

CONTRIBUTION A LA CONNAISSANCE DE
L'EPIDEMIOLOGIE DES BABESIOSES DE
MICROMAMMIFERES ET DE BOVINS
EN SUISSE.

THESE PRESENTEE A LA FACULTE DES SCIENCES DE L'UNIVERSITE
DE NEUCHATEL POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR ES SCIENCES

PAR LISE GERN
LICENCIEE ES SCIENCES

Travail réalisé avec l'aide du Fonds National Suisse de
la Recherche Scientifique. Requête no 3'070.081. Projet D.

IMPRIMATUR POUR LA THÈSE

Contribution à la connaissance de l'épidé-
miologie des babésioses de micromammifères
et de bovins en Suisse

de Madame Lise GERN

UNIVERSITÉ DE NEUCHÂTEL

FACULTÉ DES SCIENCES

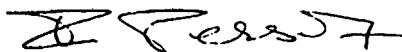
La Faculté des sciences de l'Université de Neuchâtel,
sur le rapport des membres du jury,

Messieurs A. Aeschlimann, M. Brossard et
K. Pfister (Berne)

autorise l'impression de la présente thèse.

Neuchâtel, le 7 septembre 1988

Le doyen:



F. Persoz

Schweiz. Arch. Tierheilk. 124, 549–556, 1982

Institut de Zoologie, Université de Neuchâtel

Piroplasmose bovine dans le Clos-du-Doubs (Jura, Suisse): observations préliminaires¹

L. Gern², M. Brossard², A. Aeschlimann², C.-A. Broquet³, G. Quenet⁴, J.-P. Stucki⁴, J. Ackermann⁵

Introduction

La babésiose ou piroplasmose bovine est une maladie grave, due à un Protozoaire du genre *Babesia* qui se multiplie dans les globules rouges. Cette parasitose est répandue dans le monde entier et particulièrement dans les zones tropicales et subtropicales. En Europe, son rôle est loin d'être négligeable (Lehner, 1973).

En Suisse, la première description de la maladie a été publiée par Galli-Valerio (1901). Dès cette date, l'affection a été signalée dans 5 contrées: au Tessin et dans le Val Mesolcina, une proche vallée des Grisons (Wyssmann, 1922; Serena, 1924; Brossard et Aeschlimann, 1975), dans le Gros de Vaud (Galli-Valerio et Stalder, 1918; Galli-Valerio, 1919, 1921), dans la région de Thoun (Wyssmann, 1922), dans le Bas Valais (Galli-Valerio, 1925 a et b, 1926; Morisod et al., 1972; Brossard, 1976) et le Jura (Wyssmann, 1922; Aeschlimann et al., 1975). Dans le Gros de Vaud et à Thoun, la piroplasmose, mentionnée au début de ce siècle, semble avoir disparu depuis lors. Au Tessin, Val Mesolcina compris, la maladie est sporadiquement observée, de même qu'en Valais où les cas graves avec hémoglobinurie sont inexistants. Dans le Clos-du-Doubs, par contre, les manifestations cliniques de la maladie sont sérieuses et fréquentes, provoquant des pertes dans le cheptel (Quenet, 1978).

Les observations résumées dans cet article concernent l'épidémiologie, la symptomatologie et la thérapie de la babésiose du Clos-du-Doubs. Elles proviennent essentiellement de renseignements obtenus auprès des vétérinaires de la région que nous remercions vivement ici.

Resultats et Discussion

a) Epidémiologie

Le Clos-du-Doubs, colline délimitée par un méandre en épingle à cheveux du Doubs en territoire suisse, est situé dans le canton du Jura (fig. 1). D'une surface

¹ Ce travail a été réalisé avec l'aide du Fonds National Suisse de la Recherche Scientifique (Requête no 3.070.81). Il constitue une partie de la thèse de Mme Lise Gern.

² Institut de Zoologie, Université, Chantemerle 22, CH-2000 Neuchâtel.

³ Vétérinaire à CH-2726 Saignelégier.

⁴ Vétérinaire à CH-2900 Porrentruy.

⁵ Ecole cantonale d'Agriculture, Service de vulgarisation agricole du Jura, CH-2852 Courtemelon.

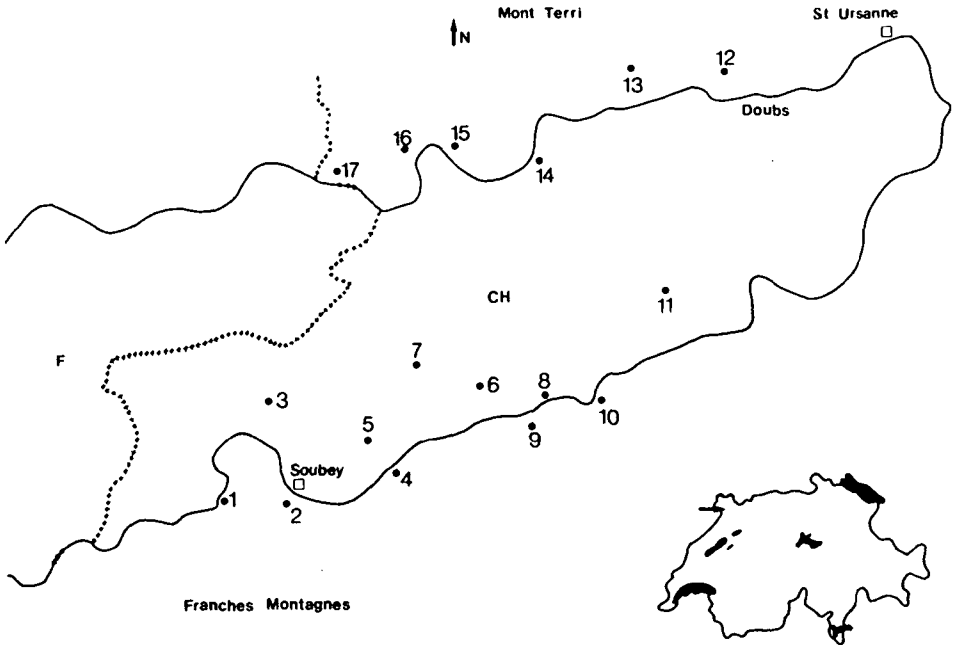


Fig. 1. Clos-du-Doubs: situation géographique en Suisse et localisation des cas de piroplasmose → situation géographique du Clos-du-Doubs

- | | | | |
|-------------------------|-----------------|---------------------|---------------|
| 1. Lobschez, les Ormetz | 5. Chercenez | 9. La Réchesse | 13. Seleute |
| 2. Le Cras | 6. Montbion | 10. La Charbonnière | 14. Pontoye |
| 3. La Cernie | 7. Essertfallon | 11. Epauvillers | 15. Ocourt |
| 4. Le Champois | 8. Chervillers | 12. Oisonfontaine | 16. Monturban |
| | | | 17. La Motte |

d'environ 80 km², cette région est essentiellement composée de forêts (42% de la superficie totale) et de terres agricoles (55%, dont la moitié sont des pâturages).

Nous avons établi une carte de distribution des foyers de piroplasmose bovine de cette région. La première mention de la maladie date de 1965. Dès lors, 17 foyers ont été répertoriés (fig. 1). Ils se répartissent surtout dans la partie ouest, sur les versants sud et nord longeant la rivière. A l'altitude de 800 à 1000 m, où le vecteur est rarissime (Aeschlimann, 1972), aucun animal malade n'a plus été observé.

Nous avons inventorié 64 piroplasmoses graves avec hémoglobinurie de 1970 à 1981. Ce chiffre n'est sans doute pas exhaustif car, pour l'année 1981 seulement, période où nos observations ont été continues au Clos-du-Doubs, 28 cas se sont déclarés. Il faut ajouter que les babésioses bénignes et inapparentes guérissent spontanément. Elles échappent souvent à l'attention des éleveurs et ne sont généralement pas signalées.

Les bovins qui contractent la maladie sont toujours âgés de plus de 9 mois (fig. 2). Les très jeunes animaux seraient donc naturellement plus résistants à la piro-

plasmosse. Ainsi, pour la période considérée, la majorité des observations concernent des animaux âgés de 9 mois à 3 ans (43) et 13 vaches âgées de 3 à 9 ans. Pour les 8 cas restants, nous ne connaissons pas l'âge des bovins malades.

Nombre de cas

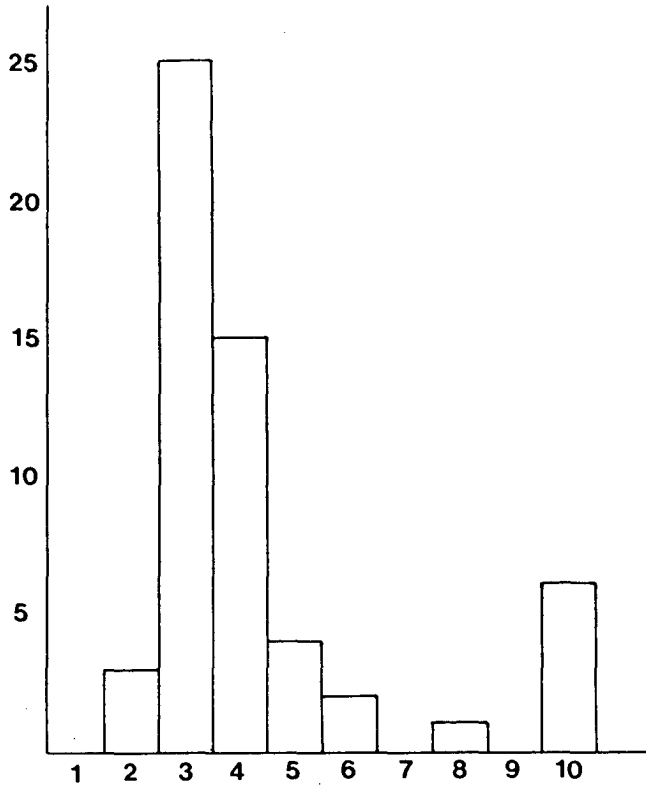


Fig. 2. Répartition des cas de maladie en fonction de l'âge des animaux.

- | | |
|------------------|-------------------|
| 1. 0 à 9 mois | 6. 4 ans à 5 ans |
| 2. 9 mois à 1 an | 7. 5 ans à 6 ans |
| 3. 1 an à 2 ans | 8. 6 ans à 7 ans |
| 4. 2 ans à 3 ans | 9. 7 ans à 8 ans |
| 5. 3 ans à 4 ans | 10. 8 ans à 9 ans |

Dans le Clos-du-Doubs, la piroplasmose est due à *Babesia divergens* qui est transmis par la Tique *Ixodes ricinus* (Joyner et al., 1963). Cet Ixodide est d'ailleurs le seul à parasiter les bovins de cet endroit (Quenet, 1978). L'apparition de la maladie en 2 vagues successives, l'une au printemps l'autre en automne, correspond aux 2 pics classiques d'activité du vecteur (Mermoud et al., 1973). Nous connaissons pour 45 bovins,

Nombre de cas

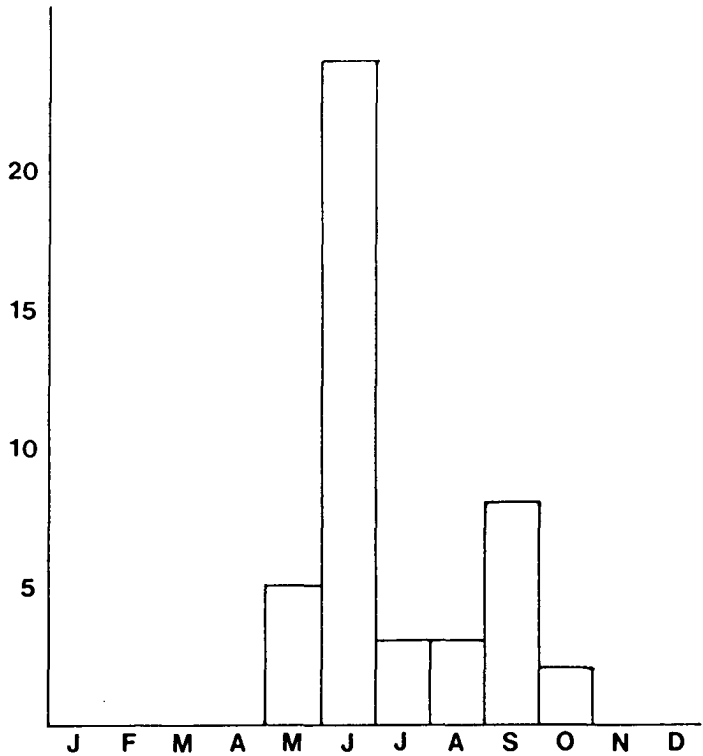


Fig. 3. Répartition des cas de maladie durant l'année.

