

Hémoparasites des oiseaux sauvages à Madagascar

Raharimanga V¹, Soula F¹, Raherilalao MJ^{2,3}, Goodman SM^{3,4}, Sadonès H¹, Tall A^{1,5},
Randrianarivojosia M¹, Raharimalala L¹, Duchemin JB¹, Arieu F¹, Robert V^{1,6}

RESUME : Cette étude évalue la prévalence et la densité des hémoparasites chez 387 oiseaux appartenant à 43 espèces, et collectés sur 6 sites répartis dans différents milieux bio-climatiques de Madagascar. 139 (35,9%) se sont révélés porteurs d'au moins un hémoparasite avec par ordre de fréquence *Plasmodium* et/ou *Haemoproteus* (19,9% des 387 oiseaux), microfilaires (13,7%), *Leucocytozoon* (11,1%) et *Trypanosoma* (1,0%). Pour analyser ces observations, nous avons envisagé l'interaction de différentes variables environnementales (altitude, saison, site de capture) et propres à l'oiseau (âge, poids, sexe). Il est clair que certains parasites infectent préférentiellement certaines espèces ou familles. Les plus gros oiseaux de sexe mâle présentent des prévalences et des densités d'hémoparasites significativement plus élevées, pour toutes espèces d'oiseaux confondues. L'ensemble de ces observations permet de mieux comprendre l'interaction oiseau/parasite et soulève nombre de questions sur la pathogénicité de ces parasites et sur leur transmission vectorielle.

Mots-clés : Hémoparasite - Oiseau - *Plasmodium* - *Haemoproteus* - *Leucocytozoon* - *Trypanosoma* - Microfilaire - Transmission vectorielle - Madagascar.

ABSTRACT : "Haemoparasites of wild birds in Madagascar": This study aims to evaluate the prevalence and density of haemoparasites in native Malagasy birds. Among the 387 birds, belonging to 43 species sampled at six localities in different bio-climatic zones of the island, 139 (35.9%) showed at least 1 hemoparasite with, by order of frequency, *Plasmodium* and/or *Haemoproteus* (19.9%), microfilariae (13.7% of 387 birds), *Leucocytozoon* (11.1%) and *Trypanosoma* (1.0%). An analysis to further elucidate these observations took into account the interaction of different environmental variables (altitude, season, site of collection) or aspects of the birds (age, weight, sex). There is evidence that some parasites preferentially infect some bird species or families. The largest male birds harboured the highest prevalences and densities of haemoparasites, regardless of species. These findings extend knowledge of bird/blood parasite relationships of Malagasy birds and provide interesting insights, especially concerning the pathogenicity of this type of parasitism and the parasite transmission by insect vectors.

Key-words : Haemoparasite - Bird - *Plasmodium* - *Haemoproteus* - *Leucocytozoon* - *Trypanosoma* - Microfilaria - Vectorial transmission - Madagascar.

INTRODUCTION

De nombreuses études se sont intéressées aux protozoaires et aux nématodes sanguins retrouvés chez les oiseaux dans différentes régions du globe. Les genres de parasites unicellulaires les plus fréquemment rencontrés sont *Haemoproteus*, *Plasmodium* et *Leucocytozoon* pour les Apicomplexa Coccidia et *Trypanosoma* pour les Euglénobiontes. Les microfilaires sanguines, pour les Nématodes, sont également d'observation courante. La transmission de ces parasites est vectorielle et implique des arthropodes. Pour ces parasites d'oiseaux, les vecteurs connus sont les suivants :

- un diptère Hippoboscidae ou Ceratopogonidae pour le genre *Haemoproteus*,
- un moustique Culicinae (*Culex* et *Aedes* notamment) pour le genre *Plasmodium*,
- une mouche Simuliidae ou un Ceratopogonidae pour le genre *Leucocytozoon*,
- une punaise Reduviidae pour le genre *Trypanosoma*,
- un diptère Ceratopogonidae pour les filarioses.

Dans la littérature, seuls deux articles rapportent des résultats originaux sur les hémoparasites d'oiseaux sauvages à Madagascar; il s'agit des articles de *Bennett & Blancou* [1] et de *Greiner et coll.* [2]. Un troisième article synthétise les connaissances sur les endoparasites des oiseaux à Madagascar [3].

Le premier de ces articles expose les résultats d'examen de frottis sanguins de 64 oiseaux sauvages dont 22% présentaient des hématozoaires. Quatorze oiseaux appartenant à 8 espèces

¹ Institut Pasteur de Madagascar, Groupe de Recherche sur le Paludisme, BP 1274 - 101 Antananarivo, Madagascar.

² Université d'Antananarivo, Faculté des Sciences, Département de Biologie Animale.

³ World Wildlife Fund for Nature, BP 738 - 101 Antananarivo, Madagascar.

⁴ Field Museum of Natural History, Chicago, Illinois, Etats Unis.

⁵ Institut Pasteur de Dakar, 36 avenue Pasteur, BP 220 - Dakar - Sénégal.

⁶ Institut de Recherche pour le Développement UR-77 (Paludisme afrotropical).

hébergeaient des *Leucocytozoon*, *Plasmodium*, *Trypanosoma* ou *Lankesterella*, toujours à de faibles densités, ordinairement à moins de 1 parasite pour 10 000 érythrocytes. *P. rouxi* a été identifié chez *Margaroperdix madagascariensis* (famille Phasianidae) et une autre espèce plasmodiale, non identifiée, a été observée chez *Saxicola torquata* (famille Turdidae) - ces deux espèces d'oiseaux sont non-forestières. Les *Leucocytozoon* ont été les hémoparasites les plus fréquents : *L. toddi* chez *Buteo brachypterus* (famille Accipitridae), *L. ardea* chez *Egretta dimorpha* (famille Ardeidae), *L. centropi* chez *Centropus toulou* (famille Cuculidae) et *L. fringillinarum* chez *Foudia madagascariensis* (famille Ploceidae) - toutes ces espèces d'oiseaux sont forestières. Aucun Haemoproteidae n'a été observé, et les auteurs ont considéré ce point comme une anomalie inexplicée. Effectivement, *Brygoo* mentionne les Haemoproteidae comme tout à fait communs chez les oiseaux malgaches, sans donner davantage de précision [4].

Le deuxième article expose les résultats d'examen de frottis sanguins de 10 oiseaux du Parc National d'Andringitra. Les parasites suivants ont été trouvés chez 6 oiseaux : *Haemoproteus*, *Leucocytozoon*, *Plasmodium* et des microfilaires. Ces 6 oiseaux appartenaient à 5 espèces forestières: *Otus rutilus* (famille Strigidae), *Philepitta castanea* (famille Philepittidae), *Terpsiphone mutata* (famille Monarchidae), *Vanga curvirostris* (famille Vangidae) et *Foudia omissa* (famille Ploceidae), avec d'éventuelles infections mixtes.

