des techniques qu'au niveau de la pathogénicité et de la biologie des parasites présents chez les PNH, et m'aura permis de mettre en application les bases de gestion et d'analyses de données dispensées cette année. Il m'aura également permis d'apprendre à travailler en équipe pluridisciplinaire et à former un public hétérogène à des techniques de laboratoire. Ce passage au CIRMF m'aura également apporté une formation complémentaire en détection et gestion de pathologies tropicales spécifiques des primates, en recherche fondamentale, méthodologie et analyses de données statistiques.

Conclusion

En définitive, cette étude aura fait un bilan des espèces parasites présentes au sein de la colonie, et mis en évidence des facteurs de risques, à savoir le sexe, l'âge, les statuts rétro-virologiques, l'habitat et la saison, impliqués dans la prévalence, l'abondance et la diversité des divers parasites. Ces facteurs de risque peuvent toujours être mis en relation avec le statut immunitaire de l'individu, et des analyses ultérieures viseront à mettre en relation ce bilan parasitaire avec l'état immunologique de l'individu à cet instant t (étude à venir). La mise en évidence des statuts rétro-virologiques comme facteurs de risque amène à poser de nouvelles problématiques, et de nombreuses futures études sont à prévoir pour étudier leurs interactions avec d'autres facteurs. La gestion intégrée du risque parasitaire au niveau de la colonie de mandrills du CIRMF sera l'application pratique élaborée sur la base de cette étude.

Bibliographie

- Abernethy K. A., White L. J. T., Wickings E. J., 2002. Hordes of mandrills (*Mandrillus sphinx*): extreme group size and seasonal male presence. *Journal of Zoology* 258, 131-137.
- Abu-Raddad L.J., 2006. Dual Infection with HIV and Malaria Fuels the Spread of Both Diseases in Sub-Saharan Africa. *Science* 314.
- Allan, J.S., Leland, Michelle, Broussard, Suzanne, Mone, James and Hubbard, Gene., 2001. Simian T-Cell Lymphotropic Viruses (STLVs) and Lymphomas in African Nonhuman Primates. *Cancer Investigation* 19:4, 383 — 395.
- Allela N.L., 2005. Contribution de l'étude de l'impact de la santé des primates en aires protégées sur celles des populations humaines: examens parasitologiques chez les travailleurs du WCS et chez les mandrills (*Mandrillus sphinx*) du parc national de la Lopé.
- Altizer S., Dobson A.P., Hosseini P., Hudson P., Pascual M., Rohani P., 2006. Seasonality and the dynamics of infectious diseases. *Ecology Letters* 9, 467-484.
- Altizer S., Nunn C. L., Lindenfors P., 2007. Do threatened hosts have fewer parasites? A comparative study in primates. *Journal of Animal Ecology* 76, 304-314.
- Appleton C. C., Krecke R. C., Verster A., Bruerton M. R., Lawes M. J., 1994. Gastrointestinal Parasites of the Samango Monkey, *Cercopithecus-Mitis*, in Natal, South-Africa. *J. Med. Primatol.* 23, 52-55.
- Atlas, I.p., 2009. [Online][2009/08/30]<URL:http://www.cdfound.to.it/html/at_intel.htm#intel>.
- Bain O., Diagne M., Muller R., 1987. A 5th Filaria of the Genus *Dipetalonema*, Parasite of South-American Monkeys. *Annales De Parasitologie Humaine Et Comparee* 62, 262-270.
- Bain O., Wamae C. N., Reid G. D. F., 1988. Diversity of the Filariæ *Cercopithifilaria* Parasites of Baboons in Kenya. *Annales De Parasitologie Humaine Et Comparee* 63, 224-239.
- Bain O., Wamae C. N., Reid G. D. F., 1989. Description of *Cercopithifilaria-Verveti* N-Sp, a Subcutaneous Filarial Parasite of the Vervet Monkey in Kenya. *Annales De Parasitologie Humaine Et Comparee* 64, 42-45.
- Bezjian M., Gillespie T. R., Chapman C. A., Greiner E. C., 2008. Coprologic evidence of gastrointestinal helminths of forest baboons, *Papio anubis*, in Kibale National Park, Uganda. *J Wildl Dis* 44, 878-887.
- Calattini S., Nerrien E., Mauclere P., Georges-Courbot M. C., Saib A., Gessain A., 2004. Natural simian foamy virus infection in wild-caught gorillas, mandrills and drills from Cameroon and Gabon. *Journal of General Virology* 85, 3313-3317.
- CDC, 2009a. Parasites and Health "Trichuriasis" [Online][2009/09/26]<URL:<http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/HTML/Trichuriasis.htm>>.
- CDC, C.f.D.C., 2009b. "Trichostrongylosis" [Online][2009/09/26]<URL:http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/HTML/Frames/S-Z/Trichostrongylosis/body_Trichostrongylosis_page1.htm>.
- Chapman C. A., Gillespie T. R., Speirs M. L., 2005. Parasite prevalence and richness in sympatric colobines: effects of host density. *Am J Primatol* 67, 259-266.
- Chiba T., 1961. 2 Autopsy Cases of Abdominal Filaria Infection of Wolly Monkey. *Acta Pathologica Japonica* 11, 279-&.
- CNRS, 2009. [Online]. [2009/08/29]<URL:<http://ethique.ipbs.fr/sdv/trichurose.pdf>>.
- CNRS Fagherazzi-Pagel H., 2009. "Maladies émergentes et réémergentes chez l'homme" [Online][2009/09/26]<URL:http://veille.inist.fr/sites/inist_veille/IMG/pdf/Maladies_emergentes_maj17juillet2009.pdf>.
- Coatney, C., Warren, Contacos., 1971. The Primate Malarías.
- Cohn D. L., Smith V., Pizarro M., Jones-Engel L., Engel G., Fuentes A., Shaw E., Cortes J., 2007. Pediculosis in *Macaca sylvanus* of Gibraltar. *Vet. Parasitol.* 145, 116-119.
- Darwin C., 1871. *The Descent of Man, and Selection in Relation to Sex*. Princeton University Press Princeton, New Jersey.
- Davies T. J., Pedersen A. B., 2008. Phylogeny and geography predict pathogen community similarity in wild primates and humans. *Proc Biol Sci* 275, 1695-1701.
- de Thoisy B., Michel J. C., Vogel I., Vie J. C., 2000. A survey of hemoparasite infections in free-ranging mammals and reptiles in French Guiana. *J. Parasitol.* 86, 1035-1040.
- Earthym, 2009. [Online][2009/09/26]<URL:<http://www.earthym.net/ref-hookworms.htm>>.

