

ETUDE DU TRANSPORT D'OOCYSTES DE COCCIDIES DE POULETS PAR LE TENEBRION *ALPHITOBIOUS DIAPERINUS*

Réperant Jean-Michel, Mérot Yohann, Morel Jeannine, Thomas Martine, Morel Henri, Picault Jean-Paul

AFSSA-Site de Ploufragan - Unité de Virologie, Immunologie, Parasitologie Aviaires et Cunicoles - Laboratoire d'Etudes et de Recherches Avicoles et Porcines - Zoopôle Beaucemaine-Les Croix - B.P. 53 - 22440 PLOUFRAGAN - FRANCE

Résumé

Le ténébrion *Alphitobius diaperinus* est un coléoptère très présent dans les bâtiments d'élevages de volailles. Il est impliqué dans le transport de virus et bactéries susceptibles de contaminer les oiseaux, et il est un hôte intermédiaire de certaines espèces de cestodes parasites d'oiseaux. Son rôle dans le transport d'oocystes de coccidies de poulets a été évalué expérimentalement, à partir d'insectes élevés en captivité mis en contact avec des oocystes d'*Eimeria acervulina*, espèce de coccidie la plus fréquemment rencontrée chez le poulet. A la vue de nos résultats, il semble que le ténébrion ne soit pas un bon vecteur d'oocystes de coccidies.

Introduction

Les origines de la recontamination d'élevages de volailles en coccidies, ou du maintien des coccidies dans ces élevages, sont mal connues. Le ténébrion *Alphitobius diaperinus* est fréquemment rencontré dans les bâtiments d'élevage, et son rôle de destructeur des isolants thermiques n'est pas la seule nuisance qu'il occasionne (Fiocre O., 1991). Véhicule de bactéries (de las Casa et al., 1968), virus (Eidson et al., 1966), et hôte intermédiaire possible de cestodes, il est aussi soupçonné d'être un agent de transmission des coccidies.

Le but de cette étude est d'étudier la capacité du ténébrion à transmettre des coccidies aux oiseaux. Le cycle du coléoptère a été réalisé dans notre laboratoire, à partir d'insectes capturés en élevage de volailles, et l'étude qui suit a été menée avec les troisième et quatrième génération de descendants.

Matériel et méthode

Entretien des ténébrions

Des ténébrions adultes ont été capturés dans le sas attenant à un bâtiment d'élevage de volailles colonisé par les coléoptères. Après un tri manuel afin d'éliminer les débris et poussières éventuels, les insectes sont répartis à raison de 10 à 20 individus dans des boîtes de Pétri de 9 cm de diamètre, avec un aliment farine pour poulets sur le fond de la boîte et un coton imbibé d'eau. Les boîtes de Pétri sont placées dans des incubateurs en atmosphère humide, à une température de 25-28°C, à l'obscurité.

L'humidité du coton imbibé d'eau est vérifiée tous les deux jours, et le coton est réhydraté si nécessaire. L'aliment est complété au fur et à mesure de sa consommation. Les insectes sont transférés dans des boîtes propres lorsque l'aliment moisit, suite à un excès d'eau.

Les larves, lorsqu'elles sont visibles, sont transférées dans des boîtes de Pétri propres et les stades nymphaux sont isolés dans des boîtes contenant uniquement du coton et de l'eau. Les nouveaux adultes sont placés dans les mêmes conditions que les insectes parentaux. Les descendants sont sélectionnés jusqu'aux troisième et quatrième générations.

Mise en présence de coccidies avec les ténébrions

10 ténébrions de troisième ou quatrième génération sont installés dans une boîte de Pétri contenant 8 grammes d'aliment pour poulets en farine. Cinq boîtes sont préparées avec 1 ml de suspension d'oocystes sporulés d'*Eimeria acervulina*, espèce de coccidie la plus fréquente en élevages de poulets, déposé sur le coton d'eau à la concentration de 10^6 oocystes par ml. Cinq autres boîtes sont préparées avec 2.10^6 oocystes déposés sur le coton. Les boîtes sont mises en incubateur pendant des durées allant de 1 à 5 jours.

Traitement des ténébrions pour recherche de coccidies

Une fois la durée d'incubation terminée, les ténébrions sont prélevés individuellement, lavés dans un détergent anionique puis broyés au mixer dans 5 ml d'eau physiologique. La suspension est filtrée pour éliminer les débris chitineux entre autres, et l'homogénat est mélangé à une solution saline afin de réaliser une flottation des oocystes, s'ils sont présents. La recherche se fait par examen microscopique en lumière directe. Afin de s'assurer que le broyage et les traitements ne peuvent pas entraîner la destruction d'oocystes de coccidies éventuels, nous avons broyé des ténébrions n'ayant jamais été en contact avec des coccidies avec des oocystes ajoutés dans la suspension selon le même protocole que celui appliqué aux échantillons.

Passage sur poulets

Une boîte contenant 60 ténébrions mis en contact avec 6.10^6 oocystes est incubée pendant 5 jours. Le broyat d'un volume total de 10 ml est inoculé à quatre

coquelets exempts de coccidies, à raison de 2 ml par oiseau. Les 2 ml restant servent à effectuer la recherche directe d'oocystes sous microscope. Cinq jours après inoculation, les oiseaux sont euthanasiés : les oocystes sont recherchés dans les matières fécales et les intestins sont observés pour la mise en évidence des formes de développement parasitaire.