Le but de notre travail était d'explorer le parasitisme dans le sang d'oiseaux à Madagascar et d'étudier l'influence de différents facteurs environnementaux ou spécifiques de l'oiseau sur ces parasites. Cette étude s'inscrit dans l'inventaire de la biodiversité et participe à l'établissement d'un état de santé de l'avifaune sauvage à Madagascar, ainsi que sur les risques potentiels de transmission de germes de la faune sauvage à l'homme.

MATERIEL ET METHODES

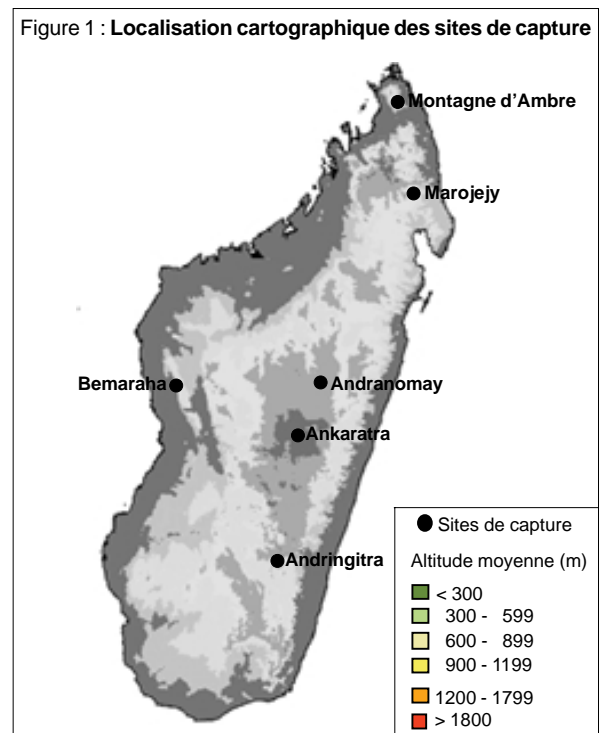
Notre étude s'est déroulée de septembre 1995 à décembre 2001. Nous avons capturé des oiseaux sur 6 sites, choisis en milieu boisé. Cette collecte a été réalisée au cours de diverses missions d'inventaire de l'avifaune malgache, organisées par le World Wildlife Fund for Nature (WWF) et/ou par l'Institut Pasteur de Madagascar (IPM). Les sites de captures ont été répartis sur le territoire malgache (figure 1). Les altitudes variaient de 100 à 2050 mètres (tableau I). L'identification des

espèces a été réalisée en suivant les critères d'identification, la nomenclature et la classification de Langrand [5]. Les filets à oiseaux ont été mis en place dans les sous-bois des zones forestières du lever au coucher du soleil. Une relève des filets était effectuée toutes les heures.

Le prélèvement sanguin a été pratiqué au niveau de la veine jugulaire à l'aide d'une seringue à insuline pour les oiseaux vivants. Cependant, la petite taille de certains oiseaux capturés ne permettant pas toujours ce type de prélèvement, quelques gouttes de sang ont alors été obtenues en coupant une griffe. Nous avons également pratiqué des prélèvements sanguins, au niveau du cœur, toujours à l'aide d'une seringue à insuline sur des animaux sacrifiés puis disséqués dans le cadre d'un projet différent.

Tableau I : Sites, altitudes et dates de capture des oiseaux

Lieux de capture	Dates	Altitudes (mètres)	Nombre d'oiseaux
Andringitra	4-7 sept. 1995	2050	12
Ankaratra	12-13 fév. 1996	2000	14
Montagne d'Ambre	20 mars 1996	1000	4
Marojejy	9-12 oct. 1996	450	19
	17-20 oct. 1996	775	41
	27-31 oct. 1996	1225	26
	6-10 nov. 1996	1550	13
	14-18 nov. 1996	1875	21
Andranomay	15 oct. 2001	850	27
	22 oct. 2001	1175	33
	16-20 déc. 1996	1300	44
Bemaraha	30 mai-4 juin 2001	1300	77
	22 nov.-6 déc. 2001	100	56
Total			387



Nous avons réalisé un frottis sanguin pour chaque oiseau prélevé, à partir d'une goutte de sang non calibrée. Les lames ont été séchées à l'air libre ou à l'aide d'un ventilateur à air chaud, fixées au méthanol, et colorées selon la technique rapide au RAL 555 (Kit réactif RAL, Bordeaux, Technopolis, France). Chaque lame a été examinée au microscope optique au grossissement 100 pendant 5 minutes puis en immersion au grossissement 1000 pendant 20 minutes. Pour les organismes unicellulaires, la parasitémie a été estimée sur les bases de 40 000 érythrocytes examinés et $5 \cdot 10^6$ érythrocytes par μl de sang. Pour les microfilaries, la parasitémie a été estimée au grossissement 100 pendant 5 minutes de façon semi-quantitative en 4 classes réparties de la façon suivante : classe 0 pour 0 microfilarie observée sur la totalité du frottis; classe + pour 1 à 9 microfilaries pour 100 champs microscopiques au grossissement 100; classe ++ pour 10 à 24 microfilaries pour 100 champs; classe +++ pour ≤ 25 microfilaries pour 100 champs. La densité-seuil entre les classes + et ++ a été estimée à 2 500 microfilaries / μl de sang; et entre les classes ++ et +++ à 6 250.

L'infection à *Plasmodium* chez les oiseaux se caractérise par la présence de pigments dans le parasite intra-érythrocytaire, par une schizogonie exo et endo-érythrocytaire (figure 2) et par une gamétogonie endo-érythrocytaire. Le sang périphérique contient à la fois des schizontes et des gamétocytes contrairement aux genres *Haemoproteus* et *Leucocytozoon* qui ne présentent que des gamétocytes. L'infection à *Haemoproteus* se caractérise par une schizogonie uniquement dans les cellules endothéliales viscérales et par la présence de gamétocytes dans le sang circulant (figure 3). La distinction entre *Plasmodium* et *Haemoproteus* est délicate, voire impossible, quand l'examen microscopique du frottis sanguin ne met en évidence que des gamétocytes; c'est pourquoi, lorsque des gamétocytes ont été le seul stade observé, nous avons regroupé ces deux genres dans une seule catégorie appelée "*Plasmodium/Haemoproteus*". L'infection à *Leucocytozoon* se caractérise par la présence de gamétocytes non pigmentés de grande taille, dans les globules rouges ou les globules blancs, ceci entraînant une déformation caractéristique (figure 4). L'infection à *Trypanosoma* se caractérise par la présence du parasite sous sa forme flagellée dans la circulation sanguine (figure 5). Enfin, une filariose se caractérise par la présence de microfilaries, stade larvaire libre dans la circulation sanguine (figure 6).