- Euzéby J., 1981. Diagnostic Expérimental des Helminthoses Animales. In: Vétérinaires, E.I.t.d.S. (Ed.), Diagnostic ante mortem. Paris, pp. 145-245.
- Fandeur T., Volney B., Peneau C., De Thoisy B., 2000. Monkeys of the rainforest in French Guiana are natural reservoirs for P-brasilianum/P-malariae malaria. Parasitology 120, 11-21.
- FAO, 1994. The epidemiology, diagnosis and control of helminth parasites of ruminants"Techniques for parasite assays and identification in faecal samples"[Online][2009/08/29]<URL:<http://www.fao.org/wairdocs/ILRI/x5492E/x5492e05.htm#3.6.5%20identification%20of%20infective%20larvae>>.
- FAO, 2009. [On line].[2009/03/15].<URL : <http://www.fao.org/wairdocs/ILRI/x5492E/x5492e05.htm#3.4%20quantitative%20techniques%20for%20separating%20and%20concentrating%20eggs%20larvae>>
- Friedenberg F., Wongpraparut N., Fischer R. A., Gubernick J., Zaeri N., Eiger G., Ozden Z., 1999. Duodenal obstruction caused by Strongyloides stercoralis enteritis in an HTLV-1-infected host. Dig. Dis. Sci. 44, 1184-1188.
- Garnham P. C., Ikata M., Minter D. M., Heisch R. B., Phipps J. D., 1961. Culicoides Adersi Ingram and Macfie, 1923, a Presumed Vector of Hepatocystis (=Plasmodium) Kochi (Laveran,1899). Nature 190, 739-&.
- Gauthier A., 2005. Etude de la prévalence des Oesophagostomes chez les Mandrills, Chimpanzés, et Gorilles au Gabon et de l'importance du risque de zoonose.
- GEMI, C.-I., [Online][2009/09/01]<<http://www2.cnrs.fr/sites/communiquer/fichier/gemi.pdf>>.
- Gillespie T. R. , 2006. Noninvasive Assessment of Gastrointestinal Parasite Infections in Free-Ranging Primates. International Journal of Primatology Vol. 27,No. 4, DOI: 10.1007/s10764-10006-19064-x.
- Gillespie T. R., Chapman C. A., 2006. Prediction of parasite infection dynamics in primate metapopulations based on attributes of forest fragmentation. Conserv Biol 20, 441-448.
- Gillespie T. R., Chapman C. A., 2008. Forest fragmentation, the decline of an endangered primate, and changes in host-parasite interactions relative to an unfragmented forest. American Journal of Primatology 70, 222-230.
- Gillespie T. R., Greiner E. C., Chapman C. A., 2004. Gastrointestinal parasites of the guenons of western Uganda. J. Parasitol. 90, 1356-1360.
- Gillespie T. R., Greiner E. C., Chapman C. A., 2005. Gastrointestinal parasites of the colobus monkeys of Uganda. J. Parasitol. 91, 569-573.
- Gillespie T. R., Nunn C. L., Leendertz F. H., 2008. Integrative approaches to the study of primate infectious disease: implications for biodiversity conservation and global health. Am J Phys Anthropol Suppl 47, 53-69.
- Goldberg T.L. , Gillespie T. R. , Rwego I. B. , Estoff E. L. , Chapman C.A., 2008. Forest Fragmentation as Cause of Bacterial Transmission among Nonhuman Primates, Humans, and Livestock, Uganda. Emerging Infectious Diseases Vol. 14, No. 9.
- Gordon S., P.I., Dunham R., Apetrei C., Silvestri G., The Call of the Wild: What Can Be Learned from Studies of SIV Infection of Natural Hosts?
- Hennessy A., Phippard A. F., Harewood W. J., Horam C. J., Horvath J. S., 1994. Helminthic Infestation Complicated by Intussusception in Baboons (Papio-Hamadryas). Laboratory Animals 28, 270-273.
- Hirata, U., Kishimoto, Zaha, Kinjo, Hokama, Sakugawa, Kinjo F., et Fujita, 2006. Impairment of host immune response against strongyloides stercoralis by human T cell lymphotropic virus type 1 infection. Am. J. Trop. Med. Hyg., 74(2) 246–249.
- Homsy J., 1999. TOURISME, GRANDS SINGES ET MALADIES HUMAINES: Où est la limite? Une Analyse Critique des Règles Régissant la Gestion des Parcs et le Tourisme pour le Gorille de Montagne sauvage, Gorilla gorilla beringei: Rapport d'une Consultation pour le Programme International pour la Conservation des Gorilles (PICG), Rwanda.
- Itoua A., Cornet M., Vatter-Bernard G., Trouille J., 1987. Les Culicoides (Diptera, Ceratopogonidae) d'Afrique Centrale. Ent. méd. et Parasitol. numéro spécial, 127-134.
- Johnstone C., 2000. Parasites and Parasitic Diseases of Domestic Animals"Oesophagostomum, morphology and species"[Online].[2009/08/29] <URL:http://cal.vet.upenn.edu/projects/merial/Strongls/strong_6.htm>
- Keele B. F., Jones J. Holland, Terio K. A., Estes J. D., Rudicell R. S., Wilson M. L., Li Y., Learn G. H., Beasley T. M., Schumacher-Stankey J., Wroblewski E., Mosser A., Raphael J., Kamenya S., Lonsdorf E. V., Travis, D.A., Mlengya T., Kinsel M. J., Else J. G., Silvestri G., Goodall J., Sharp P. M., Shaw G. M., Pusey A. E., Hahn B. H., 2009. Increased mortality and AIDS-like immunopathology in wild chimpanzees infected with SIVcpz. Nature 460, 515-519.
- Ko'ndgen S., Ku' hl H., N'Goran P., Walsh P.D, Schenk S., Ernst N., Biek R., Formenty P., Ma'tz-Rensing K., Schweiger B., Junglen S., Ellerbrok H., Nitsche A., Briese T., Lipkin W.I, Pauli G., Boesch C., Leendertz F.H., 2008. Pandemic Human Viruses Cause Decline of Endangered Great Apes

