

Université de Neuchâtel

Faculté des Sciences

**ETUDES FAUNISTIQUE ET BIOLOGIQUE D'*IXODES*
(*PHOLEOIXODES*) *HEXAGONUS* Leach, 1815 EN SUISSE ET
DE SON ROLE DANS LA TRANSMISSION DE *BORRELIA*
BURGDORFERI AGENT PATHOGENE DE LA BORRELIOSE
DE LYME**

THESE

Présentée à la Faculté des Sciences de l'Université de Neuchâtel pour obtenir
le grade de Docteur ès Sciences

par

LINA NAÏME TOUTOUNGI

Licenciée en Biologie

Neuchâtel

1995

IMPRIMATUR POUR LA THÈSE

Etudes faunistique et biologique d'*Ixodes (Pholeoixodes) hexagonus* Leach, 1815 en Suisse et de son rôle dans la transmission de *Borrelia burgdorferi*, agent pathogène de la borréliose de Lyme

de Mme Lina Naïme Toutoungi

UNIVERSITÉ DE NEUCHÂTEL

FACULTÉ DES SCIENCES

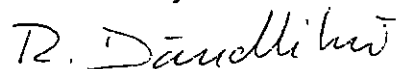
La Faculté des sciences de l'Université de Neuchâtel sur le rapport des membres du jury,

Mesdames et Messieurs A. Aeschlimann, L. Gern,
B Betschart, J.-F. Graf (Fribourg), O. Péter (Sion)
et L. Béati (Marseille)

autorise l'impression de la présente thèse.

Neuchâtel, le 15 novembre 1995

Le doyen:



R. Dändliker

TABLE DES MATIERES

I. INTRODUCTION.....	1
I.1. Généralités.....	1
I.2. Systématique.....	1
I.3. Distribution géographique.....	3
I.4. Hôtes.....	4
I.5. Ecologie et cycle de vie.....	6
I.6. Intérêt épidémiologique.....	8
I.7. La Borréliose de Lyme.....	9
1.7.1. <i>Borrelia burgdorferi</i>	10
1.7.2. Vecteurs.....	11
1.7.3. Réservoirs et hôtes de <i>B. burgdorferi</i> en Europe.....	12
I.8. Buts du travail.....	13
I.8.1. Présentation du travail.....	14
I.8.1.1. Etude faunistique.....	14
I.8.1.2. Etude biologique.....	14
I.8.1.3. Etude épidémiologique.....	15
II. MATERIEL ET METHODES.....	16
II.1. Etude faunistique.....	16
II.1.1. Récolte des tiques.....	16
II.2. Etude biologique.....	17
II.2.1. Nutrition des tiques sur souris blanches.....	17
II.2.2. Nutrition des tiques sur lapin.....	17
II.2.3. Maintien des phases libres.....	18
II.3. Etude épidémiologique.....	17
II.3.1. Infection artificielle des nymphes par <i>Borrelia burgdorferi</i>	18
II.3.2. Transmission du spirochète à un animal de laboratoire.....	19
II.3.3. Détection des spirochètes chez la souris.....	19
II.3.4. Détection des spirochètes chez les tiques par l'immunofluorescence directe (IFD).....	19
II.3.1.4.1. Préparation des lames.....	19

III. RESULTATS	21
III.1. Etude faunistique.....	23
III.1.1. Publication n°1.....	23
III.2. Etude biologique.....	24
III.2.1. Publication n°2.....	24
III.2.2. Publication n°3.....	25
III.3. Etude épidémiologique.....	26
III.3.1. Publication n°4.....	26
III.3.2. Publication n°5.....	27
IV. DISCUSSION GENERALE ET CONCLUSIONS	28
IV.1. Etude faunistique.....	28
IV.2. Etudes biologiques.....	30
I.V.2.1. Durée du cycle et biologie des stades immatures.....	30
I.V.2.2. Reproduction.....	31
I.V.3. Etude épidémiologique.....	32
RESUME	36
REMERCIEMENTS	38
BIBLIOGRAPHIE	40

INTRODUCTION

I. Introduction

I. 1. Généralités

Les tiques sont d'importants vecteurs d'agents pathogènes de l'homme et des animaux. En raison de leur importance médicale et économique, plusieurs études approfondies ont été entreprises concernant différents aspects de leur biologie ou de leur écologie.