L'analyse statistique a utilisé le test exact de Fisher ou le test du χ^2 pour comparer les

Figure 2 : Schizonte de *Plasmodium* sp

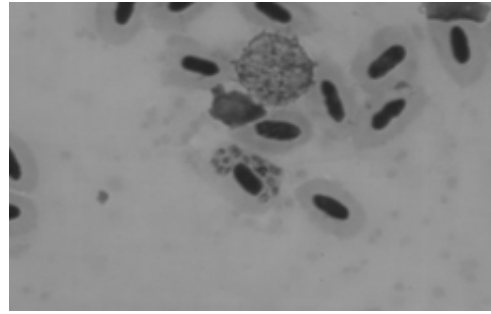


Figure 3 : Gamétocyte de *Plasmodium* sp. ou d'*Haemoproteus* sp

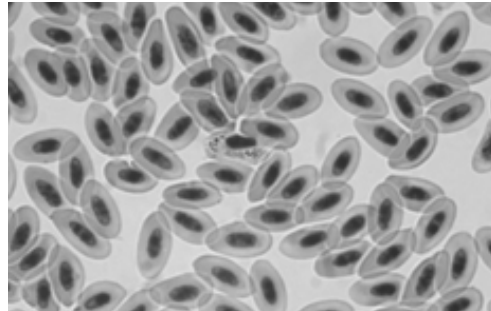


Figure 4 : *Leucocytozoon* sp

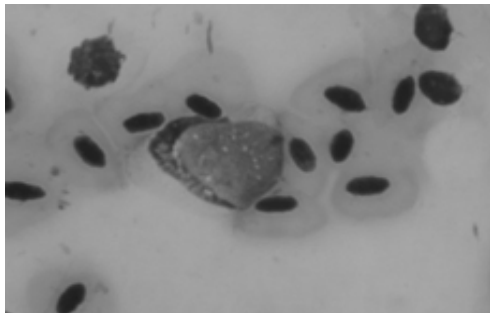


Figure 5 : Trypanosome

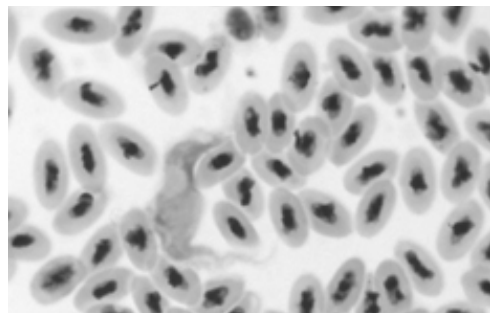
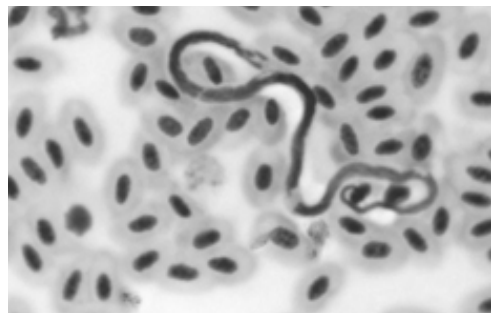


Figure 6 : Microfilarie



distributions d'effectifs, et le test non paramétrique de Mann-Whitney pour comparer deux moyennes. L'intimité de la liaison entre deux variables quantitatives a été évaluée par le coefficient de corrélation *r*. Une analyse bivariée a été conduite pour tester l'effet de chaque variable environnementale ou liée à l'oiseau sur la prévalence de chaque parasite; seules les variables avec un $p < 0,30$ ont été prises en compte dans l'analyse de régression suivante. Les variables ont été retirées du modèle pas à pas et n'ont pas été conservées au final si l'amélioration du modèle prédictif n'était pas diminuée d'un coefficient dont la probabilité de signification était $\leq 0,05$.

RESULTATS

Au total, 402 spécimens sanguins d'oiseaux ont été collectés. Quinze frottis ont été illisibles, et donc les présents résultats portent sur 387 oiseaux (tableau I). Ces oiseaux appartiennent à 8 ordres, 21 familles et 43 espèces dont 30 espèces endémiques de Madagascar (70%), 10 espèces endémiques de Madagascar et des îles voisines (23%), et 3 espèces (regroupant 10 oiseaux) non endémiques nicheuses (7%). Aucune de ces espèces n'est considérée comme migratrice transcontinentale.

Au total, l'examen microscopique des frottis sanguins a révélé 139 oiseaux sur 387 (soit 35,9%) parasités par au moins un genre d'hétoparasites qui se répartissent de la façon suivante : 76 *Plasmodium/Haemoproteus* (soit 19,6% des cas), 53 microfilaires (13,7%), 43 *Leucocytozoon* (11,1%), 4 *Trypanosoma* (1,0%) et 1 *Plasmodium* (0,3%).

1- Analyse bivariée concernant les différents hétoparasites

Les *Plasmodium*

Un seul oiseau a présenté une infection attribuée au genre *Plasmodium* sur la base d'un unique schizonte observé sur un frottis sanguin (figure 2). Il s'agissait d'un *Nectarinia souimanga* (famille Nectariniidae), adulte de sexe femelle, capturé dans le Marojejy à 850 mètres d'altitude le 15 octobre 2001.

Les *Plasmodium/Haemoproteus*

L'infection à *Plasmodium/Haemoproteus* touche préférentiellement les oiseaux appartenant aux familles des Strigidae, des Turdidae, des Nectariniidae et des Zosteropidae. A l'inverse, la prévalence de ces parasites est particulièrement faible chez les Alcedinidae, les Philepittidae, les Pycnonotidae et les Timaliidae (tableau II).

Tableau II : Prévalence parasitaire par famille d'oiseaux (pour les seules familles avec ≤ 5 oiseaux par famille)

Famille	<i>Plasmodium/Haemoproteus</i>			<i>Leucocytozoon</i>			Microfilaire		
	Préval. (%)	Effectif	p	Préval. (%)	Effectif	p	Préval. (%)	Effectif	p
<i>Alcedinidae</i>	0	0/15	0,049	0	0/15	NS	20	3/15	NS
<i>Brachypteraciidae</i>	80	4/5	NS	20	1/5	NS	40	2/5	NS
<i>Monarchidae</i>	15	3/20	NS	0	0/20	NS	0	0/20	NS
<i>Nectariniidae</i>	57	8/14	0,002	14	2/14	NS	0	0/14	NS
<i>Philepittidae</i>	2	1/50	0,0002	18	9/50	NS	12	6/50	NS
<i>Ploceidae</i>	11	4/35	NS	20	7/35	NS	11	4/35	NS
<i>Pycnonotidae</i>	7	6/84	0,0006	8	7/84	NS	15	13/84	NS
<i>Strigidae</i>	100	6/6	0,0001	17	1/6	NS	67	4/6	0,0044
<i>Sylviidae</i>	24	11/45	NS	2	1/45	0,0430	0	0/45	0,0018
<i>Timaliidae</i>	4	1/25	0,0383	4	1/25	NS	20	5/25	NS
<i>Turdidae</i>	31	14/45	0,0458	0	0/45	0,0050	16	7/45	NS
<i>Vangidae</i>	36	4/11	NS	36	4/11	0,0245	36	4/11	0,0497
<i>Zosteropidae</i>	64	11/17	0,0001	47	8/17	0,0001	6	1/17	NS
Total	19,9	77/387		11,1	43/387		13,7	53/387	