âgés de 9 mois à 9 ans, la date exacte de l'affection (fig. 3). Ainsi, 35 individus ont présenté les symptômes de la babésiose de mai à août et 10 en automne, au cours des mois de septembre et octobre. Si les premiers cas ont été constatés en mai (5), c'est en juin qu'ils sont les plus nombreux (24). Ils sont rares en juillet (3) et en août (3). En septembre, on en dénombre à nouveau davantage (8). Les dernières manifestations cliniques ont lieu en octobre (2). Aucune babésiose hivernale n'a jusqu'ici été signalée.

Les pâturages des côtes du Doubs sont abondamment pourvus de bosquets, vestiges de forêts au riche sous-bois, et de haies. On ne saurait assez insister sur l'importance potentielle de ces biotopes comme refuge pour *I. ricinus*, surtout si on sait que le bétail les utilise comme abris temporaires pendant les grandes chaleurs de la journée. Dans un pâturage entouré sur 3 côtés de forêts et qui se composait d'une succession de 3 bosquets, d'une haie, d'un mur de pierre et d'une clôture, un essai ponctuel de capture de tiques au drapeau a donné les résultats résumés dans le tableau 1. La

Tableau 1: Capture d'*I. ricinus* libres, au drapeau, le 9 juin 1977, dans un pâturage situé près de St-Ursanne (Oisonfontaine; fig. 1, lieu no 12). Recherche des tiques effectuée par 6 personnes entre 8,30 et 12,00 environ. Un total de 289 tiques ont été récoltées.

	Lisière de Forêt		Bosquets	Haie	Dessous d'arbre	Mur de pierre	Pâturage
	nord	sud					
♀ ♀	29	3	11	3	—	—	—
♂ ♂	22	1	9	—	—	—	—
NN	88	4	21	62	1	4	—
LL	—	4	—	24	—	—	—
Total	139	12	41	92	1	4	0

figure 1 renseigne sur la situation géographique du terrain examiné (Oisonfontaine, lieu no 12).

Il faut souligner que les forêts sont, au Jura, souvent isolées des pâturages par une clôture. Par conséquent, pour les gros animaux domestiques, elles ne représentent pas toujours un lieu d'infestation majeur par les tiques quoiqu'elles hébergent une majorité de la population de ces vecteurs. Les haies et les bosquets, par contre, sont accessibles au bétail qui peut alors aisément y rencontrer *I. ricinus*. Il est intéressant de constater que les murs de pierres, si caractéristiques des paysages jurassiens, peuvent abriter des nymphes. Cette trouvaille repose probablement sur le fait que les rongeurs, hôtes habituels des immatures de tiques, parcourent ces murs, y trouvent quelque nourriture, peut-être un refuge dans des anfractuosités.

Le pâturage lui-même, quelle que soit la hauteur de son herbe, est d'habitude libre d'*I. ricinus*, hormis les étroites bandes limitrophes aux lisières. La capture d'une tique en plein pâturage reste donc accidentelle.

Disons cependant ici qu'une minutieuse étude quantitative et qualitative sur la distribution et l'activité annuelle des tiques de tous stades dans un domaine agricole aux biotopes variés reste à faire.

b) Symptomatologie et clinique

L'hyperthermie et l'hémoglobinurie constituent les symptômes principaux de la piroplasmose bovine dans le Clos-du-Doubs. La température peut atteindre 42 °C. Les muqueuses restent parfois normales, mais elles sont souvent soit ictériques soit anémiques. La fréquence respiratoire varie d'un animal à l'autre, pouvant dépasser 40 mouvements par minute. Aucun bruit pathologique n'est toutefois perceptible. Le système cardio-vasculaire peut être mis à rude épreuve, la tachycardie est alors constatée (plus de 80 battements par minute). A l'auscultation, il n'a pas été remarqué d'arythmie ni d'extrasystole. Les bruits étaient souvent très forts mais sans souffles pathologiques. Les troubles du système gastro-intestinal sont inconstants. Souvent le bétail malade garde l'appétit. Parfois, il montre cependant de l'inappétence, voire de l'anorexie. Les bruits de la panse et des intestins se font alors rares. L'animal souffre de constipation, mais jamais de diarrhée ni de tympanie. L'apathie et l'abattement des malades sont des symptômes fréquents. La production laitière des vaches est

diminuée sans qu'il y ait toutefois de tarissement. L'urine, de couleur café noir, mousse énormément; sa viscosité est forte mais son poids spécifique et son acidité sont normaux.

Après traitement, le pronostic de la piroplasmose est souvent favorable pour le jeune bovin et assez favorable pour le bétail adulte. Comme il existe des cas mortels, il importe de déceler la maladie rapidement. Les propriétaires doivent donc rester attentifs et surveiller journalièrement les génisses sur les pâturages.

c) *Thérapie*

Un traitement avec 3,5–7 mg/kg de Bérénil® (HOECHST) ou 3–4 mg/kg de Lomidine® (SPECIA) en injection intramusculaire et renouvelable après 24 h. est efficace. Un traitement symptomatique est parfois indispensable avec tonocardiaques et protecteurs hépatiques. Une forte anémie peut être comblée par lente transfusion en I. V. de 3–4 litres de sang prélevés avec anticoagulant (citrate de soude – héparine).

Conclusions

Les piroplasmoses décrites chez le bétail du Clos-du-Doubs sont typiques d'une infection à *B. divergens*. Nous avons d'ailleurs confirmé ce diagnostic sur frottis sanguins colorés au Giemsa. Les animaux malades présentent une parasitémie de 1 à 32%.

Traités suffisamment tôt par du Bérénil® ou de la Lomidine®, les bovins malades de babésiose guérissent généralement bien. Il faut souligner que la piroplasmose bovine a un impact non négligeable sur l'économie locale. En effet, même si les bovins échappent à la mort, les conséquences de la maladie peuvent être importantes. Les génisses se développent parfois mal et la production de viande est souvent diminuée. Quant à la lactation, elle accuse une baisse importante qui peut persister. La maladie est d'habitude décelée à un stade déjà avancé, soit au moment de mictions rougeâtres. Pour avoir une chance de succès, le traitement doit être alors très rapide. Il est donc nécessaire de contrôler les animaux chaque jour au pâurage, ce qui fait perdre un temps considérable au paysan.

Le parasite est très largement répandu dans cette contrée puisque 17 foyers persistants ont été répertoriés jusqu'à présent. Il existe d'autre part un risque d'extension de la piroplasmose bovine dans la région même, on pourrait dire quasiment de pâurage à pâurage si les tiques y trouvent des biotopes favorables. Ainsi, le Cras (fig. 1, lieu no 2) était indemne de piroplasmose jusqu'au début de l'année 1981: depuis lors, plusieurs cas y ont été observés. Rappelons d'autre part qu'avant 1965, nous n'avons eu connaissance d'aucune babésiose au Clos-du-Doubs. L'éventualité d'une extension est sans doute moins prononcée pour des endroits éloignés, situés en Suisse au-delà de la boucle du Doubs. En effet, les chaînes de montagnes d'une altitude d'environ 1000 m (Mont Terri au nord, Les Rangiers à l'est et les Franches-Montagnes au sud) ne permettent guère l'installation, puis le développement du vecteur, par conséquent limitent l'élargissement de la zone contaminée. Toutefois, on ne peut pas exclure un transport de babésies dans des régions plus éloignées et indemnes, mais riches en

vecteurs potentiels (*I. ricinus*), par la vente d'animaux porteurs du parasite ou par l'introduction de tiques infectées et véhiculées par divers hôtes. Les oiseaux migrateurs pourraient ici jouer un rôle (*Aeschlimann et Büttiker, 1975*). L'extension de tels foyers s'observe actuellement en Belgique par exemple (*Famerée et al., 1977*). D'autre part, il est risqué d'importer dans le Clos-du-Doubs du bétail sain d'autres régions de Suisse, ou même de transférer, dans le Clos-du-Doubs même, des bovins de zones indemnes dans des zones infectées. Ces bêtes font généralement ce que les agriculteurs appellent «le pays», une expression qualifiant peut-être une piroplasmose atypique. Elles n'ont probablement pas pu développer progressivement d'immunité contre le parasite et sont donc très réceptives à la maladie dès leur rencontre avec une tique infectée.

Les observations rapportées dans le présent article font partie d'une large étude séro-épidémiologique concernant non seulement la piroplasmose dans le Clos-du-Doubs, mais s'étendant à la Suisse entière. Au cours de ce travail de longue haleine, on tiendra également compte d'autres hôtes que le bétail, les micromammifères en particulier. Les résultats complets seront présentés plus tard.

Résumé

Les auteurs décrivent une entité nosologique chez le bovin dans le Clos-du-Doubs (Jura, Suisse). La symptomatologie (hyperthermie, hémoglobinurie, baisse du lait) correspond à une piroplasmose (*Babesia divergens*) transmise par *Ixodes ricinus*. L'apparition des cas, répertoriés dès 1970, concorde avec l'activité saisonnière de cette tique. Les animaux jeunes, âgés de 9 mois à 3 ans, sont les plus touchés. La maladie répond très bien au Bérénil ou à la Lomidine.

Zusammenfassung

Die Autoren beschreiben ein Syndrom des Rindes im Clos-du-Doubs (Jura, Schweiz). Die Symptomatologie (Fieber, Haemoglobinurie, Rückgang des Milchtrages) entspricht einer durch *Ixodes ricinus* übertragenen Babesiose (*Babesia divergens*). Das Auftreten der Krankheitsfälle, verfolgt seit 1970, fällt zusammen mit der Aktivität dieser Zecke. Die jüngsten Rinder im Alter zwischen 9 Monaten und 3 Jahren sind die am stärksten betroffenen Tiere. Mit Berenil oder Lomidine lässt sich die Krankheit gut behandeln.

Riassunto

Gli autori danno relazione di una sindrome nel bovino, che si verifica nel Clos-du-Doubs (Jura, Svizzera). La sintomatologia (febbre, hemoglobinuria, diminuzione della produzione latte) corrisponde ad una piroplasmosi (*Babesia divergens*) trasmessa da *Ixodes ricinus*. L'apparizione dei casi, repertoriati dal 1970, coincide con l'attività stagionale di questa zecca. La malattia tocca per lo più giovani animali, da 9 mesi a 3 anni. L'iniezione intramuscolare di Berenil o Lomidine si rivela un'eccellente terapia.

Summary

The authors describe the existence of a nosological entity among cattle in the Clos-du-Doubs (Jura, Switzerland). The symptomatology (hyperthermia, haemoglobinuria, decline in milk yield) is caused by a babesial infection (*Babesia divergens*), which is transmitted by *Ixodes ricinus* and which shows a very good response to Berenil or Lomidine. Since 1970, cases have been observed mainly in young animals (9 months to 3 years) and they occur during the seasonal tick activity.

Bibliographie

- Aeschlimann A.*: *Ixodes ricinus*, Linné, 1758 (Ixodoidea; Ixodidae). Essai préliminaire de synthèse sur la biologie de cette espèce en Suisse. *Acta trop.* 29, 321–340 (1972). – *Aeschlimann A. et Büttiker W.*: Importation de tiques en Suisse (Acarina: Ixodoidea). *Bull. Soc. Entomol. suisse* 48, 69–75 (1975). – *Aeschlimann A., Brossard M. et Quenet G.*: Contribution à la connaissance des piroplasmes de Suisse. *Acta trop.* 32, 281–283 (1975). – *Brossard M. et Aeschlimann A.*: Piroplasmoses bovines en Suisse italienne (Remarques sur les infections latentes). *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 117, 287–292 (1975). – *Brossard M.*: *Ixodes ricinus*, vecteur expérimental de trois espèces de babésies (*B. bovis*, *B. berbera* et *B. argentina*) *Revue suisse Zool.* 83, 443–462 (1976). – *Famerée L., Cotteleer C. et Antoine H.*: La babésiose bovine en Belgique, une anthropolozoonose envahissante et méconnue. Incidence des babésiases animales sur la santé humaine. *Revue médicale de Liège* 32, 383–390 (1977). – *Galli-Valerio B.*: Über den gegenwärtigen Stand unserer Kenntnisse der Malaria. *Ther. Mh.* 15, 55–64 (1901). – *Galli-Valerio B.*: Notes de parasitologie et technique parasitologique. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 61, 289–302 (1919). – *Galli-Valerio B.*: Parasitologische Untersuchungen und Beiträge zur parasitologischen Technik. *Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten, I. Abteilung, Originale*, 86, 346–352 (1921). – *Galli-Valerio B.*: La piroplasmose des bovidés dans la plaine du Rhône. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 67, 397–398 (1925a). – *Galli-Valerio B.*: Piroplasmose. *La Terre Vaudoise* 17, 356 (1925b). – *Galli-Valerio B.*: Parasitologische Untersuchungen und Beiträge zur parasitologischen Technik. *Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten, I. Abteilung, Originale* 99, 319–325 (1926). – *Galli-Valerio B. et Stalder H.*: La piroplasmose des bovidés en Suisse. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 60, 471–477 (1918). – *Joyner L.P., Davis S.F.M. et Kendall S.B.*: The experimental transmission of *Babesia divergens* by *Ixodes ricinus*. *Expl. Parasit.* 14, 367–373 (1963). – *Lehner M.*: Untersuchungen und Erhebungen zum Vorkommen der Rinderbabésiose im Südbayerischen Raum. *Vet. Med. Diss. München* (1973). – *Mermod C., Aeschlimann A. et Graf J.-F.*: Ecologie et Ethologie d'*Ixodes ricinus* Linné 1758, en Suisse (Acarina, Ixodoidea) Première note: Fluctuations numériques. *Acarologia* 15, 197–205 (1973). – *Morisod A., Brossard M., Lambert C., Suter H. et Aeschlimann A.*: *Babesia bovis*: transmission par *Ixodes ricinus* (Ixodoidea) dans la plaine du Rhône. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 114, 387–391 (1972). – *Quenet G.*: Quelques observations sur la piroplasmose bovine dans le Jura. Thèse de Médecine vétérinaire de Berne (1978). – *Serena P.*: Rinderpiroplasmose. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 66, 168–176 (1924). – *Wyssmann E.*: Anfrage betreffend Rinderpiroplasmose. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 64, 352–353 (1922).