Ixodes (Pholeoixodes) hexagonus Leach, 1815 est une espèce de tique associée au renard, au hérisson et aux petits mammifères carnivores. Le terme "Pholéo" désigne toute espèce dont les stades libres se développent dans une cavité naturelle bien constituée. *I. (Ph.) hexagonus* est donc une tique endophile. Elle représente l'espèce type des *Pholeoixodes* qui constituent un groupe d'espèces à particularités morphologiques et biologiques conjointes (Morel, 1965; Clifford *et al.*, 1973; Camicas et Morel, 1977). Les *Pholeoixodes* parasites des Carnivores présents en Suisse sont: *I. hexagonus*, *I. canisuga* Johnston, 1849 (Aeschlimann *et al.*, 1965) et *I. rugicollis* Schulze et Schlotke, 1929 (Zimmerli, 1982). En raison de leur ressemblance morphologique et biologique, il est difficile de parler d'*I. hexagonus* sans mentionner *I. canisuga* et *I. rugicollis*.

Le présent travail cherche à approfondir nos connaissances d'*I. hexagonus* et à mettre en évidence son rôle dans la maladie de Lyme.

I. 2. Systématique

Les tiques sont des Arthropodes hématophages, appartenant au sous-embranchement des Chelicerata (Fig. 1), classe des Arachnida, ordre des Acari; elles forment la super famille des Ixodoidea, qui compte plus de 800 espèces (Hoogstraal et Aeschlimann, 1982; Sonenshine, 1991). Les Ixodoidea comprennent 3 familles:

- les Argasidae, surnommées "tiques molles" caractérisées par l'absence du scutum,

- les Ixodidae, surnommées "tiques dures", au scutum toujours présent;
- la famille des Nuttalliellidae Bedford, 1931, qui réunit certaines caractéristiques des deux autres familles et qui est représentée par une seule espèce *Nuttalliella namaqua* Bedford, 1931.