La comparaison statistique (p) a été effectuée par le test de la probabilité exacte de Fisher entre la prévalence dans la famille à tester par rapport à la prévalence totale dans les autres familles. Le cas de *Plasmodium* seul est inclus dans la catégorie *Plasmodium/Haemoproteus*. Les pourcentages en gras correspondent à des probabilités significatives. NS : non significatif.

Il n'y a pas de relation significative entre le site de capture et la prévalence (tableau III).

Tableau III : Prévalence parasitaire selon les sites de capture

Site de capture	<i>Plasmodium/Haemoproteus</i>			<i>Leucocytozoon</i>			Microfilaire		
	Préval. (%)	Effectif	p	Préval. (%)	Effectif	p	Préval. (%)	Effectif	p
Andranomay	16	19/121	NS	7	9/121	NS	5	6/121	0,0004
Andringitra	8	1/12	NS	16	2/12	NS	25	3/12	NS
Ankaratra	21	3/14	NS	29	4/14	NS	0	0/14	NS
Bemaraha	25	14/56	NS	5	3/56	NS	45	25/56	<0,0001
Marojejy	22	40/180	NS	14	26/180	NS	12	21/180	NS
Montagne d'Ambre	0	0/4	NS	0	0/4	NS	0	0/4	NS
Total	20	77/387		11	44/387		14	53/387	

La comparaison des prévalences (p) a été effectuée par le test de la probabilité exacte de Fisher entre la prévalence du site à tester par rapport à la prévalence totale aux autres sites. Le cas de *Plasmodium* seul est inclus dans la catégorie *Plasmodium/Haemoproteus*. Les pourcentages en gras correspondent à des probabilités significatives. NS : non significatif.

Les cas d'infections à *Plasmodium/Haemoproteus* sont plus fréquents entre 100 et 500 mètres comparés à toutes les autres classes d'altitude (tableau IV).

Il n'y a pas d'influence significative sur la prévalence et sur la densité de ces parasites en fonction de l'âge et du sexe (tableaux V et VI).

Il n'y a pas d'influence significative du poids quand on analyse globalement tous les oiseaux : le poids moyen des oiseaux porteurs de *Plasmodium/Haemoproteus* est de 32,56 grammes versus 25,86 chez les non-porteurs ($p=0,40$ par le test U de Mann-Whitney). L'analyse des densités de

Plasmodium/Haemoproteus complète l'analyse de la prévalence : les gros oiseaux sont ceux qui présentent les plus fortes charges parasitaires en *Plasmodium/Haemoproteus* (pour l'ensemble des oiseaux $r=0,208$; $n=292$; $p=0,0003$ et pour les seuls oiseaux positifs en *Plasmodium/Haemoproteus* $r=0,351$; $n=66$; $p=0,0036$).

Tableau IV : Prévalence parasitaire par altitude

Altitude (m)	<i>Plasmodium/Haemoproteus</i>			<i>Leucocytozoon</i>			Microfilaire		
	Préval. (%)	Effectif	p	Préval. (%)	Effectif	p	Préval. (%)	Effectif	p
100-500	28	21/75	0,0062	5	4/75	NS	35	26/75	<0,0001
775-1000	19	14/73	NS	22	16/73	0,0008	12	9/73	NS
1175-1300	16	29/180	NS	8	15/180	NS	9	17/180	NS
1550-2050	22	13/59	NS	14	8/59	NS	2	1/59	0,0047
Total	19,9	77/387		11,1	43/387		13,7	53/387	

La comparaison des prévalences (p) a été effectuée par le test de la probabilité exacte de Fisher entre la prévalence à l'altitude à tester par rapport à la prévalence totale aux autres altitudes. Le cas de *Plasmodium* seul est inclus dans la catégorie *Plasmodium/Haemoproteus*. Les pourcentages en gras correspondent à des probabilités significatives. NS : non significatif.

Tableau V : Prévalence parasitaire par âge des oiseaux

Age	<i>Plasmodium/Haemoproteus</i>			<i>Leucocytozoon</i>			Microfilaire		
	Préval. (%)	Effectif	p	Préval. (%)	Effectif	p	Préval. (%)	Effectif	p
Adultes	21	71/340	NS	12	41/340	NS	14	47/340	NS
Immatures	8	2/26		4	1/26		13	3/26	

La comparaison des prévalences (p) a été effectuée par le test de la probabilité exacte de Fisher entre les oiseaux adultes et immatures. Le cas de *Plasmodium* seul est inclus dans la catégorie *Plasmodium/Haemoproteus*. NS : non significatif.

Tableau VI : Prévalence parasitaire par sexe des oiseaux

Sexe	<i>Plasmodium/Haemoproteus</i>			<i>Leucocytozoon</i>			Microfilaire		
	Préval. (%)	Effectif	p	Préval. (%)	Effectif	p	Préval. (%)	Effectif	p
Mâle	18	22/123	NS	10	12/123	NS	17	21/123	NS
Femelle	16	18/124		11	14/124		20	25/124	

La comparaison des prévalences (p) a été effectuée par le test de la probabilité exacte de Fisher entre un sexe et l'autre (sans tenir compte des 140 oiseaux de sexe indéterminé). Le cas de *Plasmodium* seul est inclus dans la catégorie *Plasmodium/Haemoproteus*. NS : non significatif.

La prévalence des *Plasmodium/Haemoproteus* est largement influencée par les saisons. D'octobre à mars, la prévalence est de 24% et d'avril à septembre, elle est de 7% (tableau VII).

Les densités de *Plasmodium/Haemoproteus* les plus élevées sont présentées en annexe 1.

Les *Leucocytozoon*

Les *Leucocytozoon* infectent préférentiellement les oiseaux appartenant à la famille des Zosteropidae et des Vangidae. A l'inverse, cette infection est peu observée chez les Turdidae et les Sylviidae (tableau II).

Il n'y a pas de relation significative entre le site de capture et la prévalence (tableau III).

Il n'y a pas non plus de relation significative avec l'altitude, sauf entre 775 et 1000 mètres, où les infections à *Leucocytozoon* sont significativement plus fréquentes (tableau IV).