- Krief S., Jamart A., Mahé S., Leendertz F.H., Mätz-Rensing K., Crespeau F., Bain O., Guillot J., 2008. Clinical and pathologic manifestation of oesophagostomosis in African great apes: does self-medication in wild apes influence disease progression? , pp. 188-195.
- Lebarbenchon C., Brown S. P., Poulin R., Gauthier-Clerc M., Thomas F., 2008. Evolution of pathogens in a man-made world. *Mol Ecol* 17, 475-484.
- Lochmiller R.L., Deerenberg C., 2000. Trade-offs in evolutionary immunology: just what is the cost of immunity? *Oikos* 88, 87-98.
- Makuwa M., Souquiere S., Clifford S. L., Telfer P. T., Salle B., Bourry O., Onanga R., Mouinga-Ondeme A., Wickings E. J., Abernethy K. A., Rouquet P., Simon F., Roques P., 2004. Two distinct STLV-1 subtypes infecting *Mandrillus sphinx* follow the geographic distribution of their hosts. *Aids Research and Human Retroviruses* 20, 1137-1143.
- Manwell R.D., Kuntz R.E., 1966. Hepatocystis in Formosan Mammals with a Description of a New Species. pp. 670-672.
- MERCK, 2009. [Online][2009/08/29]<URL:<http://www.merckvetmanual.com/mvm/index.jsp?cfile=htm/bc/171003.htm>>.
- Muehlenbein M. P., 2005. Parasitological analyses of the male chimpanzees (*Pan troglodytes schweinfurthii*) at Ngogo, Kibale National Park, Uganda. *American Journal of Primatology* 65, 167-179.
- Munene E., Otsyula M., Mbaabu D. A. N., Mutahi W. T., Muriuki S. M. K., Muchemi G. M., 1998. Helminth and protozoan gastrointestinal tract parasites in captive and wild-trapped African non-human primates. *Vet. Parasitol.* 78, 195-201.
- Muriuki S. M. K., Murugu R. K., Munene E., Karere G. M., Chai D. C., 1998. Some gastro-intestinal parasites of zoonotic (public health) importance commonly observed in old world non-human primates in Kenya. *Acta Tropica* 71, 73-82.
- Nelson R.J., 2004. Seasonal immune function and sickness responses. *Trends in Immunology* 25, 187-192.
- Nerrienet E., Amouretti X., Muller-Trutwin M. C., Poaty-Mavoungou V., Bedjebaga I., Nguyen H. T., Dubreuil G., Corbet S., Wickings E. J., Barre-Sinoussi F., Georges A. J., Georges-Courbot M. C., 1998. Phylogenetic analysis of SIV and STLV type I in mandrills (*Mandrillus sphinx*): indications that intracolony transmissions are predominantly the result of male-to-male aggressive contacts. *AIDS Reserach and Human Retroviruses* 14, 785-796.
- Nogue S., Rull V., Vegas-Vilarrubia T., 2006. Modeling biodiversity loss by global warming on Pantepui, northern South America: projected upward migration and potential habitat loss. In, 2nd International Young Scientists Global Change Conference, Beijing, PEOPLES R CHINA, pp. 77-85.
- Olival K. J., Stiner E. O., Perkins S. L., 2007. Detection of Hepatocystis sp in Southeast Asian flying foxes (Pteropodidae) using microscopic and molecular methods. *J. Parasitol.* 93, 1538-1540.
- Ostfeld R. S., 2009. Biodiversity loss and the rise of zoonotic pathogens. *Clin. Microbiol. Infect.* 15, 40-43.
- parasitologie, C.d., 2009. "Ankylostomiase"[Online].[2009/08/29].<URL:<http://coursdeparasitologie.ifrance.com/Parasites/Ankylostomiase.htm>>.
- Peignot P., Charpentier M. J. E., Bout N., Bourry O., Massima U., Dosimont O., Terramorsi R., J., W.E., 2008. Learning from the first release project of captive-bred mandrills *Mandrillus sphinx* in Gabon. *Oryx* 42, 122-131.
- Petit G., Bain O., Roussillon C., 1985. 2 New Filariae of a Monkey, *Saimiri-Sciureus*, from Guyana. *Annales De Parasitologie Humaine Et Comparee* 60, 65-81.
- Phillipsconroy J. E., Lambrecht F. L., Jolly C. J., 1988. Hepatocystis in Populations of Baboons (*Papio-Hamadryas S1*) of Tanzania and Ethiopia. *J. Med. Primatol.* 17, 145-152.
- Phthirapterists, I.S.o., 2003. "Mammals and their associated lice"[Online][2009/98/30]<URL:<http://www.phthiraptera.org/Checklists/Mammals/Cercopithecidae.html>>.
- Reed, L., Allen, and Kirchman, 2007. Pair of lice lost or parasites regained: the evolutionary history of anthropoid primate lice. *BMC Biol.* 5: 7.
- Reithinger R., Kanya M. R., Whitty C. J. M., Dorsey G., Vermund S. H., 2009. Interaction of malaria and HIV in Africa. *Br. Med. J.* 338, 2.
- Remfry J., 1978. The incidence, pathogenesis and treatment of helminth infections in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). *Laboratory Animals* 12, 213-218.
- Rivasi F., Pampiglione S., Boldorini R., Cardinale L., 2006. Histopathology of gastric and duodenal *Strongyloides stercoralis* locations in fifteen immunocompromised subjects. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 130, 1792-1798.