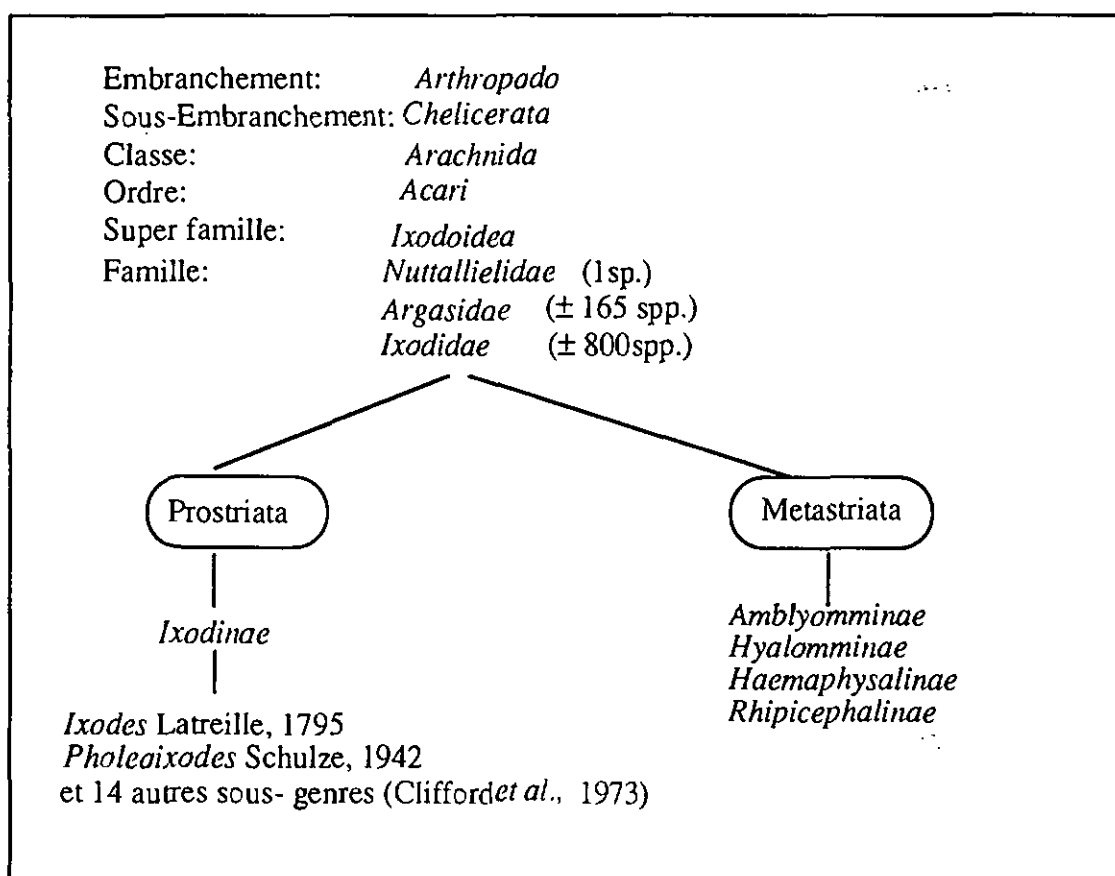


Figure 1. Position systématique des *Pholeoixodes* parmi les tiques

Sur le plan morphologique et biologique, les Ixodidae sont divisées en deux groupes phylogénétiques: les Metastriata et les Prostriata. Une des particularités qui les différencie est le comportement des mâles. Les mâles des Metastriata ont besoin d'un repas sanguin pour compléter leur spermatogenèse. Chez les Prostriata, la spermatogenèse est déclenchée par le repas nymphal. Ceci implique que les mâles sont

sexuellement matures dès la mue nymphale et, par conséquent, que le repas sanguin de l'adulte n'est plus nécessaire à la spermatogenèse. Les *Metastricata* sont représentés par les *Amblyomminae*, les *Haemaphysalinae*, les *Hyalomminae* et les *Rhipicephalinae*. Les *Prostricata* comptent un seul genre (*Ixodinae*, *Ixodes*) (Hoogstraal et Aeschlimann, 1982; Sonenshine, 1991) divisé en une douzaine de sous-genres ou, selon Clifford *et al.* (1973), en 16 sous-genres, dont les *Pholeaioxodes*.

Camicas et Morel (1977), partant du principe que toutes les espèces d'un genre doivent présenter des caractères morphologiques et biologiques communs qui les différencient des autres groupes, proposent d'élever certains sous-genres au niveau du genre. Ainsi, les auteurs francophones (Morel, 1965; Camicas et Morel, 1977; Aubert, 1983; Gilot et Aubert, 1985) considèrent les *Pholeaioxodes* comme un genre à part entière. Par commodité, nous utiliserons tantôt le terme *Ixodes*, tantôt le terme *Pholeaioxodes*, tout en prenant en considération la distinction de ce groupe de tiques du complexe *I. ricinus* Latreille, 1795. Les espèces les plus connues qui appartiennent au groupe *I. ricinus* Latreille et qui transmettent des agents pathogènes, surtout *Barrelia burgdorferi*, à l'homme sont: *I. scapularis*, *I. pacificus* aux Etats-Unis, *I. persulcatus* en Asie et en Russie et *I. ricinus* en Europe (Dans le travail de Clifford *et al.* (1973), on trouvera la liste complète de toutes les espèces de tiques appartenant au groupe *I. ricinus* Latreille.)

I. 3. Distribution géographique

Les *Pholeaioxodes* sont présents dans les zones tempérées froides. Leur distribution est typiquement holarctique (Morel, 1965; Clifford *et al.*, 1973). L'aire de répartition d'*I. hexagonus* s'étend de l'Europe du Nord (Schulze, 1930; Arthur, 1955; Jaenson *et al.*, 1994) jusqu'au Nord de l'Afrique (Blanc et Bruneau, 1958; Arthur, 1963; Morel, 1965; Bailly-Choumara *et al.*, 1974), couvrant toute l'Europe occidentale et centrale (Schulze, 1923; Pandazis, 1947; Starkoff, 1958; Feider et Rauchbach, 1960; Arthur, 1963; Babos, 1964; Morel, 1965; Aeschlimann *et al.*, 1965, 1982; Lachmajer, 1967; Rageau, 1972;

Cornely et Schultz, 1992). A l'Est, l'espèce ne serait présente qu'en Ukraine (Filippova, 1961).