Il n'y a pas de différence significative sur la prévalence et la densité des *Leucocytozoon* en fonction de l'âge et du sexe (tableaux V et VI).

Le poids moyen des oiseaux (quelle que soit leur espèce) est globalement lié à la prévalence des *Leucocytozoon*. En moyenne, les gros oiseaux sont davantage infectés. Le poids moyen des oiseaux porteurs de *Leucocytozoon* est de 36,03 grammes versus 26,04 chez les non porteurs ($p=0,025$ par le test U de Mann-Whitney). Les analyses par espèce montrent des résultats toujours non significatifs sauf dans le cas de *Ploceus nelicourvi* (famille Ploceidae) pesant en moyenne 22,17 grammes pour les 3 oiseaux porteurs de *Leucocytozoon* versus 27,00 pour les 4 oiseaux non porteurs; cette différence de poids (4,83 grammes, soit 22%) est significative ($p=0,034$, test U de Mann-Whitney).

La prévalence des *Leucocytozoon* est maximale de janvier à mars et minimale d'avril à juin avec respectivement 22% et 3% (tableau VII).

Tableau VII : Prévalence parasitaire par trimestre

Trimestre	<i>Plasmodium/Haemoproteus</i>			<i>Leucocytozoon</i>			Microfilaire		
	Préval. (%)	Effectif	p	Préval. (%)	Effectif	p	Préval. (%)	Effectif	p
1 ^{er}	17	3/18	NS	22	4/18	NS	0	0/18	NS
2 ^{ème}	6	5/77	0,0007	3	2/77	0,0072	1	6/77	NS
3 ^{ème}	8	1/12	NS	17	2/12	NS	8	1/12	NS
4 ^{ème}	24	68/280	0,0003	12	35/280	NS	16	46/280	0,012
Total	20	77/387		11	43/387		14	53/387	

La comparaison des prévalences (p) a été effectuée par le test de la probabilité exacte de Fisher entre la prévalence lors du trimestre à tester par rapport à la prévalence lors des 3 autres trimestres. Le cas de *Plasmodium* seul est inclus dans la catégorie *Plasmodium/Haemoproteus*. Les pourcentages en gras correspondent à des probabilités significatives. NS : non significatif.

L'analyse des densités de *Leucocytozoon* confirme l'analyse des prévalences. Les gros oiseaux sont ceux qui présentent les plus fortes charges parasitaires en *Leucocytozoon* (pour l'ensemble des oiseaux $r=0,183$; $n=292$; $p=0,0016$ et pour les seuls oiseaux positifs en *Leucocytozoon* $r=0,391$; $n=39$; $p=0,0131$).

Les densités de *Leucocytozoon* les plus élevées sont présentées en annexe 2.

Les *Trypanosoma*

Quatre oiseaux ont présenté une infection à *Trypanosoma*. Il s'agissait :

- d'une femelle *Motacilla flaviventris* (famille

Motacillidae) adulte pesant 21 grammes, capturée le 6 septembre 1995 dans l'Andringitra à 2 050 mètres d'altitude,

- d'un *Zosterops maderaspatana* (famille Zosteropidae) adulte de sexe indéterminé pesant 9 grammes et capturé le 9 octobre 1996 dans le Marojejy,

- d'un *Phyllastrephus zosterops* (famille Zosteropidae) adulte, femelle, capturé à Andranomay, le 30 mai 2001,

- et d'un *Hypsipetes madagascariensis* (famille Pycnonotidae) de sexe, d'âge et de poids non documentés, capturé à 1300 mètres d'altitude à Andranomay le 1 juin 2001.

Les microfilaires

Les microfilaires touchent préférentiellement les Strigidae et les Vangidae. Ces parasites ne sont pas observés chez les Sylviidae (tableau II).

Il existe significativement plus d'infections à microfilaires dans la région de Bemaraha que sur les sites d'Andranomay et de Marojejy (tableau III). Quarante-cinq pour cent des oiseaux du Bemaraha sont porteurs de microfilaires versus 8% dans les 5 autres sites (probabilité exacte de Fisher, $p < 10^{-4}$).

Aux altitudes <500 m, la prévalence des microfilaires est maximale. On note une diminution constante de la prévalence des infections à microfilaires lorsque l'altitude augmente (tableau IV).

Il n'y a aucune différence significative sur le parasitisme en fonction de l'âge ni en fonction du sexe (tableaux V et VI).

La prévalence des microfilaires est plus forte en octobre-novembre-décembre (16%) contre 7% pendant le reste de l'année (tableau VII).

Le poids moyen des oiseaux (quelle que soit leur espèce) est lié à la prévalence des microfilaires. En moyenne, les gros oiseaux sont davantage infectés. Le poids moyen des oiseaux porteurs de microfilaires est de 39,51 grammes versus 25,22 pour les non porteurs ($p < 10^{-4}$, test U de Mann-Whitney). L'analyse par espèce montre des résultats non significatifs, sauf dans le cas d'*Ispidina madagascariensis* (famille Alcedinidae) pesant en moyenne 16,50 grammes pour les 3 oiseaux porteurs de microfilaires versus 19,29 pour les 7 oiseaux non porteurs; cette différence de poids (2,79 grammes, soit 17%) est significative ($p = 0,015$, test U de Mann-Whitney).

L'analyse des densités de microfilaires confirme les résultats de prévalence. Il n'y a pas de différence significative mise en évidence entre le poids des oiseaux sans microfilaire et celui des oiseaux faiblement parasités (+) (respectivement 25,22 et

23,69 grammes). Le groupe des oiseaux sans microfilaire et faiblement parasités (+) pèse en moyenne 25,17 grammes versus 43,57 pour le groupe des oiseaux moyennement et fortement parasités (++ et +++) ($p < 10^{-4}$, test U de Mann-Whitney).

Les densités de microfilaires les plus élevées sont présentées en annexe 3.

2- Les associations parasitaires

Les associations parasitaires paraissent distribuées au hasard ($\chi^2 = 6,00$; ddl=4; $p = 0,19$) (tableau VIII). Une analyse de ce type réalisée par famille confirme cette notion (analyse non présentée ici).

Tableau VIII : Prévalence des infections simples et mixtes pour les *Plasmodium/Haemoproteus*, les *Leucocytozoon* et les microfilaires, pour la totalité des oiseaux examinés

	n	%
<i>Plasmodium/Haemoproteus</i>	53	14
<i>Leucocytozoon</i>	20	5
Microfilaire	33	9
<i>Plasmodium/Haemoproteus</i> + <i>Leucocytozoon</i>	12	3
<i>Plasmodium/Haemoproteus</i> + microfilaire	9	2
<i>Leucocytozoon</i> + microfilaire	8	2
<i>Plasmodium/Haemoproteus</i> + <i>Leucocytozoon</i> + microfilaire	3	1
Sans hémoparasite	249	64
Total	387	100

Le cas de *Plasmodium* seul est inclus dans la catégorie *Plasmodium/Haemoproteus*.