- Roberts M.L., Buchanan K.L., Evans P.R., 2004. Testing the immunocompetence handicap hypothesis: a review of the evidence. *ANIMAL BEHAVIOUR* 68, 227-239.
- Rogers M. E., Abernethy K. A., Fontaine B., Wickings E. J., White L. J. T., Tutin C. E. G., 1996. Ten days in the life of a mandrill horde in the Lope Reserve, Gabon. *American Journal of Primatology* 40, 297-313.
- Ronald N. C., Wagner J. E., 1973. Pediculosis of Spider Monkeys - Case Report with Zoonotic Implications. *Lab. Anim. Sci.* 23, 872-875.
- Sallé B., 2006. Intérêt des primates africains dans la recherche sur le paludisme.
- Seethamchai S., Putaporntip C., Malaivijitnond S., Cui L., Jongwutiwes S., 2008. Malaria and Hepatocystis Species in Wild Macaques, Southern Thailand. pp. 646-653.
- sémiologie, D., Goutte épaisse[Online][2009/09/01]<http://ifr48.timone.univ-mrs.fr/Dictionnaire_semiologie/prelevement/goutte_epaisse.htm>
- Senior K., 2008. Reducing biodiversity loss now a Millennium Development Goal. *Front. Ecol. Environ.* 6, 462-462.
- Setchell J. M., Bedjabaga I. B., Goossens B., P., R., Wickings E. J., Knapp L. A., 2007. Parasite prevalence, abundance, and diversity in a semi-free-ranging colony of *Mandrillus sphinx*. *International Journal of Primatology* 28, 1345-1362.
- Setchell J. M., Charpentier M., Wickings E. J., 2005. Sexual selection and reproductive careers in mandrills (*Mandrillus sphinx*). *Behavioral Ecology and Sociobiology* 58, 474-485.
- Setchell J. M., Dixson A. F., 2001. Circannual changes in the secondary sexual adornments of semifree-ranging male and female mandrills (*Mandrillus sphinx*). *American Journal of Primatology* 53, 109-121.
- Setchell J. M., Dixson A. F., 2002. Developmental variables and dominance rank in adolescent male mandrills (*Mandrillus sphinx*). *American Journal of Primatology* 56, 9-25.
- Setchell J. M., Lee P. C., Wickings E. J., Dixson A. F., 2001. Growth and ontogeny of sexual size dimorphism in the mandrill (*Mandrillus sphinx*). *American Journal of Physical Anthropology* 115, 349-360.
- Setchell J. M., Lee P. C., Wickings E. J., Dixson A. F., 2002. Reproductive parameters and maternal investment in mandrills (*Mandrillus sphinx*). *International Journal of Primatology* 23, 51-68.
- Setchell J. M., Wickings E. J., 2005. Dominance, status signals and coloration in male mandrills (*Mandrillus sphinx*). *Ethology* 111, 25-50.
- Setchell J.M., W.E.J., 2004. Social and seasonal influences on the reproductive cycle in female mandrills (*Mandrillus sphinx*). *Am J Phys Anthropol* 125(1), 73-84.
- Setchell JM, W.E., 2004. Social and seasonal influences on the reproductive cycle in female mandrills (*Mandrillus sphinx*). *Am J Phys Anthropol* 125(1), 73-84.
- Sheldon B.C., Verlust S., 1996. Ecological immunology: costly parasite defences and trade-offs in evolutionary ecology. *Trends in Ecology and Evolution* 11, 317-321.
- Silvestri G., Paiardini M., Pandrea I., Lederman M. M., Sodora D. L., 2007. Understanding the benign nature of SIV infection in natural hosts. *The Journal of Clinical Investigation* Volume 117 Number 11.
- Souquiere S., Bibollet-Ruche F., Robertson D. L., Makuwa M., Apetrei C., Onanga R., Kornfeld C., Plantier J. C., Gao F., Abernethy K., White L. J. T., Karesh W., Telfer P., Wickings E. J., Mauclore P., Marx P. A., Barre-Sinoussi F., Hahn B. H., Muller-Trutwin M. C., Simon F., 2001. Wild *Mandrillus sphinx* are carriers of two types of lentivirus. *Journal of Virology* 75, 7086-7096.
- Stafford E. E., Beaudoin R. L., Galdikasbrindamour B., 1978. Hepatocystis in Orangutan, Pongo-Pygmaeus. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 72, 106-107.
- Starost M. F., Karjala Z., Brinster L. R., Miller G., Eckhaus M., Bryant M., Hoffman V., 2005. Demodex spp. in the hair follicles of rhesus macaques (*Macaca mulatta*). *J. Med. Primatol.* 34, 215-218.
- Tanaka I., Takefushi H., 1993. Elimination of External Parasites (Lice) Is the Primary Function of Grooming in Free-Ranging Japanese Macaques. *Anthropol. Sci.* 101, 187-193.
- Team, R.D.C., 2008. R: A Language and Environment for Statistical Computing. In: Computing, R.F.f.S. (Ed.), Vienna, Austria.
- Turner T. R., Lambrecht F. L., Jolly C. J., 1982. Hepatocystis Parasitemia in Wild Kenya Vervet Monkeys (*Cercopithecus-Aethiops*). *J. Med. Primatol.* 11, 191-194.
- UICN, 2009. Red List[Online][2009/09/01]<<http://www.iucnredlist.org/search>>.
- Viney M. E., L.J.B., 2009. Wormbook.org"Strongyloides spp." [Online][2009/08/29]<http://wormbook.org/chapters/www_genomesStrongyloides/genomesStrongyloides.pdf>
- Vitone N. D., Altizer S., Nunn C. L., 2004. Body size, diet and sociality influence the species richness of parasitic worms in anthropoid primates. *Evolutionary Ecology Research* 6, 183-199.
- Weyher A. H., Ross C., Semple S., 2006. Gastrointestinal parasites in crop raiding and wild foraging *Papio anubis* in Nigeria. *International Journal of Primatology* 27, 1519-1534.