La répartition géographique d'*I. canisuga* n'a pas encore été déterminée avec précision, étant donnée l'analogie morphologique de cette espèce avec *I. crenulatus*. Ainsi, selon Kolonin (1981), la distribution géographique d'*I. canisuga* couvre toute l'Europe occidentale, l'Europe centrale et jusqu'à l'extrémité Est de l'Asie. Par contre, selon Morel (1965) et Gilot (1985), la répartition d'*I. canisuga* est plus limitée. L'espèce serait présente en Espagne (Gil Collado, 1948), en Grande-Bretagne (Nuttal, 1911; Schulze, 1923), en Italie (Starkoff, 1958), en Grèce (Pandazis, 1947: *I. vulpicola*), en France (Morel, 1965), en Suisse (Aeschlimann *et al.*, 1965), dans l'ex-Tchécoslovaquie (Rosicky, 1953: *I. vulpicola*; Cerny, 1961: *I. meelicola*), en Pologne (Schulze et Schlotke, 1929: *I. vulpis*; Lachmajer, 1967: *I. vulpicola*), au Danemark (Arthur, 1955: *I. meelicola*). L'espèce a aussi été mentionnée en Allemagne (Liebisch et Walter, 1986; Corneley et Schultz, 1992) et en Suède (Jaenson *et al.*, 1994).

Quant à *I. rugicollis*, sa répartition est très mal connue. L'espèce a été signalée en Allemagne (Schulze et Schlotke, 1929), en Pologne (Eichler, 1968), en Roumanie (Babos, 1964), en France (Aubert, 1974, 1975) et en Suisse (Zimmerli, 1982).

I. 4. Hôtes

La spécificité parasitaire, définie par Hoogstraal et Aeschlimann (1982), est une association entre une espèce de tique et un groupe de vertébrés. Ainsi connaît-on des espèces télotropes* qui ne montrent pas une spécificité envers une espèce d'hôte vertébré

* Pour la définition de ces termes: mono-di-télotropie; mono-di-triphase; exophilie et endophilie, voir Aeschlimann (1967).

déterminée et qui se nourrissent donc sur une grande variété d'hôtes. C'est le cas d'*I. ricinus*, la tique la plus commune en Europe. Chez les tiques ditropes, larves et nymphes se nourrissent sur le même groupe d'hôte, les adultes sur un autre; c'est le cas par exemple de *Dermacentor reticulatus* et de *Rhipicephalus bursa*. Chez les tiques monotropes, les trois stades évolutifs se nourrissent sur le même groupe, voire sur la même espèce. Tous les *Pholeoixodes* sont monotropes (Morel, 1965). Certaines espèces montrent une affinité exclusive envers une seule espèce d'hôte, comme *I. lividus* pour l'hirondelle de rivages *Riparia riparia*. D'autres témoignent d'une spécificité envers une catégorie zoologique d'hôtes, comme *I. arboricola* qui parasite les oiseaux Passériformes et Strigiformes.

I. hexagonus: La monotropie d'*I. hexagonus* ne limite pas sa spécificité parasitaire qui est souple. Parmi les *Pholeoixodes*, *I. hexagonus* est l'espèce qui présente le plus large spectre d'hôtes. De la littérature se dégagent des affinités nettes pour des catégories d'hôtes définies. Ainsi *I. hexagonus* a été associé au hérisson *Erinaceus europaeus* (Nuttall, 1913; Arthur, 1963; Thompson et Knowles, 1968; Liebisch et Walter, 1986; Matuschka *et al.*, 1990), au renard *Vulpes vulpes* (Aubert, 1975; Harris et Thompson, 1978; Matuschka *et al.*, 1990) et aux Mustélinés (Liebisch et Walter, 1986; Gilot et Aubert, 1985). Plutôt que de dresser la liste de toutes les espèces animales sur lesquelles *I. hexagonus* a été récolté, nous préférons citer les catégories d'hôtes occasionnels mentionnés dans la littérature: rongeurs (Senevet, 1937; Starkoff, 1958; Arthur, 1963; Manhert, 1971), écureuil *Sciurus vulgaris* (Senevet, 1937; Aeschlimann *et al.*, 1965), bovins et ovins (Arthur, 1963; Giroud *et al.*, 1965; Liebisch et Walter, 1986), cheval *Equus caballus* (Senevet, 1937; Van Engelen et Jansen, 1990), oiseaux (Senevet, 1937; Filippova, 1961), chat sauvage *Felis silvestris* (Didier et Rode, 1935), chat et chien domestiques (Aeschlimann *et al.*, 1982; Gilot et Aubert, 1984), et enfin homme (Garin et Bujadoux, 1922; Arthur, 1953; Carter, 1955; Roman *et al.*, 1973; Liebisch et Walter, 1986; Liebisch et Olbrich, 1991; Liebisch *et al.*, 1994).