3- Analyse multivariée concernant les différents hémoparasites

Une première série de régressions logistiques a été réalisée successivement avec les 3 variables dépendantes (prévalence des *Plasmodium/Haemoproteus*, prévalence des *Leucocytozoon*, prévalence des microfilaires) et les variables indépendantes relatives à l'oiseau (espèce, genre, famille, ordre, sexe, âge, poids) et relatives à l'environnement de la capture (localité, altitude, date). Cette analyse confirme en partie les résultats des analyses bivariées. Quelle que soit la variable indépendante envisagée, l'importance relative de la variable "espèce" s'est avérée supérieure à celle de la variable "genre", elle-même supérieure à celle de la variable "famille", elle-même supérieure à celle de la variable "ordre". Dès lors, la variable "espèce" a été privilégiée dans la suite de l'analyse. Le modèle final a retenu comme significativement influentes les variables suivantes : espèce, poids, sexe, âge (pour les 3 variables dépendantes), trimestre (pour la prévalence des *Plasmodium/Haemoproteus*, et la prévalence des *Leucocytozoon*), localité (pour la prévalence des *Plasmodium/Haemoproteus*, et la

prévalence des microfilaires) et altitude (pour la prévalence des *Leucocytozoon*). Alors que les variables sexe et poids étaient non significatives en analyse bivariée, l'association du sexe et du poids a toujours été la plus prédictive en régression logistique pour chacune des 3 variables dépendantes, quelles que soient les associations de variables prises deux à deux.

Dans une seconde série de régressions logistiques, la densité parasitaire exprimée en classe de parasitémie, a été prise en compte pour les *Plasmodium/Haemoproteus*, pour les *Leucocytozoon* et pour les microfilaires. Ces analyses ont confirmé les observations précédentes sans apporter d'éléments supplémentaires pour la compréhension de l'interaction des variables.

DISCUSSION

Notre étude est le premier travail s'intéressant à un important échantillon d'oiseaux malgaches (n=387), endémiques de Madagascar et des îles voisines (93% des espèces), collectés sur 6 sites et à 12 zones d'altitudes. Elle fait plus que compléter les travaux antérieurs [1,2] réalisés à Madagascar d'une part avec 64 oiseaux de provenance non-précisée et d'autre part avec 10 oiseaux venant d'un seul site.

Nos résultats sur le portage de parasites sanguins établissent l'importance des hémoparasites d'oiseaux à Madagascar. Nos résultats sont comparables à ceux obtenus dans la région Afrotropicale à laquelle appartient Madagascar. La prévalence des hémoparasites à Madagascar est semblable à celle observée dans les pays de l'Afrique de l'Est [6,7,8,9,10] et plus forte que celle observée en Afrique de l'Ouest [11,12,13,14].

Certaines espèces d'oiseaux sont manifestement plus parasitées que d'autres. Par exemple, les 6 *Otus rutilus* de notre échantillon sont tous parasités par *Plasmodium/Haemoproteus*, par contraste avec les 20 *Oxylabes madagascariensis* (famille Timaliidae) dont aucun n'est parasité. De même, certaines familles d'oiseaux sont plus touchées par certains genres d'hémoparasites suggérant une susceptibilité de certaines familles. Cette observation de spécificité parasite/famille est classique chez les oiseaux.

Les gros oiseaux de sexe mâle sont plus fréquemment parasités par *Plasmodium/Haemoproteus*, par *Leucocytozoon* et par microfilaires. Cette observation est inattendue. Elle peut être liée à deux types de spéculations non exclusives l'une de l'autre : (i) une longévité supérieure des gros oiseaux associée à l'éventuelle chronicité de l'infection par ces agents parasitaires,

(ii) une sur-exposition à la transmission liée à un particularisme de l'oiseau (importance de la surface corporelle pour les gros oiseaux, déplacements accrus pour les mâles) favorisant les contacts avec les vecteurs. Dans la littérature, peu d'articles suggèrent une relation entre le sexe et la prévalence des hémoparasites. Toutefois *Pierce et coll.* envisagent l'existence de plusieurs facteurs notamment hormonaux pouvant influencer la densité des parasites sanguins [7]. Mais d'après *Moller et coll.*, il n'existe pas d'effet de la testostérone observable expérimentalement sur l'intensité de l'infection parasitaire [15].

Les variations de la prévalence observées en fonction de la date de capture sont liées à la saison pour les *Plasmodium/Haemoproteus* et pour les *Leucocytozoon*. Ces prévalences sont fortes pendant la période des pluies d'octobre à mars, et plus faible d'avril à juin. Ceci semble logique par rapport aux vecteurs et aux importantes variations de leur capacité vectrice, maximum en saison chaude et humide (de novembre à avril). Cette influence des saisons a déjà été observée précédemment [8,16]. Dans notre étude, les oiseaux positifs en microfilaires proviennent essentiellement du Bemaraha en novembre. De ce fait, il est possible que des variations saisonnières de prévalence/densité existent également pour les microfilaires, même si l'analyse statistique ne les a pas mises en évidence.

Parmi les variables *a priori* liées entre elles, le couple "lieu + altitude" est particulièrement intéressant. L'analyse multivariée indique qu'une seule de ces deux variables influence le parasitisme. C'est la variable lieu qui est retenue pour les *Plasmodium/Haemoproteus* et pour les microfilaires, alors que c'est la variable altitude qui est retenue pour les *Leucocytozoon*. La différence de la prévalence des microfilaires, élevée dans le Bemaraha et faible dans la basse zone d'altitude du Marojejy, indique clairement que c'est le particularisme régional et non l'altitude qui est à prendre en compte dans cette comparaison. Chaque site de capture présente des caractéristiques propres : climat, présence d'eau à proximité (sous forme de lacs ou de rivières), etc. L'ensemble de ces facteurs peut jouer un rôle essentiel dans l'abondance des vecteurs. La prévalence des infections à *Plasmodium/Haemoproteus* et à microfilaires est significativement plus élevée à moins de 500 mètres. Chez l'homme, des études ont aussi montré l'influence défavorable du facteur altitude pour ces parasites qui peut à la fois intervenir sur l'abondance des vecteurs et sur le développement du parasite dans le vecteur.