- Wolfe N. D. , Heneine W., Carr J. K., Garcia A.D, Shanmugam V., Tamoufe U., Torimiro J.N, Prosser A.T, LeBreton M., Mpoudi-Ngole E., McCutchan F.E, Birx D.L, Folks T.M, Burke D.S, M. Switzer W.M., 2005. Emergence of unique primate T-lymphotropic viruses among central African bushmeat hunters. PNAS vol. 102 no. 22, 7994-7999.
- WVC, W.V.C., 2009. "Oesophagostomum"[Online][2009/09/26]<URL:<http://www.vet-zone.com/Livestock/Oesophagostomum.html>>.
- Ziem J. B., Spannbrucker N., Magnussen P., Olsen A., Amon-Kotey D. N., Frenzel K., Nang-beifubah A., Westendorp R. G. J., Polderman A. M., 2005. Oesophagostomum bifurcum-induced nodular pathology in a highly endemic area of Northern Ghana. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 99, 417-422.
- Zuk M., McKean K.A., 1996. Sex differences in parasite infections: patterns and processes. International Journal of Parasitology 26, 1009-1024.

ANNEXE 1 : Méthodes d'analyses coprologiques

Flottation

1) Objectifs et principe:

La cellule de Mac Master est une cellule composée de deux lames superposées. Cette cellule est séparée en une, deux ou trois chambres. Sur la face inférieure de la lame supérieure, un réseau a été tracé, ce qui permet de se repérer lors de la lecture de la lame et chaque chambre contient une quantité fixe de liquide. Ainsi, cette cellule permet une quantification du nombre d'œufs détectés.

Les œufs de nématodes, peu denses, sont amenés à flotter, lorsqu'ils sont placés dans une solution saline dense, à l'intérieur des chambres de la cellule de Mac Master . Ils se collent donc sur la face inférieure de la lame supérieure de la cellule. En faisant donc le point sur le réseau gravé au-dessous, on peut détecter et compter ces œufs au microscope.

Cette méthode permet donc de détecter, identifier et dénombrer les œufs de nématodes présents.

2) Matériel:

- Une cellule de mac master
- 2 verres à pied
- Un tamis
- Des compresses
- Des spatules jetables
- Des pipettes pasteur
- Une balance

3) Solution saline

Afin que les œufs de nématodes flottent, il faut une solution plus dense. Une solution saline saturée est généralement utilisée. Une solution saturée en NaCl est parfaitement efficace, même si une solution de NaNO₃ est le gold standard (Gillespie T. R. , 2006).

La solution de NaCl est obtenue en mélangeant 400 grammes de sel de cuisine, et en complétant à 1 litre d'eau.

4) Réalisation

- Peser précisément 3 g de fèces (ou 2g ou 1g) à l'aide d'une spatule jetable
- Les placer dans un verre à pied ou un bécher
- Mesurer précisément 42 ml de solution saline (respectivement 28ml et 14ml)
- Les rajouter aux fèces et mélanger pour « dissoudre » au maximum les fèces
- Placer un tamis sur un 2ème verre à pied
- Rajouter une compresse pliée en 2 sur ce tamis
- Filtrer le mélange fèces-solution saline à travers ces tamis

- À l'aide d'une pipette pasteur à usage unique, prélever du mélange fèces-solution saline filtré
- En remplir 1, 2 ou 3 chambres d'une cellule de mac master
- Laisser reposer la cellule de Mac Master pendant au moins 5 minutes (pour permettre aux œufs de nématodes de flotter)
- Attention: ne pas attendre plus de 20 min avant analyse (les œufs retombent)
- Placer la lame sous l'objectif 10
- Faire le point sur le réseau
- Placer la lame de façon à avoir un réseau entier dans le champ
- Balayer la lame réseau après réseau en comptant les différents œufs de parasites observés

Si la lecture est faite sur 2 chambres, multiplier le nombre d'œufs comptés par 50 pour avoir le nombre d'œufs par gramme de fèces

Si la lecture est faite sur 1 seule chambre, multiplier par 100

Cette méthode est donc optimale pour quantifier les œufs de nématodes, peu denses. Par contre, elle n'est pas adaptée à la détection des œufs de trématodes et aux kystes de *Balantidium coli*, plus lourds et plus denses.

Sédimentation

1) Objectif et Principe

Cette méthode est basée sur le fait que les œufs de trématodes et les kystes de protozoaires sont denses et vont donc sédimenter par gravité.

L'examen au microscope de ce culot de sédimentation va permettre de détecter ces œufs lourds.

2) Matériel

- Une balance
- 2 verres à pied
- Tamis
- Eau distillée
- Solution d'hibitane diluée au 100ème (10 ml d'hibitane complété à 1L d'eau)
- Pipettes pasteur
- Lames
- Lamelles
- Solution de bleu de méthylène dilué au 10ème (1g de poudre de bleu de méthylène avec 10 ml d'eau distillée)

3) Réalisation

- Peser 1 g de fèces
- Dans un verre à pied, mélanger les fèces avec 10 ml d'eau distillée, avec une spatule jetable
- Passer ce mélange au tamis au dessus d'un autre verre à pied
- Répéter l'opération plusieurs fois pour éliminer le plus de débris végétaux
- Éliminer le maximum de ce qui reste dans le tamis
- Rincer le tamis au dessus du mélange filtré, avec 4 ml d'une solution détergente douce (Teepol ou solution d'hibitane diluée au 100^{ème})
- Laisser sédimenter le tout 1h minimum ou centrifuger 10 ml de la solution pendant 3 minutes à 1500 tours/min
- Éliminer les $\frac{3}{4}$ du liquide surnageant avec une seringue
- Avec une pipette pasteur, agiter le reliquat et en prélever quelques gouttes
- Les déposer sur une lame
- Ajouter 2-3 gouttes de bleu de méthylène dilué au 10^{ème} (colore seulement les débris végétaux et pas les œufs de parasites)
- Recouvrir d'une lamelle
- Lire la lame à l'objectif 10 pour les trématodes et 40 pour les protozoaires

Coprocultures

1) Objectif et principe

Permet le développement des œufs de nématodes contenus dans les fèces, en larves infestantes, plus faciles à identifier.

Cette méthode est particulièrement utile lorsque les fèces hébergent des œufs de nématodes semblables morphologiquement, à savoir *Ankylostoma spp*, *Oesophagostomum spp*, *Trichostrongyloïdes spp*, *Strongyloïdes spp*.