Régistration du manuscrit: 6 septembre 1982

Schweiz. Arch. Tierheilk. 128, 361–363, 1986

Institut de Zoologie de l'Université de Neuchâtel

**Evolution annuelle de l'infestation de bovins par la tique
Ixodes ricinus L.
et de l'infection de ces ectoparasites par *Babesia divergens*
dans le Clos-du-Doubs (Jura, Suisse)***

L. Gern et M. Brossard**

Introduction

Les piropasmes sont transmis par les tiques. Pour environ 71 espèces de babésies répertoriées, on ne compte pas moins de 15 tiques vectrices (Riek, 1968). Le développement du protozoaire dans l'invertébré est rarement connu avec précision (Friedhoff et Smith, 1981). En effet, bien que la découverte de la transmission par les tiques soit déjà ancienne (Smith et Kilbourne, 1893), peu de modèles de ce type ont actuellement été étudiés dans le détail.

Joyner et al. (1963) et Donnelly et Peirce (1975) ont expérimentalement montré qu'*Ixodes ricinus* transmet *Babesia divergens*. Les tiques s'infectent au stade adulte. Après la transmission transovarienne et transstadiale de la babésie, larves, nymphes et adultes peuvent inoculer ce microorganisme à leur hôte.

Dans le Clos-du Doubs (Jura, Suisse), la babésiose à *B. divergens* est largement répandue (Gern et al., 1982). D'habitude à la fin de l'estivage, la majorité des bovins ont été en contact avec le parasite: testés par immunofluorescence indirecte, plus de 90% des 400 bovins examinés présentaient des anticorps anti-*B. divergens* en décembre 1981 (Gern, 1985).

Afin de mieux comprendre la circulation du parasite des tiques aux bovins de cette région, nous décrivons dans ce travail l'évolution annuelle de l'infestation de 3 génisses ainsi que l'infection des tiques par *B. divergens*. Cette étude a été réalisée pendant l'estivage 1982.

Matériel et méthodes

Trois génisses, âgées de 2 ans, ont été observées au lieu dit «Le Cras» dans le Clos-du-Doubs. L'estivage de 1982 a duré 25 semaines, soit du 13.5. au 27.10. Chaque mercredi dès 10 heures, les animaux ont été déparasités. L'heure a été choisie en fonction du moment du détachement de la plupart des tiques gorgées, soit entre midi et 14 heures (Graf et al., 1978). Les tiques sont le plus souvent fixées sur le fanon, aux aisselles et aux aines des animaux. Les ectoparasites sont conservés à l'humidité dans des tubes en verre jusqu'à leur examen au laboratoire.

Pour chaque tique, un test d'hémolymphe selon Burgdorfer (1970) et un frottis d'organes colorés au Giemsa pH 7,2 ont servi à détecter les différents stades de *B. divergens*. Les frottis ont été observés au microscope sur leur surface entière avec un objectif 50× à immersion.

* Ce travail a été réalisé avec l'aide du Fonds National Suisse de la Recherche Scientifique (Requête no 3.070.81). Il constitue une partie de la thèse de Mme Lise Gern.

** Adresse: Institut de Zoologie, Chantemerle 22, CH-2000 Neuchâtel

Résultats

Durant les 25 semaines de l'estivage 1982, nous avons prélevé 184 *I. ricinus* sur les 3 génisses considérées: 182 adultes (146 femelles et 36 mâles) et 2 nymphes (Tableau 1). Dans le Clos-du-Doubs, cette espèce est la seule à parasiter les bovins, l'infestation restant toujours relativement faible. Deux pics d'activité des tiques sont pourtant décelés, l'un en mai et l'autre en septembre. Durant ces 2 mois, nous avons compté respectivement une moyenne de 5,8 et 3,0 tiques par animal et par semaine.

Seules 2 femelles d'*I. ricinus* étaient infectées par *B. divergens* (c'est-à-dire 1,1% de l'ensemble des tiques), la première en juin sur la génisse no 2 et l'autre au commencement d'octobre sur l'animal no 3 (Tableau 1). Différents stades du protozoaire ont été détectés dans un frottis d'organes du premier ectoparasite et dans un frottis d'organes ainsi que d'hémolymphe du second. Sporontes, sporokinètes et sporozoïtes ont été décelés.

Tableau 1 Infestation de 3 bovins par *I. ricinus* et infection des tiques par *B. divergens*

	Bovin no 1			Bovin no 2			Bovin no 3			Total	Nombre moyen de tiques/animal/semaine
	N	♀	♂	N	♀	♂	N	♀	♂		
Mai 1982 (3 semaines)	2	12	5	—	12	6	—	13	2	52	5.8
Juin 1982 (5 semaines)	—	15	2	—	11*	2	—	8	3	41	2.7
Juillet 1982 (4 semaines)	—	6	—	—	4	—	—	2	—	12	1.0
Août 1982 (4 semaines)	—	3	—	—	4	1	—	—	—	8	0.7
Septembre 1982 (5 semaines)	—	16	4	—	11	3	—	9	2	45	3.0
Octobre 1982 (4 semaines)	—	9	2	—	4	3	—	7*	1	26	2.2
Total	2	61	13	—	46	15	—	39	8	184	

N: nymphe ♀: femelle ♂: mâle —: pas de tique *: 1 tique infectée par *B. divergens*

Discussion

Dans le Clos-du-Doubs (Jura), nous avons vérifié la relation entre l'activité exophile des tiques *I. ricinus* et l'apparition de la babésiose bovine. En 1982, 16 cas avec hémoglobinurie ont été signalés en 2 vagues successives, 13 en juin et 3 en septembre (Gern, 1985). L'apparition de la maladie suivait de peu la période d'activité maximale des tiques durant ces 2 périodes. Rappelons qu'une incubation d'environ une semaine est à considérer pour la piroplasmose à *B. divergens* (Joyner et al., 1963).

Dans cette région, près d'1% des bovins tombent malades chaque année mais plus de 90% présentent des anticorps anti-*B. divergens* en fin d'estivage (Gern, 1985). A ce moment, la majorité des animaux ont ainsi été en contact avec le protozoaire. L'inoculation

des sporozoïtes par une seule tique paraît suffisante pour induire la production d'anticorps spécifiques et peut-être aussi pour provoquer la maladie. En effet, nous avons montré que seul 1,1% des ectoparasites prélevés sur 3 bovins étaient infectés et que l'infestation de ces animaux était faible (moins de 100 tiques par animal pour toute la saison).

En déparasitant les bovins chaque semaine, la majorité des adultes d'*I. ricinus* ont été recencés et examinés en vue d'identifier *B. divergens*. La période de nutrition de ce stade dure en effet 7 jours et plus (Graf, 1978). Seules 2 nymphes ont été trouvées sur une génisse. Des larves ou nymphes de l'ectoparasite nous ont peut-être échappé car leur repas est de plus courte durée. Néanmoins, ils n'interviennent sans doute pas intensément dans la transmission de la babesie aux bovins dans le foyer étudié. En effet, les stades immatures d'*I. ricinus* infestent généralement les micromammifères sauvages et les oiseaux (Aeschlimann, 1972).

En conclusion, une faible infestation du bétail par les tiques (moins de 100 *I. ricinus* par animal durant l'estivage entier) et un faible taux d'infection des tiques par *B. divergens* (environ 1%) suffisent à la transmission de la babesie à pratiquement l'ensemble de la population des bovins du Clos-du-Doubs.

Résumé

La babesiose à *B. divergens* est fréquente dans le Clos-du-Doubs (Jura, Suisse). Dans une ferme de cette région, l'infestation par les tiques de 3 génisses et l'infection de ces ectoparasites par la babesie ont été observées durant l'estivage de 1982 (25 semaines). Moins de 100 *I. ricinus* adultes par animal et un taux d'infection de 1,1% des tiques par *B. divergens* suffisent pour assurer la présence d'anticorps dans au moins 90% des bovins de la région.

Zusammenfassung

In einer endemischen *B. divergens*-Gegend (Clos-du-Doubs, Jura, Schweiz) wurden das Vorkommen von Zecken bei 3 Rindern, sowie diese Zecken auf Babesien untersucht. Unser Untersuchungszeitraum betraf die Weideperiode im Jahre 1982 (25 Wochen). Weniger als 100 *I. ricinus* pro Tier in einem Jahr und ein Infektionsprozentsatz der Zecken durch *B. divergens* von 1,1% genügen, um die Anwesenheit von Antikörpern bei mindestens 90% der Tiere dieses Tals zu sichern.

Riassunto

La babesiosi a *B. divergens* è frequente nel Clos-du-Doubs (Jura, Svizzera). In una fattoria di questa regione, l'infestazione di 3 giovenche dalle zecche e l'infezione di questi ectoparassiti dalle babesie sono state osservate durante il periodo estivo del 1982 (25 settimane). Meno di cento *I. ricinus* per animale e per anno e un grado d'infezione da *B. divergens* di 1,1% delle zecche bastano per assicurare la presenza di anticorpi in almeno 90% dei bovini della regione.

Summary

Babesia divergens – babesiosis is common in the Clos-du-Doubs (Jura, Switzerland). In a farm of that region, the tick infestation of 3 heifers and tick infection with babesia have been observed during the entire grazing period of 1982 (25 weeks). Less than 100 *Ixodes ricinus* on each animal during one year and 1,1% tick infection rate with *B. divergens* seem to be sufficient to maintain the presence of antibodies in at least 90% of the bovines of Le Clos-du-Doubs.

Bibliographie

Aeschlimann A.: *Ixodes ricinus*, Linné, 1758 (Ixodoidea: Ixodidae). Essai préliminaire de synthèse sur la biologie de cette espèce en Suisse. Acta trop. 29, 321–340 (1972). – Burgdorfer W.: Hemolymph test. A technique for detection of Rickettsia in ticks. Am. J. Trop. Med. Hyg. 19, 1010–1014 (1970). – Donnelly J. and Peirce M. A.: Experiments on the transmission of *Babesia divergens* to cattle by the tick *Ixodes ricinus*. Int. J. Parasit. 5, 363–367 (1975). – Friedhoff K. T. and Smith R. D.: Transmission of *Babesia* by ticks. In: Ristic M. and Kreier J. P. (editors), Babesiosis. Academic Press, New York, London, Toronto, Sydney, San Francisco, pp. 267–321 (1981). – Gern L.: Contribution à la connaissance de l'épidémiologie des babesioses de micromammifères et de bovins en Suisse. Thèse. Neuchâtel 145 pp (1985). – Gern L., Brossard M., Aeschlimann A., Broquet C. A., Quenet G., Stucki J.-P. et Ackermann J.: Piroplasmose bovine dans le Clos-du-Doubs (Jura, Suisse): observations préliminaires. Schweiz. Arch. Tierheilk. 124, 549–556 (1982). – Graf J.-F.: Copulation, nutrition et ponte

chez *Ixodes ricinus* L. Mitt. Schweiz. Entomol. Ges. 51, 343–360 (1978). – Graf J.-F., Mermod C. et Aeschlimann A.: Ecologie et éthologie d'*Ixodes ricinus* L. en Suisse (Ixodoidea, Ixodidae). Sixième note: les rythmes de détachement chez *Ixodes ricinus* et leurs implications écologiques. *Acarologia* 20, 327–337 (1978). – Joyner L. P., Davies S. F. M. and Kendall S. B.: The experimental transmission of *Babesia divergens* by *Ixodes ricinus*. *Exp. Parasitol.* 14, 367–373 (1963). – Riek R. F.: Babesiosis. In: Infectious blood diseases of man and animals. Ed Weinman D. and Ristic M. Vol 2. Academic press New York and London, pp 219–268 (1968). – Smith T. and Kilbourne F. L.: Investigations into the nature, causation, and prevention of Texas or Southern cattle fever. *Bull. Bur. Anim. Ind., U.S. Dept. Agric.* 1, 1–301 (1893).