L'ensemble de ces résultats voit leur portée

limitée par les contraintes méthodologiques ou d'échantillonnage et par des lacunes de nos connaissances. Ces limites relèvent au moins des 5 points suivants :

- la sensibilité de la détection microscopique des parasites reste faible. Notre seuil de détection, avec la méthode de lecture que nous avons pratiquée pour le frottis sanguin, a été estimé à 1 parasite pour 0,01 ml de sang soit 100 parasites/ μ l. Pour les microfilaires et les trypanosomes, les techniques d'enrichissement (culture ou concentration) amélioreraient la sensibilité de détection et l'estimation de la prévalence [13,14];

- les vecteurs impliqués dans la transmission de ces parasites sont totalement inconnus à Madagascar. Plusieurs types de vecteurs sont supposés contribuer à la transmission (voir introduction). Mais il n'est pas du tout évident que des vecteurs avérés dans le reste du monde soient les mêmes à Madagascar. Il est pourtant clair que la connaissance de l'identité et de la biologie des couples vecteurs/parasites est indispensable à la compréhension de l'épidémiologie de ces parasitoses et donc à l'explication de la répartition des hôtes infectés;

- sur nos 43 espèces, 20 ont été collectées avec moins de 5 individus;

- la localisation des sites de collectes d'oiseaux est assez représentative de la diversité bioclimatique malgache, à l'exception de la zone subdésertique du sud de l'île;

- l'observation des frottis sanguins ne nous a pas permis l'identification de l'espèce parasitaire, ni la distinction des genres *Plasmodium* et *Haemoproteus* (sauf dans un cas pour *Plasmodium*), ni la détermination au sein du vaste groupe des filaires. Il est clair que la prise en compte de l'espèce parasitaire est indispensable. La biologie moléculaire pourrait constituer un outil d'investigation pour permettre cette identification.

L'ensemble de ces observations soulève principalement la question de la pathogénicité de ces parasites chez les oiseaux. Pour *Bennett et coll.* [14], dans la région sub-saharienne, l'infection à *Haemoproteus* présente un caractère chronique résultant d'un équilibre et d'une tolérance de l'oiseau. De même, l'infection à *Leucocytozoon* semble bénigne, quoique certaines souches peuvent être mortelles. L'infection à *Plasmodium* semble bien tolérée, mais certaines espèces ont entraîné une forte mortalité chez les pingouins [17] et chez des oiseaux d'espèces forestières à Hawaï [18]. Peu de données sont disponibles concernant les infections à trypanosomes et à microfilaires, mais ces parasites

ne semblent pas être responsables d'importants effets pathogènes. Concernant les microfilaires, la question reste également ouverte; la méconnaissance de leur cycle biologique chez l'oiseau n'exclut pas la possibilité que les filarioses soient des infections chroniques, comme chez l'homme. Il semble raisonnable de postuler que la présente étude ne va pas mettre un point final à cette délicate question de l'éventuelle pathogénicité, cependant deux de nos observations s'y rattachent. (i) La distribution des associations parasitaires est aléatoire. Il n'existe pas de différence significative entre prévalence d'infections simples et mixtes. Un oiseau déjà parasité apparaît ni plus ni moins susceptible à un autre parasite. Le fait qu'un oiseau déjà parasité ne soit pas plus sujet à l'infection par d'autres parasites est plutôt en faveur de la non-pathogénicité des parasites. (ii) Un moindre poids a été observé chez les *Ploceus nelicourvi* porteurs de *Leucocytozoon*, tout comme pour les *Ispidina madagascariensis* porteurs de microfilaires. Ces observations ne permettent pas de savoir si le parasite infecte préférentiellement un hôte de faible poids ou s'il induit un amaigrissement par son action pathogène.

En conclusion, cette étude s'insère dans un programme de veille microbiologique dont le but est de maîtriser les maladies infectieuses c'est-à-dire de comprendre les mécanismes qui conditionnent l'apparition d'une situation épidémique liée à l'agent pathogène lui-même, son cycle naturel, l'hôte ou l'environnement. En particulier pour les plasmodies aviaires, suspectées d'être très proches phylogénétiquement de *Plasmodium falciparum* [19].

REMERCIEMENTS

Le fond de carte ayant servi à la figure 1 nous a aimablement été procuré par Randremanana Rindra Vatosoa. Fabienne Soula a bénéficié d'une bourse Fondation Jeunesse Internationale. Ce travail a été réalisé d'une part au sein de l'Institut Pasteur de Madagascar grâce au financement du Ministère français de la Coopération (FAC 99004900) et de l'Académie de Sciences (prix Louis D) et d'autre part au sein de World Wide Fund for Nature grâce aux bourses de John D and Katherine T MacArthur Foundation, National Geographic Society et Volkswagen Stiftung.

REFERENCES

- 1- **Bennett GF, Blancou J.** A note on the blood parasites of some birds from the Republic of Madagascar. *J Wildl Dis* 1974; **10** : 239-240.
- 2- **Greiner EC, Putnam MS, Goodman SM.** Blood parasites from birds in the Réserve Naturelle Intégrale d'Andringitra, Madagascar. In : Goodman SM. A floral and faunal inventory of the eastern slopes of the Réserve Naturelle Intégrale d'Andringitra, Madagascar : With

- reference to elevational variation. Fieldiana : Zoology new series, 1996; **85** : 142-143.
- 3- **Sadonès HL, Arieu F, Goodman SM, Duchemin JB, Robert V.** Endoparasites of Malagasy birds. In : Goodman SM & Benstead JP. The Natural History of Madagascar. Chicago : The University of Chicago Press. (in press).
 - 4- **Brygoo ER.** Contribution à la connaissance de la parasitologie des caméléons malgaches. [Thèse de Sciences naturelles]. Université de Paris, 1963.
 - 5- **Langrand O.** Guide des oiseaux de Madagascar. Lausanne : Delachaux et Niestlé, 1995; 415p.
 - 6- **Ashford RW.** Blood parasites of Ethiopian birds. General survey. *J Wildl Dis* 1976; **12** : 409-426.
 - 7- **Pierce MA.** Haematzoa of Zambian birds. General survey. *Journal of Natural History* 1984; **18** : 105-122.
 - 8- **Bennett GF, Okian O, Cameron MF.** Avian hematozoa of some Ugandan birds. *J Wildl Dis* 1974; **10** : 458-465.
 - 9- **Bennett GF, White EM, Williams NA.** Additional observations on the blood parasites of Ugandan birds. *J Wildl Dis* 1977; **13** : 251-257.
 - 10- **Peirce MA, Backhurst GC, Backhurst DEG.** Haematzoa of East African birds. Three years' observation on the blood parasites of birds from Ngulia. *East Afr Wildl J* 1977; **15** : 71-79.
 - 11- **Bennett GF, Blancou J, White EM, Williams NA.** Blood parasites of some birds from Senegal. *J Wildl Dis* 1978; **14** : 67-73.
 - 12- **Williams NA, Bennett GF, Troncy PM.** Avian hematozoa of some birds from Tchad. *J Wildl Dis* 1977; **13** : 59-61.
 - 13- **Kirkpatrick CE, Smith TB.** Blood parasites of birds in Cameroon. *J Parasitol* 1988; **74** : 1009-1013.
 - 14- **Bennett GF, Earle RA, Du Toit H, Huchzermeyer FW.** A host-parasite catalogue of the haematzoa of the sub-Saharan birds. Memorial University of Newfoundland, St. John's, Canada. *Onderstepoort J Vet Res* 1992; **59** : 1-73.
 - 15- **Moller AP, Saino N.** Parasites, immunology of hosts, and host sexual selection. *J Parasitol* 1994; **80** : 850-858.
 - 16- **Atkinson CT, Forrester DJ, Greiner EC.** Epizootiology of *Haemoproteus meleagridis* (Protozoa: Haemosporina) in Florida : Seasonal transmission and the vector abundance. *J Med Entomol* 1988; **25** : 45-51.
 - 17- **Garnham PCC.** Malaria parasites and other Haemosporidae. Oxford : Blackwell Scientific Publications, 1966.
 - 18- **Atkinson CT, Dusek RJ, Iko WM.** Epidemic pox and malaria in native forest birds. *Hawaii's Forests and Wildlife* 1993; **8** : 10.
 - 19- **Ayala FJ, Escalante AA, Lal AA, Rich S.** Evolutionary relationships of human malaria parasites. In : Sherman W. Malaria : Parasite biology, pathogenesis, and protection. Washington, D.C. : Am Soc Microbiol Press, 1998 : 285-300.