Elle consiste à mettre les fèces et les œufs qu'elles contiennent dans les conditions favorables à leur éclosion, pendant un temps d'incubation, et d'analyser ensuite les larves infestantes écloses, plus aisément identifiables morphologiquement.

2) Matériel

- Grandes boîtes de pétri
- Couvercles de petites boîtes de pétri
- Papier filtre découpé au diamètre de la petite boîte de pétri
- Charbon
- Centrifugeuse
- Eau distillée

3) Réalisation

- Identifier une grande boîte de pétri
- Prendre le couvercle d'une petite boîte de pétri et le placer au centre de la grande boîte
- Poser le papier filtre découpé à son diamètre dessus
- Peser 5 g de fèces dans la coupelle
- Rajouter environ autant de charbon que de fèces dans cette coupelle et mélanger, jusqu'à ce que le mélange soit assez sec
- Écraser le mélange sur le papier filtre en aplatissant
- Remplir la grande boîte à pétri avec 30 ml d'eau jusqu'à ce que le papier filtre soit humide
- Fermer la boîte de pétri
- Mettre dans une armoire à plat, à l'obscurité, à $t^{\circ}=27^{\circ}\text{C}$, pendant 10 à 12 jours (Gauthier A., 2005)
- Pendant la durée d'incubation, ouvrir quotidiennement les boîtes à pétri pour aérer et maintenir le papier filtre humide en rajoutant de l'eau
- 10 à 12 jours plus tard:
 - Recueillir 10 ml du liquide de coproculture
 - Centrifuger à 1500 tours/min pendant 10 minutes
 - Éliminer le surnageant
 - Recueillir le culot à la pipette pasteur
 - Le mettre entre lame et lamelle
 - Observer au microscope objectif 10, repérer et identifier les larves mobiles

ANNEXE 2 : méthodes pour recherche d'hémoparasites

Goutte épaisse

- A partir d'un prélèvement de sang sur tube EDTA, déposer une petite goutte de sang (environ 5 microlitres) au centre d'une lame dégraissée, identifiée et datée
- Avec le coin d'une autre lame, tourner doucement dans la goutte déposée pour défibriner le sang et l'étaler sur environ 1 cm de diamètre, pendant quelques secondes
- Sécher rapidement au sèche cheveux (mieux en pays humide)
- Laisser finir de sécher pendant au moins 3 heures (plus le temps de séchage est long, meilleure sera la coloration), à plat.
- Colorer au Giemsa Stain, modifié, Accustain^R nom déposé à la dilution 25 %, pendant 20 minutes
- Rincer à l'eau distillée doucement dans un bécher
- Laisser sécher
- Observer au microscope à l'objectif 40 et à l'objectif à immersion.
- Repérer les formes parasitaires et les compter (sur 100 lymphocytes)
- Si, au bout de 10 minutes, aucun parasite n'a été identifié, considérer que la lame ne contient aucun parasite

Frottis sanguins pour recherche de *Plasmodium spp*

- Sur une lame préalablement dégraissée, identifiée et datée, déposer une très petite goutte de sang (à partir du même prélèvement sanguin sur EDTA), à une extrémité de la lame
- Avec une autre lame, reculer dans la goutte, laisser le sang s'étaler le long du bord de la lame
- Puis étaler ce sang en allant vers le bout opposé de la lame
- Sécher rapidement au sèche cheveux
- Fixer au méthanol
- Dans les 8 jours, colorer au Giemsa pendant 20 minutes

Leucoconcentration pour recherche de filaires

- A partir du sang sur EDTA, en prendre 1 ml et le mélanger à 10 ml de sérum physiologique
- Rajouter environ 1 ml de saponine 2% (lyse les hématies)
- Bien mélanger
- Centrifuger à 1500 tours/ min pendant 10 minutes
- Eliminer le surnageant constitué des hématies lysées
- Récupérer le culot et l'examiner entre lame et lamelle à l'objectif 10

Goutte épaisse pour identification des microfilaires

Si une leuco concentration permet de détecter une ou plusieurs microfilaires, elle est insuffisante quant à l'identification précise du type de microfilaire.

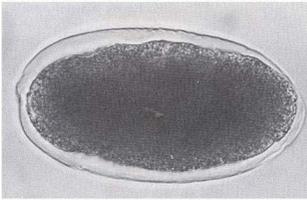
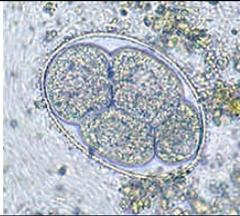
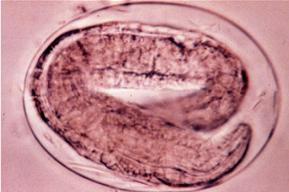
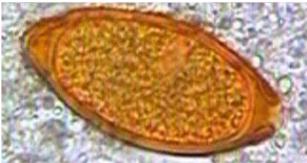
On a donc recours à une goutte épaisse pour identification de microfilaire.

Cette goutte épaisse est semblable à celle réalisée pour la recherche de plasmodium, sauf qu'avant l'étape de coloration, il faut rajouter une étape de rinçage jusqu'à ce que la lame soit transparente (élimination des hématies).

Toutes les autres étapes sont identiques.

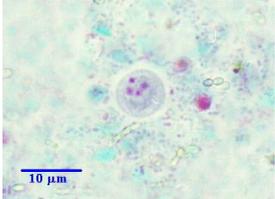
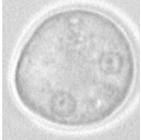
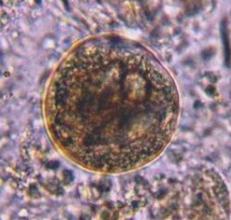
L'identification des microfilaires sera alors effectuée par des spécialistes.