I. canisuga: La gamme d'hôtes d'*I. canisuga* est plus restreinte. L'espèce est associée au renard et au blaireau *Meles meles* (Aubert, 1975; Harris et Thompson, 1978; Gilot et Aubert, 1985). L'infestation d'autres Mustélinés (putois, fouine, hermine) paraît accidentelle et dépend du comportement de l'animal (Gilot, 1985; Gilot et Aubert, 1985). *I. canisuga* a été observée sur l'hirondelle de rivages (Arthur et Thompson, 1953), sur le cheval (Senevet, 1937), sur le hérisson (Liebisch et Olbrich, 1991), sur des chiens domestiques (Arthur, 1963; Smith, 1972; Gothe *et al.*, 1977; Hess et Völker, 1984; Gilot et Aubert, 1985, Liebisch et Walter, 1986) et plus rarement sur des chats domestiques (Liebisch et Walter, 1986).

I. rugicollis: *I. rugicollis* est une espèce plus rare. Elle a été signalée sur la martre *Martes martes* (Schulze et Schlottke, 1929), sur le renard (Morel et Aubert, 1975; Aubert, 1983; Gilot et Aubert, 1985), sur le putois *Mustela putorius* (Cefa, cité par Morel et Aubert, 1975) et sur la fouine *Martes foina* (Zimmerli, 1982)

I. 5. Ecologie et cycle de vie

I. hexagonus et *I. canisuga* vivent à l'intérieur des terriers de leurs hôtes. La végétation ne semble pas jouer un rôle primordial dans l'habitat de ces tiques. Dans les milieux naturels, des stades libres ont été mis en évidence sur les parois des grottes et des cavités souterraines (où *I. hexagonus* était le plus abondant) (Beaucoumu et Matile, 1963). En étudiant un terrier de renard, Aubert (1983) a contribué à la connaissance du microbiotope occupé par *I. hexagonus* et *I. canisuga* en attente de l'hôte. Il a montré que ces tiques s'enfoncent dans la terre de la voûte du terrier jusqu'à une profondeur d'au moins 4 cm, à une distance de 0.5m-0.7m de l'entrée du terrier. *I. hexagonus* est susceptible de se développer dans des nids moins profonds, de surface, moins protégés. En effet, des stades libres ont été découverts sous des tas de feuillages constituant des nids de hérissons (Nuttall, 1911; Schulze, 1941; Arthur, 1953), dans un tronc de chêne ou dans le terreau d'arbres creux (Browing et Airy Shaw, 1944; Roman *et al.*, 1973).

Dans les milieux ruraux et habités par l'homme, où la tique peut être introduite par l'intermédiaire d'un animal hôte (hérisson, fouine, putois, chien et chat), des stades libres d'*I. hexagonus* ont été mis en évidence dans la paille ou le foin situé dans des hangars et des granges (Gilot et Aubert, 1984; Gilot, 1985). Dans les milieux habités par l'homme, un seul type de biotope à *I. canisuga* -les chenils- a été observé par plusieurs auteurs (Arthur, 1963; Smith, 1972; Gothe *et al.*, 1977; Hess et Völker, 1984). Ces biotopes offrent à *I. hexagonus* et *I. canisuga* une protection thermique et satisfont leur besoin hygrométrique. Ceci est démontré par l'activité parasitaire exercée toute l'année, aucune période de diapause n'ayant été constatée (Arthur, 1963; Lamontellerie, 1965; Aubert, 1975; Harris et Thompson, 1978; Gilot et Aubert, 1985).