ANNEXES

Annexe 1 : Caractéristiques des 10 oiseaux présentant les plus fortes densités de *Plasmodium/Haemoproteus*

Espèce	Famille	Date	Lieu	Altitude (m)	Sexe	Poids (g)	Age	Densité H./P. (/100 erythrocytes)
<i>Coua cristata</i>	Cuculidae	26/11/01	Bemaraha	100	M	105,0	ad	2,0000
<i>Vanga curvirostris</i>	Vangidae	17/12/96	Andranomay	1300	indét	80,5	ad	0,4620
<i>Foudia omissa</i>	Ploceidae	22/10/01	Marojejy	1175	F	24,5	ad	0,4000
<i>Vanga curvirostris</i>	Vangidae	1/12/01	Bemaraha	100	F	63,9	ad	0,3975
<i>Foudia omissa</i>	Ploceidae	12/10/96	Marojejy	450	F	17,5	ad	0,3370
<i>Otus rutilus</i>	Strigidae	3/12/01	Bemaraha	100	M	107,0	ad	0,3100
<i>Copsychus albospectularis</i>	Turdidae	3/12/01	Bemaraha	100	indét	indét	Imm	0,2775
<i>Phyllastrephus madagascariensis</i>	Pycnonotidae	17/12/96	Andranomay	1300	indét	30,0	ad	0,2150
<i>Zosterops maderaspatana</i>	Zosteropidae	18/11/96	Marojejy	1875	indét	13,0	ad	0,2000
<i>Vanga curvirostris</i>	Vangidae	1/12/01	Bemaraha	100	M	44,5	ad	0,1925

Annexe 2 : Caractéristiques des 10 oiseaux présentant les plus fortes densités de *Leucocytozoon*

Espèce	Famille	Date	Lieu	Altitude (m)	Sexe	Poids (g)	Age	Densité <i>Leucocytozoon</i> (/100 erythrocytes)
<i>Hypsipetes madagascariensis</i>	Pycnonotidae	1/06/01	Andranomay	1300	indét	indét	Imm	0,3800
<i>Euryceros prevostii</i>	Vangidae	15/10/01	Marojejy	850	F	90,0	ad	0,2200
<i>Ploceus nelicourvi</i>	Ploceidae	22/10/01	Marojejy	1175	F	23,5	ad	0,2125
<i>Euryceros prevostii</i>	Vangidae	15/10/01	Marojejy	850	M	98,0	ad	0,2075
<i>Coua cristata</i>	Cuculidae	3/12/01	Bemaraha	100	F	103,0	ad	0,1000
<i>Brachypteraclis leptosomus</i>	Brachypteraclidae	15/10/01	Marojejy	850	M	indét	ad	0,0850
<i>Vanga curvirostris</i>	Vangidae	1/12/01	Bemaraha	100	F	63,9	ad	0,0625
<i>Phyllastrephus zosterops</i>	Pycnonotidae	15/10/01	Marojejy	850	F	21,0	ad	0,0550
<i>Newtonia brunneicauda</i>	Sylviidae	12/02/96	Ankaratra	2000	indét	10,5	ad	0,0500
<i>Ploceus nelicourvi</i>	Ploceidae	22/10/01	Marojejy	1175	indét	22,5	ad	0,0400

ad : adulte; indét : indéterminé; Imm : immature

Annexe 3 : **Caractéristiques des 25 oiseaux présentant les plus fortes densités de microfilaries (>6250 microfilaries / µl de sang)**

Nombre	Espèce	Date	Lieu	Altitude	Poids	Age
2	<i>Copsychus albospectularis</i>	26/11 et 2/12/01	Bemaraha	100	20,8 et 24,5	ad
2	<i>Copsychus albospectularis</i>	15 et 22/10/01	Marojejy	850	26,5 et indét	ad
2	<i>Coua cristata</i>	26/11 et 3/12/01	Bemaraha	100	103,0 et 105,0	ad
1	<i>Euryceros prevostii</i>	15/10/01	Marojejy	850	98,0	ad
1	<i>Foudia madagascariensis</i>	1/12/01	Bemaraha	100	17,8	ad
2	<i>Ispidina madagascariensis</i>	22/11/01	Bemaraha	100	15,3 et 17,1	indét
1	<i>Monticola sharpei</i>	22/10/01	Marojejy	1175	indét	ad
1	<i>Otus rutilus</i>	26/11/01	Bemaraha	100	97,0	ad
2	<i>Oxylabes madagascariensis</i>	22/10/01	Marojejy	1175	26,0 et 26,5	ad
2	<i>Philepitta castanea</i>	15/10/01	Marojejy	850	34,0 et 37,0	ad
1	<i>Philepitta schlegeli</i>	3/12/01	Bemaraha	100	24,4	ad
1	<i>Phyllastrephus madagascariensis</i>	1/12/01	Bemaraha	100	28,1	ad
1	<i>Phyllastrephus madagascariensis</i>	15/10/01	Marojejy	850	23,0	ad
2	<i>Phyllastrephus zosterops</i>	15/10/01	Marojejy	850	19,0 et 21,5	ad
1	<i>Ploceus nelicourvi</i>	22/10/01	Marojejy	1175	26,5	ad
1	<i>Turnix nigricollis</i>	2/12/01	Bemaraha	100	12,5	ad
2	<i>Vanga curvirostris</i>	1/12/01	Bemaraha	100	44,5 et 63,9	ad

ad : adulte; indét : indéterminé