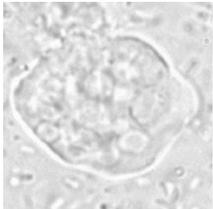
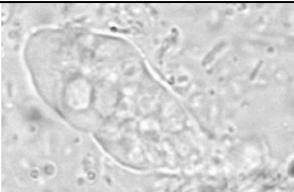
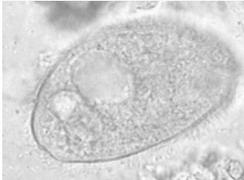
ANNEXE 3 : critères de différenciation des œufs de parasites

| | Taille | Couleur | Forme | Pôles | Coque | Morula/ embryon | Opercule | Différentiel avec | Illustration |
|-----------------------------|--------------------------|--------------------------|-------|--|--|--|------------------|--|---|
| <i>Oesophagostomum spp</i> | 65 fois 40 microns | Transparent | Ovale | Pôles égaux et bien arrondis | Dépourvue d'ornement, épaisse | Morula dense ne remplissant pas la totalité de la coque, de 16 à 32 blastomères | non operculée | <i>Ancylostoma spp</i> et <i>Trichostrongylus spp</i> |  |
| <i>Ancylostoma spp</i> | 60 fois 40 microns | Transparent | Ovale | Pôles égaux et bien arrondis | Dépourvue d'ornement, fine, translucide | Morula peu dense, de 4 à 8 blastomères | non operculée | <i>Oesophagostomum spp</i> |  |
| <i>Trichostrongylus spp</i> | 80 fois 40 microns | Transparent | Ovale | Pôles inégaux : 1 pôle aigu | Dépourvue d'ornement, épaisse | Morula dense de 16 à 32 blastomères | non operculée | <i>Oesophagostomum spp</i> |  |
| <i>Strongyloïdes spp</i> | 50 fois 35 microns | Transparent | Ovale | Pôles larges | Coque très mince | Embryon vermiforme | non operculée | <i>Ancylostoma spp</i> embryonné |  |
| <i>Trichuris spp</i> | | Jaune-brun « citron » | | 2 bou- chons polaires saillants | | | | |  |

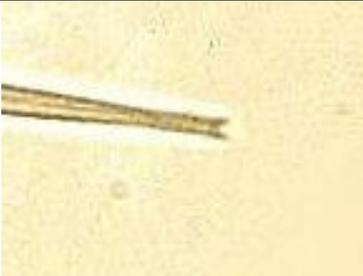
| | | | | | | | | | |
|----------------------------|------------------------------------|----------------|--------|------------------|--|--|--------------------|---|---|
| <i>Dicrocoeliidés</i> | 45 X 25 microns | Couleur foncée | | Couronne de cils | | 2 masses de cellules germinales | Operculé à un pôle | |  |
| <i>Ascaris spp</i> | de 45-75 microns par 35-50 microns | Jaune à brun | | | Coque épaisse mamelonné | Embryonné | | Débris végétaux |  |
| <i>Mammomonogamus spp</i> | 40 x 80 microns | | | | Coque très épaisse | | Non operculée | <i>Oesophagostomum spp,</i> <i>Ancylostoma spp</i> |  |
| <i>Bertiella spp</i> | 40 microns | | ovoïde | | Coque épaisse | Embryon pyriforme : 6 crochets groupés en 3 paires | | |  |
| <i>Hymenolepsis spp</i> | 50 microns | | ovoïde | | Coque épaisse claire et lisse | Embryon non pyriforme ; 6 crochets groupés en 3 paires | | |  |
| <i>Schistosoma mansoni</i> | 110-175 microns par 45-70 microns | Jaune | | | Gros éperon latéral développé pointu transparent | Contient une larve mobile | | |  |

ANNEXE 4 : clés de différenciation des principaux protozoaires rencontrés chez les primates non humains

| Kystes : | Taille | Forme | Coque | Caryosome | Noyau | Illustration |
|------------------------------|----------------------|------------------------|-----------------------------------|-------------------|-----------------|---|
| <i>Endolimax nana</i> | petite taille | ovoïdes | optiquement vide contours nets | gros | |  |
| <i>Entamoeba coli</i> | 15-20 µm | sphériques | coque très épaisse | | |  |
| <i>Entamoeba hystolitica</i> | 10-15 µm de diamètre | parfaitement sphérique | membrane moins épaisse que E.coli | caryosome central | de 1 à 4 noyaux |  |
| <i>Giardia lamblia</i> | | ovale | | | 4 noyaux |  |
| <i>Balantidium coli</i> | 50 microns | sphérique | paroi épaisse | | |  |

| Trophozoïte | Taille | Forme | Pseudopodes | Déplacement | Noyau | Caryosome | Caractères particuliers | Illustration |
|------------------------------|--------------------------------|-------------|--|---|---|----------------------------|--|---|
| <i>Endolimax nana</i> | 6 à 12 microns | | Emet des pseudopodes clairs et arrondis au même moment | Sans direction précise | Non visible | Caryosome en croissant | |  |
| <i>Entamoeba coli</i> | 20-30 microns | | pseudopodes courts | mouvement sur place | visible à frais, membrane épaisse en collier de perle | Petit, au centre du noyau. | Endoplasme très granuleux, vacuoles de grande taille |  |
| <i>Entamoeba histolytica</i> | | | pseudopodes transparents au même endroit | déplacement directionnel lent en limace | | invisible à frais | |  |
| <i>Giardia lamblia</i> | 8-10 microns | | | | | | « face de clown » : 2 noyaux reliés par des disques et ligne médiane noire |  |
| <i>Balantidium coli</i> | 80 microns, Vu à l'objectif 10 | forme ovale | | mouvements coordonnés en spirale | | gros noyau visible | Possède des cils |  |

ANNEXE 5 : clés de différenciation des principales larves infestantes de nématodes

| | Taille | Proportion de l'œsophage | Gaine | Aspect gaine | Pointe caudale | Illustration |
|----------------------------|------------------|---|------------------------|-----------------|---|---|
| <i>Oesophagostomum sp</i> | 900-1200 microns | Représente un quart de la longueur du corps | Gaine lâche | Aspect festonné | La pointe caudale est longue et effilée (6 fois largeur du corps) |  |
| <i>Ancylostoma sp</i> | | Représente un quart de la longueur du corps | Gaine ajustée au corps | | Pointe caudale courte |  |
| <i>Trichostrongylus sp</i> | 650-900 microns | Représente un quart de la longueur du corps | | Rectiligne | Pointe caudale conique et petits tubercules | |
| <i>Strongyloïdes spp</i> | 500-700 microns | Œsophage occupant la moitié du corps | Pas de gaine | | Extrémité caudale bifurquée caractéristique |  |