Etude avec les larves

Une troisième étude a été menée avec des larves de ténébrions. Deux boîtes de Pétri contenant chacune 30 larves de quatrième génération et 30.10^6 oocystes d'*E. acervulina* sont laissées à la température ambiante du laboratoire pendant 7 jours. De la première boîte, 20 larves vivantes et non nymphosées sont lavées avec un agent anionique et broyées dans 10 ml d'eau physiologique. La suspension est conservée 48 heures à 4°C, puis filtrée et centrifugée. 20 larves sont également prélevées de la seconde boîte et subissent le même traitement, sauf la phase de lavage remplacée par un simple rinçage sous eau distillée.

Après recherche microscopique de coccidies, chaque homogénat est administré pour moitié à deux coquelets. Cinq jours après inoculation, les oiseaux sont euthanasiés et les coccidies sont recherchées au niveau du tube digestif (duodenum-jejunum) et dans les matières fécales.

Résultats

Les broyats de ténébrions adultes n'ont pas permis d'observer d'oocystes de coccidies, que les durées de contact aient été de 1, 2, 4 ou 5 jours, et quelle soit la quantité d'oocystes mise au contact des insectes, à savoir 10^6 , 2.10^6 ou 6.10^6 . L'inoculation à des poulets des broyats de ténébrions mis en contact avec 6.10^6 oocystes d'*E. acervulina* n'a pas permis de développement détectable des parasites.

La présence d'oocystes de coccidies dans les cotons imbibés placés dans les boîtes de Pétri a été confirmée à la fin de la période d'incubation par examen microscopique direct.

Lors des contrôles visant à vérifier la persistance des oocystes de coccidies dans les échantillons, les oocystes ajoutés aux ténébrions avant broyage étaient toujours décelables après les différentes étapes du traitement.

L'étude portant sur les larves de ténébrions mises en contact avec des oocystes d'*E. acervulina* n'a pas permis de révéler d'oocystes dans les broyats d'insectes, mais l'inoculation aux poulets a donné des résultats inconstants liés à des problèmes d'infrastructure d'animalerie, et il nous faut répéter le protocole. Ces essais sont actuellement reconduits afin de conclure définitivement sur le rôle des larves dans le poster en mars.

Discussion

Pour s'affranchir du risque de portage initial de coccidies par les ténébrions capturés, et pour mieux évaluer leur rôle dans le transport d'oocystes de coccidies, nous avons entretenu le cycle de développement des coléoptères aux troisième et quatrième générations de descendants, en renouvelant le milieu à chaque nouvelle génération et plusieurs fois sur une même génération. Cet élevage nous a en même temps permis de constater des temps de développement plus courts que ceux décrits pour cet insecte, avec notamment un développement larvaire parfois inférieur à 30 jours dans nos conditions.

Deux publications relatent le rôle des ténébrions comme agents de transport d'oocystes de coccidies (Reyna et al., 1983, Goodwin et Waltman, 1996). Dans le travail de Reyna et al. (1983), des échantillons de ténébrions et de larves ont été collectés en élevage standard à des dates couvrant toutes les saisons d'une année. Les insectes ont été inoculés à des poulets et les oocystes de coccidies ont été recherchés dans les déjections des oiseaux entre 4 et 8 jours après inoculation. Sur 21 échantillons de coléoptères au stade adulte ou larvaire, 8 étaient positifs, avec excrétion de coccidies par les poulets ayant reçu les échantillons. Cependant, la nature des échantillons, leur traitement en vue d'observer les parasites et le mode d'administration aux poulets ne sont pas précisés.

Dans l'article publié par Goodwin et Waltman (1996), des ténébrions ont été collectés dans sept bâtiments différents. Un minimum de 75 ténébrions a été collecté manuellement, stocké dans des sacs en plastique et conservé à -80°C. L'étude ne portait apparemment que sur des insectes imago, bien que ce ne soit pas précisé. Le traitement des ténébrions passait par une homogénéisation dans du PBS, puis l'adjonction d'antibiotiques pour l'aspect concernant la recherche des coccidies. A partir de sept homogénats de 30 ml correspondant aux sept prélèvements, sept poulets recevaient 0,5 ml des suspensions. Les oocystes de coccidies étaient recherchés dans les matières fécales 10 jours après inoculation. Six des sept poulets étaient positifs. Aucun détail n'est donné sur la technique de recherche de coccidies dans les fientes, sur les espèces retrouvées ou sur les quantités d'oocystes excrétées.

Afin de contrôler une majorité de paramètres, nous avons mis en contact des ténébrions jugés exempts de coccidies (car maintenus en captivité pendant plus de trois générations) avec des oocystes sporulés viables de l'espèce de coccidie parasite du poulet la plus fréquente. Nous avons aussi choisi *Eimeria acervulina* plutôt qu'une autre espèce de coccidie pour cette étude car elle possède un très fort potentiel de remultiplication en un seul passage chez le poulet. De ce fait, nos chances étaient plus fortes d'observer des oocystes dans les matières fécales, et même peut-être d'observer des lésions intestinales.

Aux vues de nos résultats avec *E. acervulina*, il semble que les ténébrions adultes ne soient pas de bons agents de transmission des coccidies, et qu'ils jouent par conséquent un rôle mineur ou nul dans la recontamination des élevages en coccidies ou dans la persistance de ces coccidies d'une bande à la suivante. La capacité des larves à véhiculer des oocystes de coccidies est en cours de réévaluation.

Références

de las Casa E, Pomeroy B.S. et Harein, P.K. 1968. Poultry Science, 47 : 1871-1875

Eidson C.S., Schmittle S.C., Goode R.B. et Lal J.B. 1966. American Journal of Veterinary Research, 27 : 1053-1057

Fiocre O. 1991. Thèse vétérinaire ENV Nantes n° 049, 97 pages

Goodwin M.A. et Waltman W.D. 1996. Journal of Applied Poultry Research, 5 : 51-55

Reyna P.S., McDougald L.R. et Mathis G.F. 1983. Avian Diseases, 27 : 464-473