Enregistrement du manuscrit: 21 mars 1986

BUCHBESPRECHUNGEN

Tierphysiologie, von R. Eckert und D. Randall. Georg Thieme Verlag Stuttgart, 1985. 697 Seiten, 728 meist zweifarbige Abbildungen, 47 Tabellen, DM 69.–.

Mit grossem Geschick hat R. Apfelbach das von R. Eckert und D. Randall erarbeitete Buch «Animal Physiology» ins Deutsche übersetzt. Es handelt sich um eine vergleichende Darstellung der Physiologie, nicht nur des Menschen oder der Haustiere, sondern aller Tiere, von den Protozoen bis zu den Vertebraten. Dabei werden die gemeinsamen Prinzipien und Mechanismen betont.

Den beiden ersten Kapiteln, als Einführung und Überblick über die notwendigsten physikalischen und chemischen Grundlagen gedacht, folgt ein Abschnitt, welcher der Zellenergetik und der Regulation des intrazellulären Milieus gewidmet ist. In den anschliessenden Kapiteln werden die erregbaren Membranen, Nervensignale, sensorische Mechanismen, die Funktionsweise des Nervensystems, die Prinzipien der Kontraktilität und Motilität und schliesslich die für die Homöostase und Versorgung des inneren Milieus verantwortlichen Systeme beschrieben.

Zahlreiche vorzügliche Abbildungen, Schemata und Darstellungen von Experimenten vermitteln dem Studierenden einen Einblick in die Methodik der Physiologie und tragen zum Verständnis der oft komplizierten Zusammenhänge bei.

Das neue Lehrbuch stellt eine zuverlässige Studienhilfe und informative Quelle für Biologie-, Medizin- und Veterinärmedizinstudenten dar, kann aber auch als Nachschlagewerk empfohlen werden, wobei das umfangreiche Sachverzeichnis wertvolle Dienste leistet. P. Tschudi, Bern

Mikromanipulation an Rinderembryonen und deren Anwendungsmöglichkeiten in der Tierzucht, von Gottfried Brem. Ferdinand Enke Verlag Stuttgart, 1986. 210 Seiten, 39 Abbildungen und 17 Tabellen. Enke-Copythek-Taschenbuch. DM 39.80.

Bei keiner landwirtschaftlichen Nutztierart werden so viele biotechnische Verfahren eingesetzt wie beim Rind. Die künstliche Besamung gehört bereits zur Routine und ist nicht mehr wegzudenken, und der Embryotransfer (ET) hat sich heute definitiv etabliert. Es erstaunt deshalb nicht, dass beim Rind bereits in einigen ET-Zentren die Embryo-Mikrochirurgie angewandt wird, um durch Teilung der Embryonen die Spenderkühe besser zu nutzen.

In diesem Buch werden nach einer Literaturübersicht die Methodik und Ergebnisse der Mikromanipulation bei Embryonen beschrieben. Im Kapitel über die Anwendungsmöglichkeiten dieses Verfahrens wird nicht nur der Einsatz von eineiigen Zwillingen, sondern auch die Produktion und Nutzung von Aggregationschimären behandelt. Abschliessend folgt eine Kostenanalyse dieser Reproduktionstechnik.

Die Erfolgsaussichten und Probleme dieser Embryo-Mikrochirurgie werden vom Autor ausführlich diskutiert. Das Hauptgewicht seiner Betrachtungen gilt vor allem zuchtstrategischen Massnahmen; Einsatzmöglichkeiten in der Forschung werden ebenfalls dargestellt.

Dieses Buch kann allen Tierärzten wie Ingenieur-Agronomen, die sich mit Reproduktionstechnik und Tierzucht befassen, sowie allen Studenten der Veterinärmedizin sehr empfohlen werden.

G. Gaillard, Bern

Etude séroépidémiologique de 2 foyers à babésie de micromammifères en Suisse

par L. Gern¹ et A. Aeschlimann²

Introduction

Les babésies sont des protozoaires parasites des globules rouges qui sont transmis aux mammifères par les tiques. Elles provoquent une maladie, la babésiose (ou piroplasmose) bien connue des vétérinaires car fréquente chez l'animal domestique. Cependant, *Babesia microti*, l'espèce étudiée dans ce travail, a ceci de particulier qu'on la rencontre seulement chez les micromammifères; sa distribution géographique couvre, semble-t-il, le monde entier.

En Suisse, la présence de *B. microti* a déjà été signalée chez 4 espèces de rongeurs: *Apodemus sylvaticus*, *A. flavicollis*, *Clethrionomys glareolus* et *Microtus agrestis* (Aeschlimann et al., 1975).

L'apparition aux USA, en 1968 et pour la première fois, de cas humains dus à *B. microti* (Scholtens et al., 1968) a ravivé l'intérêt des chercheurs pour ce parasite. En Europe, aucune observation certaine de cette maladie n'a jamais été signalée chez l'homme. D'autre part, l'épidémiologie des foyers naturels de cette babésie de micromammifères n'a été que peu étudiée sur ce continent (Young, 1970; Krampitz et Bäumlér, 1978; Wigger, 1979; Hussein, 1980; Healing, 1981).

Il devenait dès lors intéressant de compléter nos connaissances sur ce protozoaire en Suisse en étudiant son épidémiologie et ses vecteurs potentiels. En effet, le rôle du vecteur dans le cycle parasitaire est fondamental. C'est à lui qu'incombe la tâche de transmettre le parasite entre micromammifères et du micromammifère à l'homme.

En fait, deux espèces de tiques sont observées sur les rongeurs et les insectivores de notre pays: *Ixodes ricinus* (espèce triphasique et télotrope) et *I. trianguliceps* (espèce triphasique mais monotrope). Seul *I. ricinus* peut infester l'homme à tous les stades évolutifs (larves, nymphes, adultes). Il est donc susceptible de lui transmettre *B. microti*. Par contre, *I. trianguliceps* est strictement inféodé aux micromammifères, rongeurs et insectivores. Cette tique ne rencontre jamais l'homme.

Au laboratoire, la transmission du parasite a été réussie par les 2 espèces de tiques: *I. trianguliceps* en Angleterre (Young, 1970) et *I. ricinus* en Allemagne (Walter et Liebisch, 1980).

¹ Cet article fait partie de la thèse de l'auteur.

² Nous remercions le Fonds National Suisse de la Recherche Scientifique pour son appui financier.

Adresse: Institut de Zoologie, Chantemerle, CH-2000 Neuchâtel 7

Dans ce travail, nous avons étudié 2 populations de micromammifères en essayant de visualiser le protozoaire directement sur frottis sanguins, ou de déceler sa présence par sérologie. Puis nous avons également recherché les babésies dans les vecteurs potentiels. Enfin, l'infection expérimentale d'hôtes vertébrés sains par les tiques infectées a également été tentée, ainsi que l'infection de tiques saines à partir de vertébrés infectés.

Matériel et méthode

Les recherches ont été entreprises de 1980 à 1982 dans 2 localités différentes: au Staatswald (450 m), sur le Plateau suisse et près de Thoune (600 m), au pied des Préalpes (Fig. 1). Ces régions sont favorablement situées dans l'aire de distribution d'*I. ricinus* en Suisse (Aeschlimann, 1972). Les micromammifères ont été capturés au moyen de pièges de type Sherman, permettant de les garder vivants. Chaque terrain a été quadrillé, trois nuits par mois, de 100 pièges placés en grille, à une distance de 5 m chacun. L'espèce, le sexe et le poids des micromammifères ont été déterminés. Chaque individu a, d'autre part, subi un déparasitage complet et chaque tique a été déterminée. Nous avons utilisé le sang périphérique pour la confection des frottis qui ont été colorés au Giemsa (tampon Scerensen à pH 7,2). C'est dans le sinus rétroorbital que le sang a été prélevé pour la préparation du sérum et pour le passage intrapéritonéal à un animal sain, dans le but de déceler d'éventuelles infections latentes. Puis, les animaux ont été relâchés à l'endroit de leur capture.

Pour maintenir les souches en laboratoire, nous avons utilisé tantôt des hamsters dorés (*Cricetus auratus*), splénectomisés ou non, tantôt des hamsters chinois (*Cricetulus griseus*) non splénectomisés. Ces derniers ont surtout servi à l'isolation des souches vu leur grande réceptivité à *B. microti*.

Les anticorps anti-*B. microti* ont été recherchés par le test de fixation du complément avec mise en évidence par immunofluorescence (Péridé et al., 1976). Quant à l'antigène, nous l'avons préparé selon la méthode décrite ailleurs (Gern, 1985). Nous avons recherché les babésies dans l'hémolymphe et dans les organes des tiques colorés au Giemsa (pH 7,2).



Figure 1: Localisation des 2 terrains de piégeage
1. Staatswald, 2. Thoune

Nous avons également tenté de révéler la présence du parasite dans les vecteurs en injectant des broyats de tiques à des animaux susceptibles, soit des hamsters chinois. Cette recherche a été complétée par des essais de transmission naturelle par piqûres avec des larves et des nymphes d'*I. ricinus*.

Résultats

Micromammifères capturés

A Thoune, 364 micromammifères ont été capturés durant les années 1980 à 1982. Ils appartenaient aux espèces *A. flavicollis*, *A. sylvaticus*, *C. glareolus*, *M. agrestis*, *Sorex araneus* et *Neomys anomalus* (Tableau 1).

Tableau 1: Captures réalisées à Thoune

Mois/année	A. f.	A. s.	C. g.	M. a.	S. a.	N. a.	Total
4. 1980	5	7	5	—	3	—	20
5. 1980	8	7	1	1	1	—	18
6. 1980	3	2	—	—	—	—	5
7. 1980	11	—	7	1	11	—	30
8. 1980	9	6	11	3	16	—	45
9. 1980	10	10	15	10	8	—	53
10. 1980	4	8	5	3	2	—	22
11. 1980	—	1	3	3	—	—	7
12. 1980	—	—	—	—	—	—	—
1. 1981	1	3	—	—	—	—	4
2. 1981	1	2	1	1	—	—	5
3. 1981	3	6	—	3	—	—	12
4. 1981	—	2	—	2	—	—	4
5. 1981	1	4	—	2	—	—	7
6. 1981	—	14	2	3	1	—	20
7. 1981	2	4	2	3	6	—	17
8. 1981	1	4	5	3	1	—	14
9. 1981	—	3	4	2	1	—	10
10. 1981	—	5	4	3	—	—	12
11. 1981	—	4	—	2	2	—	8
12. 1981	—	—	—	—	—	—	—
1. 1982	—	1	—	—	—	—	1
2. 1982	—	2	—	1	—	—	3
3. 1982	—	4	—	1	—	—	5
4. 1982	—	2	2	—	—	—	4
5. 1982	—	4	—	1	—	—	5
6. 1982	—	2	2	—	—	—	4
7. 1982	—	4	—	1	1	1	7
8. 1982	—	5	4	2	—	—	11
9. 1982	—	8	2	1	—	—	11
total	59	122	75	52	53	1	364
%age	16,2	33,5	20,6	14,2	14,5	0,2	

Abréviations:

A. f.: *Apodemus flavicollis*

C. g.: *Clethrionomys glareolus*

S. a.: *Sorex araneus*

A. s.: *Apodemus sylvaticus*

M. a.: *Microtus agrestis*

N. a.: *Neomys anomalus*

Au Staatswald, en 1982, le nombre de micromammifères piégés s'élevait à 617 (Tableau 2). Hormis *N. anomalus*, il s'agissait des mêmes espèces qu'à Thoune.

Dans ces 2 foyers, c'est *A. sylvaticus* qui est l'espèce dominante, puis suivent *A. flavicollis* et *C. glareolus*, enfin *M. agrestis*, *S. araneus* et *N. anomalus*. Cette dernière espèce n'a été capturée qu'une fois et comme elle ne portait pas de tique, nous n'en tiendrons plus compte dans la suite du travail.

Tableau 2: Captures de micromammifères au Staatswald en 1982

Mois	A.s.	A.f.	C.g.	M.a.	S.a.	Total
D	31	6	9	—	—	46
J	29	9	11	—	—	49
F	20	3	3	—	—	26
M	41	12	7	—	2	62
A	5	4	2	—	1	12
M	19	11	6	—	2	38
J	8	6	8	—	1	23
A	11	11	4	3	—	29
S	43	31	9	9	—	92
O	18	29	23	24	1	95
N	60	34	33	16	2	145
total	285	156	115	52	9	617
%age	46	25	18	8	1,5	

Abréviations: voir tableau 1

Infestation par les tiques

Sur les terrains étudiés, les micromammifères sont infestés par les 2 espèces de tiques: *I. ricinus* et *I. trianguliceps*.

A Thoune, 421 *I. ricinus* infestaient 106 des 354 individus capturés (Tableau 3). Ainsi, 29,9% des animaux étaient parasités par cette tique lors de leur capture. *I. trianguliceps*, quant à elle, infestait 15,5% des individus puisque 140 tiques ont été prélevées sur 55 des 354 micromammifères.