ANNEXE 6: œufs de parasites retrouvés dans les fèces de mandrills du CIRMF



Figure 1: œuf d'Oesophagostomum spp



Figure 2: œuf d'Ancylostoma spp

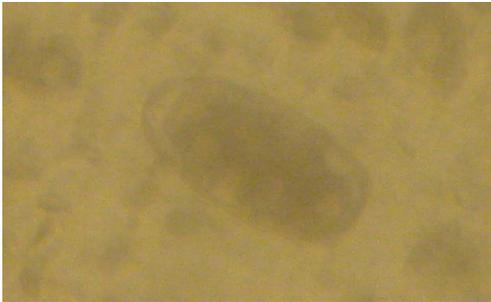


Figure 3: œuf de Trichostrongylus spp



Figure 4: œuf de Strongyloides spp

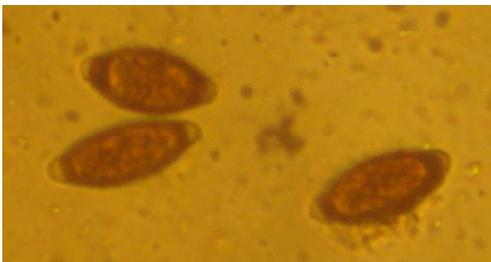


Figure 5: œuf de Trichuris spp



Figure 6: trophozoïte de Balantidium coli



Figure 7: œuf de Mammomonogamus spp (1)



Figure 8: œuf de Mammomonogamus spp (2)

ANNEXE 7 : parasites et pathologies associées

| | Taille | Localisation | Caractéristiques | Hôtes | Cycle | Symptômes |
|-----------------------------|-----------|-----------------------------|--|--|---|--|
| <i>Oesophagostomum spp</i> | 1 à 2 cm | gros intestin, caecum colon | Grandes vésicules céphaliques de la cuticule de la capsule buccale | Ruminants, petits ruminants, porcs, primates non humains, hommes | Œufs émis dans les fèces Mue en L3 en 7 jours Ingestion de L3 qui pénètre dans l'intestin et forme des nodules Mue en adulte en 5 à 7 jours Emission d'œufs 41 j après ingestion | oesophagostomose multinodulaire |
| <i>Ancylostoma spp</i> | 5 à 18 mm | duodénum | capsules buccales, bourse caudale garnie de 2 spicules d'accouplement. hématoophages, transmission transcutanée rapidement tuées sur sol sec | Chiens, chats, primates non humains et hommes | Œufs émis dans les fèces Mue en L1 en 24-48h Mue en L2 en 2-3 jours Mue en L3 infestante en 5 j Passe par voie cutanée Remonte dans poumons par capillaires sanguins, mue en L4, descend jusqu'à l'intestin grêle et mue en adulte | infestation sévère : entraîne une pâleur et une anémie |
| <i>Trichostrongylus spp</i> | 8 mm | estomac et intestin grêle | | Herbivores, primates non humains et hommes | Œufs émis dans les fèces Développement en L1 puis L2 puis L3 infectante en 5 à 10 jours Après ingestion, la larve s'installe dans l'intestin grêle Mue en adulte, qui émet des œufs | gastrite, entérite et diarrhée, lésions pulmonaires |

| | | | | | | |
|---------------------------|--------------------------------------|---|---|--|--|--|
| <i>Strongyloïdes spp</i> | 1 mm | tiers antérieur de l'intestin grêle | | Mammifères, oiseaux, reptiles et amphibiens | Œufs embryonnés d'une L1 ou larve L1 émis dans les fèces. Mue en L2 puis en L3 infestante Puis soit mue en L4, et stade libre adulte dans l'environnement (cycle indirect) Soit infection transcutanée de l'hôte par L3 (cycle direct) Migration en 24 h avec mue en L4 par les poumons jusqu'à l'intestin en 4 jours Reproduction rapide et émission d'œufs embryonnés | Toux, bronchopneumonie, diarrhée et péritonite |
| <i>Trichuris spp</i> | 3 cm mâle 5 cm femelle | muqueuse colique et caecale | Hématophage extrémité antérieure filiforme, tiers postérieur épais survie de 4 à 5 ans dans le milieu extérieur | Canidés sauvages et domestiques Porcs et sangliers Primates non humains et homme | Œufs émis dans les fèces Œufs s'embryonnent et deviennent infectieux en 15-30 jours Ingestion d'œufs, qui atteignent l'intestin grêle, libèrent des larves, qui muent en adultes et s'installent dans le colon et caecum Emission d'œufs 60-70 jours après infection | diarrhée liquide ou mucohéorragique, anorexie, anémie, ictère amaigrissement pouvant aller à des perforations intestinales, nécrose, péritonites intussusceptions |
| <i>Mammomonogamus spp</i> | 3-6.3mm mâle; 8.7-23.5mm femelles | Trachée, bronches, larynx, Duodénum (très rare) | | Ruminants, cerfs, chats, orangutans et éléphants, homme | Non encore élucidé transmission fécale-orale | Toux chronique, syndrome asthmatique |

| | | | | | | |
|------------------------------|--|--|---|--|--|--|
| <p><i>Plasmodium spp</i></p> | | | <p>Chez PNH : Maladie courte durée parasitémie faible rechutes rares guérison spontanée</p> | <p>Primates non humains, homme</p> | <p>Le sporozoïte infecte les hématies de l'hôte Le trophozoïte, résultant de l'évolution du sporozoïte, est une forme annulaire intra- erythrocytaire et apparaît dans les 10 à 25 jours post infection selon l'espèce Les gamétocytes issus des trophozoïtes sont les formes sexuées capables d'émettre des gamètes en 20 à 30 jours post infection</p> | <p>infections inapparentes ou très légers troubles, parfois un peu de fièvre</p> |
|------------------------------|--|--|---|--|--|--|