Ainsi, à Thoune, le nombre moyen de tiques par hôte est de 4 pour *I. ricinus* et 2,5 pour *I. trianguliceps*.

Au Staatswald, 2829 *I. ricinus* infestaient 100 des 617 animaux capturés (Tableau 3). Ainsi, 16,2% des micromammifères capturés sont infestés par *I. ricinus* dans ce foyer

Tableau 3: Infestation des hôtes par les tiques

Nombre de tiques	Nb d'hôtes infestés	% age d'hôtes infestés	nombre moyen de tiques/hôte	
<i>I. ricinus</i>	421	106/354	29,9	4
<i>I. trianguliceps</i>	140	55/354	15,5	2,5
<i>I. ricinus</i>	2829	100/617	16,2	28,29
<i>I. trianguliceps</i>	3	3/617	0,4	1

et le nombre moyen de tiques par hôte est de 28,29. *I. trianguliceps* est fort peu représenté dans la forêt «Staatswald» puisque seuls 3 individus de cette espèce ont pu être prélevés sur 3 des 617 hôtes piégés.

Dans les 2 foyers, ce sont les *Apodemus* qui sont les plus touchés par *I. ricinus* et *I. trianguliceps*, suivis par *C. glareolus*, puis *M. agrestis* et *S. araneus* (Tableau 4).

Tableau 4: Pourcentage de tiques infestant les différentes espèces de micromammifères

Hôtes	Thoune <i>I. ricinus</i>	Staatswald	Thoune <i>I. trianguliceps</i>	Staatswald
A. s.	42,5	50,7	25,7	33,3
A. f.	32,7	29,4	34,3	66,6
C. g.	17,8	13,9	27,6	
M. a.	1,5	5,6	0,9	
S. a.	2	0,4	0,9	

Abréviations: voir tableau 1

Infection de micromammifères par B. microti

A Thoune, parmi les espèces piégées de 1980 à 1982, seuls *M. agrestis* et *S. araneus* se sont révélés parasités par la babésie (Tableau 5). Le degré d'infection varie d'un individu à l'autre, mais il est généralement faible. L'animal le plus atteint, une musaraigne, présentait un degré de parasitémie de 10% (Tableau 5).

Tableau 5: Données concernant les animaux parasités capturés à Thoune

Espèce	Sexe	Poids	Date de capture	Parasitémie*
M. a.	♂	32	9. 1980	0,05
M. a.	♀	35	5. 1981	0,05
M. a.	♂	33	5. 1982	0,05
M. a.	♀	29	9. 1980	0,05
M. a.	♂	25	9. 1980	0,05
M. a.	♀	15	3. 1981	0,1
S. a.	♀	8	5. 1980	0,06
S. a.	♀	7	7. 1980	10
S. a.	♀	8	9. 1980	0,05

* Parasitémie exprimée en pourcentage d'érythrocytes parasités

Abréviations: voir tableau 1

Les infections latentes dues aux babésies sont bien connues chez les bovins. C'est la raison pour laquelle nous avons également cherché à les mettre en évidence chez les micromammifères. Nous avons donc injecté le sang de 85 individus à des hamsters sains, sans qu'aucune infection ne se soit manifestée chez ces hôtes (Tableau 6).

Au Staatswald, seul *M. agrestis* présente une infection naturelle à *B. microti* (Tableau 7). Cette espèce n'a d'ailleurs été capturée qu'à partir du mois d'août et toujours de manière très localisée, soit dans une clairière. Cinquante-deux *Microtus* sont entrés dans nos pièges. Quarante-deux ont été examinés et 20 présentaient la babésie. L'infection sanguine était généralement faible, le degré de la parasitémie le plus élevé atteignant seulement 3,7% des érythrocytes.

A Thounne comme au Staatswald, ce sont avant tout les individus les plus âgés et de sexe ♀ qui sont parasités (Tableaux 5 et 7).

Tableau 6: Recherche d'infections latentes par injection de sang de micromammifères à des hamsters

Espèce	Nb d'individus	Parasitémie chez le hamster
A. s.	31	—
A. f.	19	—
C. g.	9	—
M. a.	18	—
S. a.	8	—
Total	85	**

** la parasitémie chez le hamster a été contrôlée pendant 15 jours après l'injection
Abréviations: voir tableau 1

Tableau 7: Données concernant les *Microtus agrestis* capturés au Staatswald

Espèce	Sexe	Poids	Date de capture	Parasitémie*
M. a.	♂	24	8. 1982	r
M. a.	♀	32	9. 1982	r
M. a.	♀	21	9. 1982	3,3
M. a.	♂	22	9. 1982	r
M. a.	♀	22	10. 1982	r
M. a.	♀	34	10. 1982	3
M. a.	♀	24	10. 1982	r
M. a.	♂	24	10. 1982	r
M. a.	♀	26	10. 1982	r
M. a.	♀	24	10. 1982	r
M. a.	♀	20	10. 1982	r
M. a.	♀	23	10. 1982	r
M. a.	♀	24	10. 1982	r
M. a.	♀	15	10. 1982	3,7
M. a.	♂	19	10. 1982	r
M. a.	♂	40	10. 1982	r
M. a.	♂	25	11. 1982	r
M. a.	♂	20	11. 1982	r
M. a.	♂	24	11. 1982	r
M. a.	♀	22	11. 1982	l

* Parasitémie exprimée en pourcentage d'érythrocytes parasités

Abréviations: voir tableau 1

r: parasitémie inférieure à 0,05%

Présence et évolution des anticorps anti-B. microti chez les différentes espèces d'hôtes

A Thoune, nous avons recherché des anticorps chez 226 rongeurs en testant leur sérum sur l'antigène homologue de Thoune (Tableau 8). Seuls 6 animaux ont présenté des

Tableau 8: Présence d'anticorps anti-*B. microti* chez les micromammifères de Thoune

Espèce	Nb d'individus positifs	Titres	Parasitémie*
A.s.	0/94		
A.f.	0/39		
C.g.	1/50	1/40	0
S.a.	0/7		
M.a.	5/30	1/640	0,05
		1/640	0,1
		1/5120	0,05
		1/5120	0,05
		1/40	0

* Parasitémie exprimée en pourcentage d'érythrocytes parasités

Abréviations: voir tableau 1

Tableau 9: Titres réciproques des anticorps spécifiques anti-*B. microti* chez les différentes espèces de rongeurs

Hôte	Parasitémie	AG homologue Staatswald (titre d'AC)	AG hétérologue Thoune (titre d'AC)
1. A.s.	—	320	320
2. A.f.	—	640	640
3. C.g.	—	1280	1280
4. C.g.	—	160	320
5. M.a.	—	320	320
6. M.a.	+	640	320
7. M.a.	+	160	160
8. M.a.	+	40	80
9. M.a.	+	160	80
10. M.a.	+	160	320
11. M.a.	+	640	160
12. M.a.	+	40	—
13. M.a.	+	160	160
14. M.a.	+	160	320
15. M.a.	+	160	160
16. M.a.	+	1280	1280
17. M.a.	+	40	40
18. M.a.	+	320	320
19. M.a.	+	1280	640
20. M.a.	+	80	80
21. M.a.	+	80	80
22. M.a.	+	320	320
23. M.a.	+	80	80

AG: antigène

AC: anticorps

Abréviations: voir tableau 1

anticorps: 5 *M. agrestis* et 1 *C. glareolus*. Tous étaient infectés lors de leur capture (diagnostic sur frottis) à l'exception de 2 individus qui présentaient des titres d'anticorps faibles, à la limite du seuil de spécificité (1/40; Tableau 8).

Au Staatswald, 547 sérums ont été testés sur l'antigène homologue du Staatswald. Vingt-trois se sont révélés positifs (Tableau 9). Seuls 2 *Apodemus* et 2 *Clethrionomys* ont réagi positivement. C'est donc chez les *Microtus* que les anticorps ont été retrouvés en plus grand nombre puisque 19 sur 35 ont réagi positivement en immunofluorescence. Dans la grande majorité des cas, les anticorps sont associés à la présence du parasite dans le sang.

Recherche de *B. microti* dans les tiques libres et fixées

A Thoune uniquement, les tiques libres ont été récoltées à proximité immédiate du terrain de piégeage, à l'aide de la méthode du drapeau (Aeschlimann, 1972). L'observation de l'hémolymphe et des organes de 117 femelles, 10 mâles et 13 nymphes d'*I. ricinus*, ainsi récoltées s'est dans tous les cas révélée négative.

Les tiques fixées sur les hôtes ont subi le même traitement. Nous avons examiné 389 larves et 32 nymphes d'*I. ricinus* ainsi que 72 larves, 54 nymphes, et 13 femelles d'*I. trianguliceps* (Tableau 10). *B. microti* n'a été détectée que dans une nymphe d'*I. trianguliceps* se gorgeant sur une musaraigne capturée à Thoune.

Au Staatswald, 275 *I. ricinus* et 3 *I. trianguliceps* capturés sur hôte ont été examinés de la même manière mais sans résultat. Suite à cet échec, nous avons tenté d'isoler la babésie à partir de broyats de tiques injectés à des hôtes réceptifs.

Quatre cent trente-six *I. ricinus* prélevés sur les rongeurs ont été répartis en 7 lots et injectés à 7 hamsters chinois. Toutes ces tentatives se sont soldées par un échec. Des tiques se gorgeant sur des *Microtus* infectés ont subi le même traitement sans que l'on puisse isoler de babésie (Tableau 11).

Tableau 10: Recherche de *B. microti* dans les tiques fixées sur les micromammifères

<i>I. ricinus</i>		<i>I. trianguliceps</i>		
LL	NN	LL	NN	♀ ♀
389	32	72	54*	13

* Présence de *B. microti* dans une N d'*I. trianguliceps*. Les autres tiques étaient négatives. LL: larves, NN: nymphes

Tableau 11: Essais d'isolation de *B. microti* par injection de broyats de tiques fixées sur *M. agrestis* (larves)

Lot no	Parasitémie*	Nb de tiques	Contrôle Frottis	Sérologie
1	3/3/r/r/r/r/	44	-	-
2	-/-/-/-	46	-	-

-: absence de parasites ou d'anticorps

r: parasitémie inférieure à 0,05%

*: parasitémie exprimée en pourcentage d'érythrocytes parasités

En laboratoire, nous avons également tenté d'infecter des larves d'*I. ricinus* avec *B. microti*. Ainsi, des larves d'élevage, exemptes d'infection, ont été nourries sur des hamsters chinois présentant une parasitémie due à *B. microti* s'élevant à 10%. Six heures après la fixation, 20 tiques ont été prélevées. Les organes de 10 individus ont été observés après coloration au Giemsa et 10 autres ont été injectés à des hamsters sains après broyage. Cette opération a été renouvelée 3 fois à 12 heures d'intervalle, puis toutes les 24 heures pendant 24 jours.

Les babésies sont restées visibles dans les intestins de la tique 5 jours après le début du repas sanguin. Par la suite, elles n'ont plus pu être observées dans le tube digestif et n'ont pas été non plus retrouvées dans les autres organes (glandes salivaires, ovaies, etc.). Les hamsters n'ont pas développé d'infection ni d'anticorps spécifiques durant les 20 jours consécutifs à l'injection de broyats de larves nourries sur animaux infectés.

Relations antigéniques entre les babésies du Staatswald et de Thoune

Nous avons comparé, du point de vue antigénique, les babésies du Staatswald et de Thoune, en testant 111 sérums du Staatswald sur l'antigène hétérologue de Thoune (Tableau 12). Tous les sérums négatifs testés sur l'antigène homologue sont restés négatifs sur l'antigène hétérologue. En ce qui concerne les sérums positifs, aucune différence de titre n'a pu être décelée en utilisant l'un ou l'autre antigène (Tableau 9). Seul 1 individu a développé un titre d'anticorps différent de 2 dilutions entre l'antigène homologue et l'antigène hétérologue.

Tableau 12: Nombre de sérums testés par espèces sur l'antigène hétérologue de Thoune

Espèces	Nombre de sérums testés
A. s.	69
A. f.	15
C. g.	4
M. a.	23
Total	111

Légende: voir tableau 1

*Evolution en laboratoire de la parasitémie et des anticorps chez *M. agrestis**

Nous avons pu maintenir en laboratoire 5 *M. agrestis* parasités, capturés au Staatswald. La parasitémie et le titre d'anticorps ont été contrôlés régulièrement. L'expérience s'est déroulée durant 3 à 14 semaines selon les individus et s'est toujours terminée par le décès de l'animal. Il nous a ainsi été permis d'observer une infection ayant duré plus de 3 mois. Au cours de cette expérience, chez tous les individus, la présence des anticorps est toujours restée associée à celle du parasite dans le sang périphérique.

Discussion

Notre travail nous a permis d'observer 2 situations épidémiologiques particulières dans chacun des 2 foyers étudiés. La différence se situe, d'une part, au niveau des micromammifères atteints par *B. microti*, d'autre part, au niveau de la distribution des 2 espèces de vecteurs, *I. ricinus* et *I. trianguliceps*.

A Thoune, la récolte d'animaux parasités a eu lieu sur l'ensemble du territoire étudié. *C. glareolus* (Girod et al., 1978), *M. agrestis* et *S. araneus* sont atteints par le protozoaire. Ce manque de spécificité du parasite pour son hôte se rapproche de ce qui est signalé dans l'ensemble de l'Europe (Shortt et Blackie, 1965; Young, 1970; Mahnert, 1972; Šebek et al., 1977; Wiger, 1978, 1979; Frank, 1978).

Au Staatswald, la situation est autre. Les animaux infectés appartiennent exclusivement à l'espèce *M. agrestis*. Cette limitation de la babésie à une seule espèce d'hôte a également été constatée en Allemagne aussi bien dans le nord que dans le sud du pays (Walter et Liebisch, 1980; Krampitz et Bäumler, 1978; Krampitz, 1979; Henkel, 1982; Henkel et al., 1983). Tous les *Microtus* capturés au Staatswald proviennent d'un seul endroit, une clairière en bordure de forêt. Le foyer semble donc, contrairement à Thoune, fort localisé non seulement dans son étendue géographique mais encore dans le spectre des hôtes infectés.

Tant à Thoune qu'au Staatswald, les tiques infestant les micromammifères sont représentées par 2 espèces à biologie différente: *I. ricinus* (triphase, télotrope, exophile) dont on ne rencontre les stades immatures, à l'exclusion des adultes, que sur les micromammifères (et les oiseaux) et *I. trianguliceps* (triphase, monotrope, endophile) qui est une tique strictement inféodée aux micromammifères pour ses 3 stades évolutifs.

Les proportions des 2 vecteurs potentiels varient également en fonction du foyer étudié. Au Staatswald, *I. trianguliceps* n'est observé qu'exceptionnellement et *B. microti* n'a pas pu y être décelé. A Thoune, au contraire, *I. trianguliceps* est relativement abondant, représentant près de 30% des tiques récoltées.

Apparemment, les 2 espèces de tiques sont susceptibles de transmettre le parasite. Les nymphes d'*I. ricinus* seraient les vecteurs de cette babésie en Allemagne (Walter et Liebisch, 1980) alors qu'*I. trianguliceps* la transmettrait en Angleterre (Young, 1970). En recherchant ce protozoaire dans les tiques des foyers étudiés, nous avons pour but de découvrir *B. microti* dans son vecteur. Toutes les recherches entreprises en laboratoire, dans l'intention d'observer ou d'isoler le parasite à partir d'*I. ricinus*, sont restées vaines. Par contre, une nymphe d'*I. trianguliceps*, prélevée sur *S. araneus* à Thoune, présentait une infection par *B. microti*. Cette tique serait donc le vecteur de cette babésie en Suisse, malgré la minceur de nos résultats. *I. ricinus* ne semble pas transmettre *B. microti* dans ce pays.

Dans les régions considérées, le nombre d'individus parasités par *B. microti* est relativement faible: en détectant les anticorps, nous avons confirmé la faible densité du parasite, un fait également observé lors de l'examen des frottis sanguins.

La présence massive d'anticorps au sein des populations de rongeurs aurait pu représenter un des facteurs régissant, en la minimisant, la circulation du protozoaire dans

les populations d'hôtes susceptibles. Cela a été constaté dans les troupeaux de bovins (Callow, 1977): après quelques années, on observe dans les troupeaux soumis fréquemment à la piqûre des tiques infectées une situation stable où les cas de piroplasmose restent faibles, la grande majorité des bovins présentant des anticorps spécifiques dans leur sang. Il apparaît que ce phénomène n'existe pas dans le modèle étudié «micromammifères-tiques-*B. microti*».

La différence de spécificité de la babésie pour ses hôtes dans les 2 foyers laissait supposer la présence d'une différence antigénique entre les 2 souches isolées. Les tests sérologiques effectués ont démontré que ce n'était pas le cas. Ainsi, les différences constatées entre les foyers de Thoun et du Staatswald sont d'ordre purement épidémiologiques. Elles sont liées à la fréquence et à la distribution des hôtes sensibles ainsi qu'à la proportion des tiques vectrices.

Dans les 2 régions, le parasite, quoique faiblement représenté, reste cependant présent au cours des années. Certains facteurs doivent maîtriser l'expansion de la babésie au sein même des foyers tout en permettant son maintien.

Rappelons en premier lieu que le développement du parasite se produit de manière préférentielle chez certaines espèces d'hôtes où il trouve un terrain favorable à sa multiplication. Dans les foyers étudiés, il s'agit de *M. agrestis* et *S. araneus*. Mais ces 2 espèces présentent une modeste densité de population. Les chances de rencontre entre le parasite et son hôte sont donc d'emblée déjà faibles.

D'autre part, la majorité des individus infectés sont des animaux ayant déjà vécu un hiver. Leur durée de vie étant très courte (18 à 24 mois au maximum), ces vieux individus sont amenés à disparaître plus ou moins rapidement et, d'habitude, ils ne passeront pas un second hiver. Il convient alors de penser que l'hôte ayant disparu, le parasite, pour survivre dans un foyer, doit être hébergé, durant un hiver au moins, par les tiques elles-mêmes. Il devient dès lors primordial, pour le maintien du protozoaire, que les hôtes parasités se fassent piquer par une tique vectrice avant l'hiver et au moment où les babésies circulent dans le sang. C'est certainement là le facteur déterminant qui contrôle l'extension du protozoaire et qui maintient l'incidence de la babésie à un faible niveau.

N'oublions pas, d'autre part, que la population d'*I. trianguliceps* reste modeste et que les tiques de cette espèce et les hôtes sensibles sont rares en zones sauvages. Les chances de transmission de la babésie sont donc faibles. Le fait que seule la nymphe d'*I. trianguliceps* puisse transmettre *B. microti* ne favorise pas non plus la circulation du protozoaire d'un hôte à l'autre (Young, 1970).

Ainsi, à la suite de ce qui vient d'être mentionné, il convient de souligner que les facteurs limitants sont abondants. En fait, le maintien de *B. microti* dans les foyers n'est à notre avis possible que grâce à la longue durée de l'infection chez l'hôte-vertébré qui peut, nous l'avons prouvé en laboratoire, persister durant plusieurs mois.

On ne saurait conclure sans poser l'importante question du risque qu'encourt l'homme d'entrer en contact avec *B. microti* en Suisse. Rappelons tout d'abord que tous les cas humains de piroplasmose due à ce parasite ont été enregistrés aux USA uniquement où *I. dammini* serait le vecteur (Spielman, 1976; Spielman et al., 1979). *I. dammini*, absent d'Europe, est certes un proche parent d'*I. ricinus*, la tique la plus répandue sous

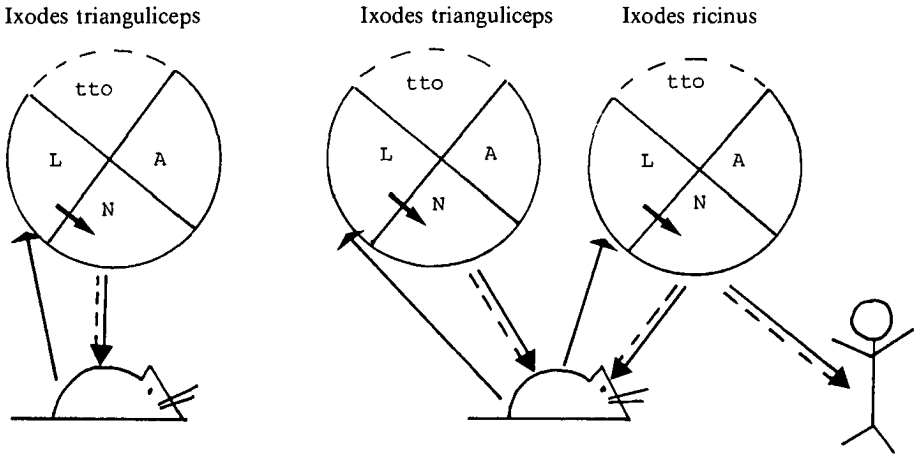


Figure 2: Modèle (encore hypothétique) de transmission de *B. microti* par 2 espèces de tiques, *I. trianguliceps* et *I. ricinus*. Le schéma de gauche montre un cycle à *B. microti* purement «sauvage», fonctionnant en circuit fermé, où les seuls protagonistes sont la tique monospécifique *I. trianguliceps* et les micromammifères, ses hôtes habituels pour les 3 stades évolutifs. Ce cycle peut se répéter sur plusieurs générations de tiques et de micromammifères dans un même biotope, créant ainsi un «foyer naturel» à *B. microti*. Précisons encore que le passage transstadial nymphe-adulte, ainsi que la transmission transovarienne n'ont jamais été prouvés expérimentalement. Le cycle se suffit à lui-même par le seul jeu des relations trophiques entre larves-micromammifères-nymphe. Le schéma de droite marque l'intervention d'une tique non spécifique, à large spectre d'hôtes (*I. ricinus*) dans le cycle «sauvage» à *I. trianguliceps*, avec la possibilité pour *I. ricinus* d'infecter l'homme à l'état nymphal. En ce qui concerne cette dernière espèce, la transmission transstadiale nymphe-adulte et la transmission transovarienne n'ont pas été démontrées. Ici aussi, le seul vecteur pour l'homme (et d'autres vertébrés) est la nymphe. L'homme entre par hasard dans le cycle à *I. trianguliceps* via la tique *I. ricinus*.

Légende: L: larve, N: nymphe, A: adulte, tto: transmission transovarienne (non prouvée expérimentalement)

- > infection de la larve
- - - - -> transmission à l'hôte via la nymphe
- > transmission transstadiale prouvée

nos climats. Les 2 espèces infestent aussi bien l'homme que les micromammifères, ou d'autres vertébrés encore. En Suisse cependant, la babésie n'a été retrouvée que dans *I. trianguliceps*, une tique qui n'infecte jamais l'homme: celui-ci est par conséquent à l'abri du protozoaire. Ceci explique l'absence de cas humains de piroplasmose en Suisse. Le fait qu'*I. ricinus* puisse apparemment être le vecteur de *B. microti* en Allemagne (Walter et Liebisch, 1980) laisse supposer qu'une circulation du parasite entre «micromammifères-tiques-hommes», du type de celle de la Fig. 2, puisse se réaliser et alors présenter un réel danger pour l'homme dans notre pays.

Résumé

Une étude séroépidémiologique a été entreprise dans 2 régions de Suisse: le Staatswald (près d'Anet) et Thoune. *Babesia microti* ainsi que les anticorps contre ce protozoaire ont été recherchés dans les micromammifères. Nous avons également cherché à mettre en évidence ce parasite dans les tiques (*Ixodes ricinus* et *I. trianguliceps*) se gorgeant sur ces animaux. *B. microti* a pu être observé dans une nymphe d'*I. trianguliceps* et jamais dans *I. ricinus*. Des essais de transmission, en laboratoire, de *B. microti* par *I. ricinus* sont restés sans succès. *I. trianguliceps* semble donc être le vecteur de cette babésie en Suisse.

Zusammenfassung

In zwei Gegenden der Schweiz (Staatswald Ins, Thun) wurde das Vorkommen von *Babesia microti*-Parasiten und *B. microti*-Antikörpern in Kleinsäugetern untersucht. Gleichzeitig wurden die auf den Nagetieren vorhandenen Zecken auf Befehl mit *B. microti* überprüft. Nur parasitämische Nagetiere hatten Antikörper. Eine Infektion mit *B. microti* konnte lediglich in einer Nymphe von *I. trianguliceps* gefunden werden, nie aber in *I. ricinus*. Experimentell war es auch nicht möglich, *I. ricinus* mit *B. microti* zu infizieren. *I. trianguliceps* ist somit als Überträger von *B. microti* in der Schweiz nachgewiesen.

Riassunto

Uno studio sieroepidemiologico su *B. microti* è stato intrapreso in due siti della pianura svizzera: lo Staatswald presso Ins, e Thun. I sieri dei rodenti sono stati esaminati col test di fissazione del complemento. Il mettere in evidenza è stato realizzato con l'esame della fluorescenza. Soltanto gli animali infettati dal parassita presentavano anticorpi nel loro sangue. *B. microti* è stata osservata in una ninfa d'*I. trianguliceps*, ma mai in *I. ricinus*. *I. trianguliceps* sembra dunque essere il vettore di questa babesia in Svizzera.

Summary

In two foci of Switzerland (Staatswald Ins, Thun) small mammals were examined for *B. microti* and *B. microti* antibodies. At the same time, the ticks feeding on these animals (*I. ricinus* and *I. trianguliceps*) were examined for *B. microti* infection. Only those animals with *Babesia* infection had antibodies. *B. microti* was present in a nymph of *I. trianguliceps* but not in *I. ricinus*. It was also impossible to infect experimentally *I. ricinus* with *B. microti*. Thus, *I. trianguliceps* should be considered as the vector of *B. microti* in Switzerland.

Bibliographie

- Aeschlimann A.: *Ixodes ricinus*, Linné, 1758 (Ixodoidea: Ixodidae). Essai préliminaire de synthèse sur la biologie de cette espèce en Suisse. Acta trop. 29: 321–340 (1972). – Aeschlimann A., Brossard M. et Quenet G.: Contribution à la connaissance des piroplasmes de Suisse. Acta trop. 32: 281–289 (1975). – Callow L. L.: Vaccination against bovine babesiosis. Adv. Exp. Med. Biol. 93: 121–149 (1977). – Frank C.: Kleinsäugerprotozoen in Neusiedlerseegebiet. Angew. Paras. 19: 137–154 (1978). – Gern L.: Contribution à la connaissance de l'épidémiologie des babésioses de micromammifères et de bovins en Suisse. Thèse. Université de Neuchâtel (1985). – Girod E., Girod J.-P. et Matile H.: Etude sur les parasites de micromammifères de Suisse. Travail de licence. Université de Neuchâtel (1978). – Healing T. D.: Infections with blood parasites in the small British rodents: *Apodemus sylvaticus*, *Clethrionomys glareolus* and *Microtus agrestis*. Parasitology 83: 179–189 (1981). – Henkel G.: Die Bedeutung von Kleinsäugetern als Reservoir für *Babesia divergens* und *Babesia microti* in der Umgebung von Bad Tölz. Dissertation. Universität München (1982). – Henkel G., Centurier C. und Weiland G.: Isolierung einer Nagerbabesie in Süddeutschland und deren Charakterisierung. Berlin. München. Tierärztl. Wschr. 96: 242–244 (1983). – Hussein S. H.: *Ixodes trianguliceps*: seasonal abundance and

role in the epidemiology of *Babesia microti* infection in northwestern England. Ann. Trop. Med. Parasitol. 74: 531–539 (1980). – Krampitz H. E.: *Babesia microti*: Morphology, distribution and host relationship in Germany. Zbl. Bakt. Hyg. 1. Abt. Orig. A. 244: 411–415 (1979). – Krampitz H. E. und Bäumler W.: Vorkommen, Saisondynamik und Wirtskreis von *Babesia microti* (Franca, 1912) in einheimischen Nagetieren. Z. Parasitenkd. 58: 15–33 (1978). – Mahnert V.: *Grahamella* und Sporozoa als Blutparasiten alpiner Kleinsäuger. Acta trop. 29: 88–100 (1972). – Périé N. M., Tinnemans-Anggawidjaja T. et Zwart D.: Raffinement de la méthode de fixation du complément en immunofluorescence pour les infections à *Trypanosoma* chez les animaux. Tropenmed. Paras. 25: 399–404 (1976). – Scholtens R. G., Braff E. H., Healy G. R. and Gleason N.: A case of babesiosis in man in the United States. Amer. J. Trop. Med. Hyg. 17: 810–813 (1968). – Šebek Z., Rosický B. and Sixl W.: The occurrence of babesiosis affecting small terrestrial mammals and the importance of this zoonosis in Europe. Fol. Paras. 24: 211–220 (1977). – Shortt H. E. and Blackie E. J.: An account of the genus *Babesia* as found in certain small mammals in Britain. J. Trop. Med. Hyg. 68: 37–42 (1965). – Spielman A.: Human babesiosis on Nantucket Island: transmission by nymphal Ixodes ticks. Amer. J. Trop. Med. Hyg. 25: 784–787 (1976). – Spielman A., Clifford C. M., Piesman J. and Corwin M. D.: Human babesiosis on Nantucket Island, USA: description of the vector, *Ixodes (Ixodes) dammini*, n. sp. (Acarina: Ixodidae). J. Med. Entom. 15: 218–234 (1979). – Walter G. und Liebisch A.: Untersuchungen zur Ökologie einiger Blutprotozoen bei wildlebenden Kleinsäugetern in Norddeutschland. Acta trop. 37: 31–40 (1980). – Wiger R.: Fatal experimental *Babesia microti* infections in the Norwegian Lemming, *Lemmus lemmus* (L.). Fol. paras. 25: 103–108 (1978). – Wiger R.: Seasonal and annual variations in the prevalence of blood parasites in cyclic species of small rodents in Norway with special reference to *Clethrionomys glareolus*. Holarctic Ecol. 2: 169–175 (1979). – Young A. S.: Studies on the blood parasites of small mammals with special reference to piroplasms. Thesis. University of London (1970).

Enregistrement du manuscrit: 21 août 1986

Annual Evolution of Cattle Immunity Against *Babesia divergens* in Northern Switzerland

L. GERN, A. KINDLER and M. BROSSARD

Institut de Zoologie, Chantemerle 22, CH-2000 Neuchâtel (Switzerland)

(Accepted for publication 30 November 1987)

ABSTRACT

Gern, L., Kindler, A. and Brossard, M., 1988. Annual evolution of cattle immunity against *Babesia divergens* in northern Switzerland. *Prev. Vet. Med.*, 6: 9-16.

A seroepidemiological survey of *Babesia divergens* babesiosis was conducted on 9 farms in a focus of northern Switzerland (Clos-du-Doubs, Jura). During 1981, a total of > 300 cattle were examined for *B. divergens* antibodies with an indirect immunofluorescence test. Annual evolution of immunity was estimated 3 times during the year (April, July and December). Cattle were progressively sensitized against *B. divergens* during the grazing period. Considering all cattle, 33.9% possessed anti-*B. divergens* antibodies in spring, before the grazing period. This percentage increased in the summer (59.1%), reaching 90.6% in December.

In the studied area, the most important calving period occurs in autumn and young calves do not leave the farm before they are 2 months old. Calves generally lacked maternal antibodies when they were moved to pastures for the first time. Although infested with *B. divergens*-infected ticks, they never presented acute symptoms of babesiosis. They appeared to be naturally resistant to the disease. Cattle from 9 months to 3 years old were more susceptible. In April, 73.4% did not show antibodies. During our study, 12 of the 15 cattle of that age which had babesiosis did not possess antibodies. Cattle > 3 years old were more protected. In April, only 51% lacked antibodies and 1 case of babesiosis was observed in this group.

INTRODUCTION

Bovine piroplasmosis is especially well known in tropical and sub-tropical countries because of its great economic impact. It is nevertheless present in Europe, where *Babesia divergens* is the most widespread species. Its distribution is limited to that of its tick vector, *Ixodes ricinus* (Purnell, 1981).

In a previous paper, we described the appearance of some acute cases of *B. divergens* babesiosis in Le Clos-du-Doubs, a part of northern Switzerland (Gern et al., 1982). Young calves never presented hemoglobinuria and the oldest cattle seldom did. Cattle between 9 months and 3 years old were the most susceptible. *I. ricinus* is the only tick species which parasitizes cattle in that area (Gern and Brossard, 1986). About 1% of these ectoparasites were found to be infected with the babesia.

A seroepidemiological study of babesiosis was conducted in this region in 1981. The purpose was to follow the annual evolution of anti-*B. divergens* immunity in relation to the age of cattle. We wanted to explain the evolution of susceptibility to babesiosis during the life of cattle and, particularly, to demonstrate the occurrence of natural immunity against this disease in calves. We also wanted to evaluate the incidence of babesia transmission in a herd of > 300 cattle.

MATERIAL AND METHODS

Endemic focus of babesiosis

The focus studied, Le Clos-du-Doubs, is located in the Jura Canton in northern Switzerland. This region of 80 km² is delimited by a loop of the river Le Doubs. Most of the area (55%) is covered by fields and pastures bordered with bushes, which are favorable biotopes for *I. ricinus*.

All the 341 cattle from 9 farms randomly chosen and disseminated in the area were observed.

Serology

Cattle blood was taken from the jugular vein 3 times during the year: before (April), during (July) and after (December) the grazing period. Serum was prepared and stored at -20°C. *B. divergens* antibodies were measured by the indirect immunofluorescence test reported by Ambroise-Thomas (1969).

Antigen preparation

A splenectomized calf was infected with 2 ml of *B. divergens*-infected blood (strain Utrecht). On the tenth day of infection and 16% parasitemia, thin blood smears were prepared. The slides were first dried at room temperature, then in a desiccator containing P₂O₅ at 37°C for 5 h. The slides were wrapped up twice in laboratory paper and stored in boxes at -70°C. Before use, the wrapped-up slides were sealed in plastic bags and kept for ~ 12 h at -20°C then for 1 h at 4°C.

Indirect immunofluorescence test

Blood smears were fixed in dry acetone for 5 min and then placed for 1 min in phosphate-buffered saline (PBS), pH 7.2, in order to hemolyse the blood cells. A drop of each serum dilution, performed in 2-fold steps from 1/40 in PBS (pH 7.2) was applied to a marked spot on the blood smears. After a 30-min incubation at 37°C in a moist atmosphere, the slides were washed in PBS (pH 7.2) for 10 min and then dried. A drop of conjugate (rabbit FITC anti-bovine IgG from Miles) was applied on each spot. The working dilution of this

reagent was 2.5% in 1/10 000 Evans blue. After 30 min incubation in the same conditions, the slides were washed again and dried. They were finally mounted in glycerin buffered with PBS (pH 7.2). Readings were made with an Olympus BH2 microscope at a magnitude of 500 and 1000 \times (excitation filters IF 490 and EY 455, barrier filter 0530).

Statistical analysis

The distribution of antibody titers between the 3 age groups of bovines considered (<9 months old, 9 months–3 years old and >3 years old) during the 3 periods (April, July and December) were compared using the χ^2 test.

RESULTS

Seasonal evolution of herd immunity

After the grazing period, most of the cattle (90.6%) showed anti-*B. divergens* antibodies (Table 1). They had been infested during the year or previously with *B. divergens*-infected ticks. In early spring, before moving to pastures, only 33.9% showed these antibodies. The geometric mean of antibody titers increases during the year (1/46 in April, 1/76 in July and 1/117 in December).

Influence of cattle age on acquired immunity against B. divergens

As noted before, we considered 3 age classes (<9 months old, 9 months–3 years old, >3 years old; see Gern et al., 1982).

Calves <9 months old (Fig. 1).

This age class was sub-divided into 2 groups of cattle: (1) those which had never left the farm (<2 months old) and (2) those which were on the pastures before the serological test (generally animals >2 months old). In this way, 2 mechanisms of acquisition of anti-*B. divergens* antibodies could be distinguished: (1) passively by the ingestion of maternal colostrum or (2) actively by infestation with infected ticks. In April, 8 calves <2 months old had never been to the pastures (Table 2 A). Among these, only 2 possessed *B. divergens* antibodies (1/80 and 1/320). In December, 12 of the 17 young unexposed animals showed specific antibodies at titers between 1/40 and 1/640. These 14 calves undoubtedly acquired their antibodies in the maternal colostrum. Dams of all positive calves possessed anti-*B. divergens* antibodies (1/40 to 1/1280) during the same period.

Positive calves, >2 months old, had certainly acquired *B. divergens* antibodies following tick bites on the pastures (Table 2 B). In April, 3 out of 33 calves

(9.0%) possessed specific antibodies, while in July and December 15 out of 48 (31.2%) and 30/48 (62.5%), respectively, had specific antibodies. A total of 48 calves had probably been infested with babesia-infected ticks. None showed

TABLE 1

Distribution of antibody titers in cattle throughout the year

Reciprocal titers		April	July	December
Neg.	<i>n</i>	191	127	32
	%	66.1	40.1	9.4
40	<i>n</i>	13	42	39
	%	4.5	13.2	11.4
80	<i>n</i>	17	35	77
	%	5.9	11.4	22.6
160	<i>n</i>	18	38	112
	%	6.2	11.9	32.8
320	<i>n</i>	18	28	31
	%	6.2	8.8	9.1
640	<i>n</i>	19	21	33
	%	6.6	6.6	11.1
1280	<i>n</i>	12	18	10
	%	4.2	5.6	2.9
2560	<i>n</i>	0	6	2
	%	0	1.8	0.6
5120	<i>n</i>	1	1	0
	%	0.3	0.3	0
10240	<i>n</i>	0	1	0
	%	0	0.3	0
Geometric mean of titers		1/46	1/76	1/117
<i>n</i>		289	317	341

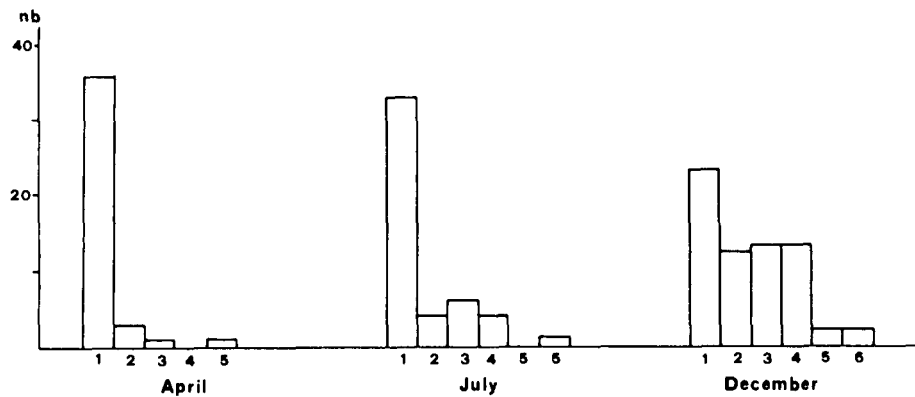


Fig. 1. Distribution of antibody titers in cattle <9 months old. Antibody status of cattle: 1 = negative; 2 = 1/40; 3 = 1/80; 4 = 1/160; 5 = 1/320; 6 = 1/640; nb = number of cattle.

TABLE 2

Acquisition of antibodies by young animals (A = number of calves 2 months old with colostrum antibodies; B = number of calves 2-9 months old positive after tick bites)

Reciprocal titers	April		July		December		
	A	B	A	B	A	B	
Negative	6	30	0	33	5		18
40	0	3	0	4	1	(80)	11
80	1 (640)	0	0	6	5	(80,160, 2×640, 1280)	8
160	0	0	0	4	3	(40,160, 640)	10
320	1 (1280)	0	0	0	1	(40)	1
640	0	0	0	1	2	(80,320)	0
Total (n)	8	33	0	48	17		48

Reciprocal titers of maternal antibodies are given in parentheses.

acute symptoms of babesiosis. They appear to be naturally resistant to the disease.

Animals 9 months-3 years old (Fig. 2)

In April, only 25.8% (33/127) of these animals presented anti-*B. divergens* antibodies (Fig. 2). This percentage increased to 61.2% (85/139) and 95.6% (151/158) in July and December, respectively. For these animals, the contact with infected ticks is intense during the grazing period. Most of them seem to be unprotected against babesiosis at the beginning of the year. During 1981, 15 cases of babesiosis were observed in this age class for the 9 farms of our study (28 cases for the entire focus, Gern et al., 1982). Among these cattle, only 3 showed antibodies before the disease, 2 with low titers of 1/40 and 1/80 and the third, a pregnant cow, with a higher titer of 1/320. In December, antibody titers are normally distributed around 1/160.

Animals > 3 years old (Fig. 3)

In April, 49.6% (60/121) of these cattle showed anti-*B. divergens* antibodies (Fig. 3). This percentage is higher than that of the 2 groups of younger animals (see Figs. 1 and 2). They are certainly better protected against babesiosis. This percentage increased to 69.2 (90/130) and 98.3% (116/118) in July and December, respectively. Only one animal which did not possess specific antibodies previously presented hemoglobinuria during 1981. In December, antibody titers were again normally distributed around 1/160.

Comparison of the antibody status of cattle of different age

Older cattle generally showed higher titers of anti-babesia antibodies ($P < 0.005$, Figs. 1, 2 and 3) throughout the year (April, July and December).

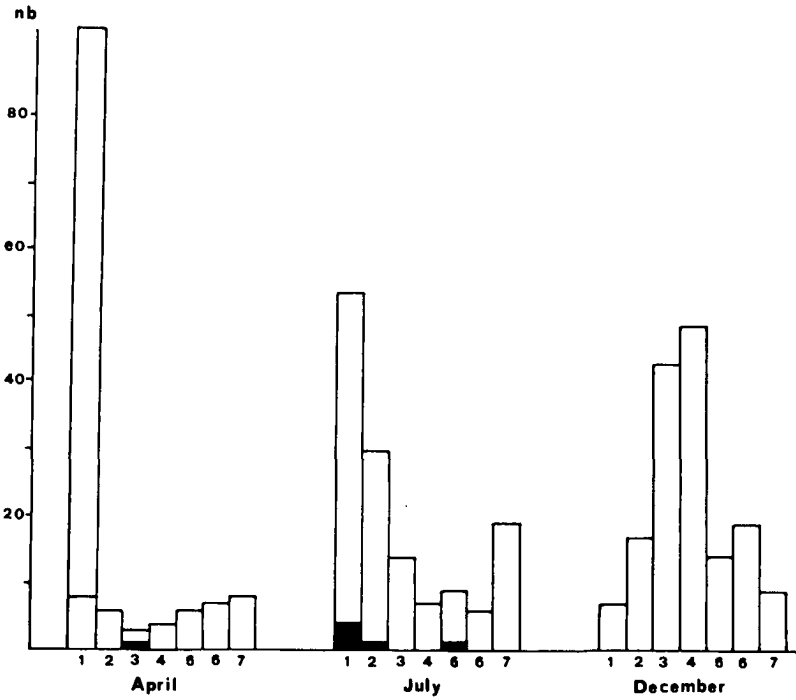


Fig. 2. Distribution of antibody titers in cattle 9 months-3 years old. Shaded area: cases of babesiosis. Antibody status of cattle: 1 = negative; 2 = 1/40; 3 = 1/80; 4 = 1/160; 5 = 1/320; 6 = 1/640; 7 > 1280; nb = number of cattle.

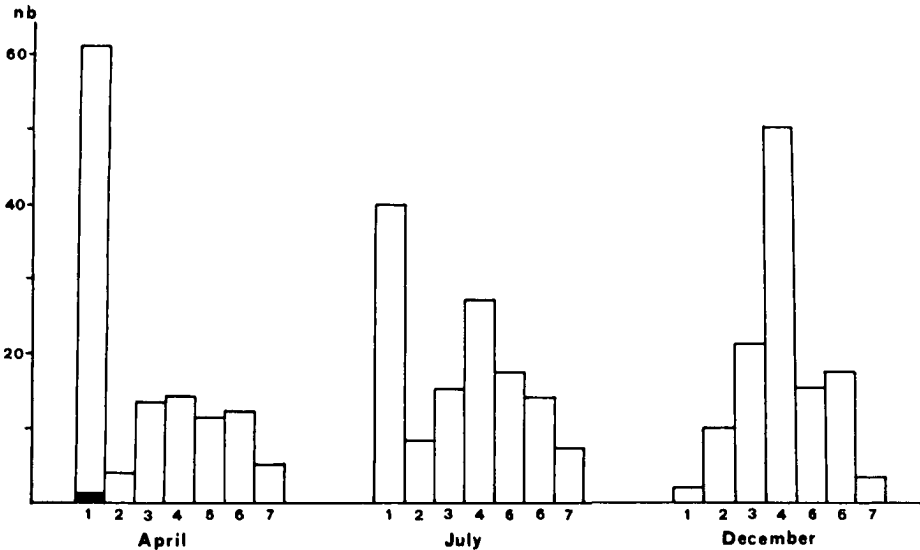


Fig. 3. Distribution of antibody titers in cattle > 3 years old. Key as in Fig. 2.

However, 2 exceptions can be noted. In April, antibody titers of young calves (<9 months) do not differ from those of the intermediate age group. This is also true in July and December for cattle 9 months–3 years old and those of the older age group.

DISCUSSION

Antibodies are certainly involved in babesia immunity. Passive transfer of immune serum of animals infected with *B. canis*, *B. rodhaini* or *B. bovis* into dogs, rodents or cattle, respectively, produces some resistance against these microorganisms (Carson and Phillips, 1981). The mechanism of this immunity is not yet clearly defined, but in vitro, it has been shown that entry of merozoites into red blood cells is inhibited by antibodies (Bautista and Kreier, 1979, 1980). Phagocytosis of infected erythrocytes is also increased by an opsonic phenomenon.

Studying the evolution of *B. divergens* antibodies undoubtedly helps to explain the acquisition of resistance in a herd. In our study, we have employed the indirect immunofluorescence test which is still considered to be a sensitive and specific test.

Hall (1960, 1963) proposed that colostrum antibodies confer immunity in young calves. In northern Switzerland (Close-du-Doubs, Jura), the most important calving period occurs in autumn. Ingested immunoglobulins are, therefore, already catabolized after the winter when the young animals are moving to pastures for the first time. Calves are then infested by *B. divergens*-infected ticks, as shown by the detection of specific antibodies in their blood, but none of them suffers from babesiosis. They appear to be naturally resistant to the disease before they reach the age of ~9 months. We presume that the immunological system is stimulated by babesial antigens with only a small risk of babesiosis development.

In 73.4% of the cattle 9 months–3 years old, no specific antibodies were detected in April. Among these, 12 out of 15 presented acute symptoms of babesiosis during the summer. Older bovines appear to be better protected against *B. divergens*, only one showed hemoglobinuria and 49.6% already possessed specific antibodies in April.

In the studied area, *B. divergens* babesiosis is a relatively stable zoonosis, as defined by Callow (1977). Less than 100 *I. ricinus* on each animal during 1 year and a 1.1% tick infection rate with babesia were observed (Gern and Brosard, 1986). It seems to be sufficient to stimulate the production of antibodies in 90.6% of cattle as measured at the end of the grazing period. Before moving to pastures, this percentage was only 33.9%.

In summary, our seroepidemiological study shows that cattle are progressively sensitized against *B. divergens* during their first years of life and during each grazing period. In April, before moving to the pastures, older cattle are

better protected by antibodies than younger animals. Young calves do not suffer from babesiosis as they are probably naturally resistant.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by the Swiss National Science Foundation (grant No. 3.070.81). The results of this study represent part of a Ph. D. thesis by L. Gern. Thanks are due to Profs. Martick and Uilenberg, respectively, of Berne and Utrecht and to our friends of the Jura Canton for their help and facilities.

REFERENCES

- Ambrose-Thomas, P., 1969. Etude séro-immunologique de dix parasitoses par les techniques d'immuno-fluorescence. Thesis, University of Lyon, France, 644 pp.
- Bautista, C.R. and Kreier, J.P., 1979. Effect of immune serum on the growth of *Babesia microti* in hamster erythrocytes in short-term culture. *Infect. Immun.*, 25: 470-472.
- Bautista, C.R. and Kreier, J.P., 1980. The action of macrophages and immune serum on growth of *Babesia microti* in short-term cultures. *Tropenmed. Parasitol.*, 32: 313-324.
- Callow, L.L., 1977. Vaccination against bovine babesiosis. In: *Immunity to Blood Parasites of Animals and Man*. Plenum, New York, pp. 121-149.
- Carson, C.A. and Phillips, R.S., 1981. Immunologic response of the vertebrate host to *Babesia*. In: *Babesiosis*. Academic Press, New York, pp. 411-443.
- Gern, L. and Brossard, M., 1986. Evolution annuelle de l'infestation de bovins par la tique *Ixodes ricinus* L. et de l'infection de ces ectoparasites par *Babesia divergens* dans le Clos du Doubs Jura, Suisse. *Schweiz. Archiv. Tierheilkd.*, 128: 361-363.
- Gern, L., Brossard, M., Aeschlimann, A., Broquet, C.A., Quenet, G., Stucki, J.P. and Ackermann, J., 1982. Piroplasmose bovine dans le Clos du Doubs (Jura, Suisse): observations préliminaires. *Schweiz. Archiv. Tierheilkd.*, 124: 549-556.
- Hall, W.T.K., 1960. Immunity of calves to *Babesia argentina* infection. *Aust. Vet. J.*, 36: 361-366.
- Hall, W.T.K., 1963. Immunity of calves to tick-transmitted *Babesia argentina* infection. *Aust. Vet. J.*, 39: 386-389.
- Purnell, R.E., 1981. Babesiosis in various hosts. In: *Babesiosis*. Academic Press, New York, pp. 25-63.

Forme réduite de la thèse présentée sous forme de 4 publications.

Le texte complet de la thèse est déposé chez le directeur de thèse le Prof. A. Aeschlimann à l'Institut de Zoologie de l'Université de Neuchâtel.

Gern, L., Brossard, M., Aeschlimann, A., Broquet, C. Quenet, G., Stucki, J. et Ackermann, J.

Piroplasmose bovine dans le Clos-du-Doubs (Jura, Suisse): observations préliminaires.

Schweiz. Arch. Tierheilk. 124: 549-556, 1982.

Gern, L. et Brossard, M.

Evolution annuelle de l'infestation de bovins par la tique Ixodes ricinus L. et de l'infection de ces ectoparasites par Babesia divergens dans le Clos-du-Doubs (Jura, Suisse).

Schweiz. Arch. Tierheilk. 128: 361-363, 1986.

Gern, L. et Aeschlimann, A.

Etude séroépidémiologique de 2 foyers de babésie de micromammifères en Suisse.

Schweiz. Arch. Tierheilkd. 128: 587-600, 1986.

Gern, L., Kindler, A. et Brossard, M.

Annual Evolution of Cattle Immunity Against Babesia divergens in Northern Switzerland.

Preventive Veterinary Medicine, 6: 9-16, 1988.