Dans l'état actuel de nos connaissances, il est difficile de préciser les biotopes propres à *I. rugicollis*.

Le cycle des *Pholeoixodes* est de type triphasique. Chaque phase parasite (période de nutrition) est suivie d'une phase libre. A la fin de chaque repas, la tique se détache de son hôte et entre dans une période de digestion (post-nutrition) qui sera suivie de la mue (larves et nymphes) ou de la ponte (femelle) donnant naissance aux stades suivants.

Les durées des diverses étapes du cycle (durée des repas sanguins, durée des périodes de post-nutrition) d'*I. canisuga* et d'*I. rugicollis* ont été étudiées dans des conditions expérimentales (Smith, 1972; Aubert, 1981). En ce qui concerne *I. hexagonus*, les premières observations sur la ponte et la mue nymphale ont été faites par Nuttall (1913). Plus tard, Arthur (1951) montra l'influence de la température et du degré d'humidité sur la durée du cycle. Honzakova (1971) décrit la durée du cycle de différents stades d'*I. hexagonus* récoltés dans la nature et nourris sur des animaux de laboratoire (souris et lapins). Les résultats de ces auteurs seront repris et discutés dans le chapitre Résultats (Chapitre III.2).

I. 6. Intérêt épidémiologique

Comme nous l'avons mentionné ci-dessus, *I. hexagonus* est l'espèce pholéophile la plus répandue et la plus fréquemment rencontrée sur des animaux vivant au voisinage de l'homme. Bien que la rencontre avec l'homme soit rare, elle n'est pas exclue (Garin et Bujadoux, 1922; Carter, 1955; Arthur, 1953, 1963; Roman *et al.*, 1973; Liebisch et Walter, 1986; Liebisch et Olbrich; 1991 Liebisch *et al.*, 1994). C'est une espèce qui vit en sympatrie avec d'autres espèces de tiques vectrices de microorganismes pathogènes. Etant donné sa présence avec *Dermacentor marginotus* sur des chiens infectés, son rôle éventuel dans l'épidémiologie de la piroplasmose canine a été évoqué (Condoret *et al.*, 1962). Son rôle dans la transmission de *Rickettsia conori* (agent pathogène de la fièvre boutonneuse) a également été envisagé (Gilot, 1975).

I. ricinus est une tique exophile télotrope qui parasite très souvent l'homme et qui peut lui transmettre divers agents pathogènes (Aeschlimann *et al.*, 1979). Pour mieux comprendre cette espèce, il faut se référer aux travaux d'Aeschlimann (1972, 1981). *I. ricinus* est fréquemment rencontré sur les hôtes traditionnels d'*I. hexagonus*: hérissons (Liebisch et Olbrich, 1991), renards (Aubert, 1975), certains Mustélidés (Anderson et Magnarelli, 1984). Cette association *I. hexagonus-I. ricinus* sur le même animal pourrait contribuer à l'amplification de certains cycles épidémiologiques de microorganismes touchant l'homme. Prenons le cas de l'encéphalite à tiques d'Europe centrale (TBE), pour laquelle *I. ricinus* est considéré comme le seul vecteur du virus à l'homme. La transmission du virus d'*I. hexagonus* à un animal de laboratoire, ainsi que la transmission transstadiale du virus chez cette tique ont été démontrées (Streissle, 1960; Krivanec *et al.*, 1988). La présence de renards virémiques (Radda, 1969) et la capacité d'*I. hexagonus* à garder dans ses organes et à transmettre le virus à un animal laissent supposer l'existence d'une zoonose qui se perpétue dans la nature, par l'association *I.*

I. hexagonus-renard, sous forme de foyers naturels fonctionnant en circuit fermé (Fig. 2). L'intervention d'*I. ricinus* dans ce cycle augmente les chances de dispersion du virus chez d'autres hôtes et d'apparition de nouveaux foyers intervenant, cette fois, entre *I. ricinus* et ses hôtes.

I. hexagonus s'est, en outre, révélé porteur de *Borrelia burgdorferi*, agent pathogène responsable de la borréliose de Lyme (Liebisch *et al.*, 1989). Le rôle éventuel d'*I. hexagonus* dans l'épidémiologie de la borréliose de Lyme est l'un des objets de cette étude.

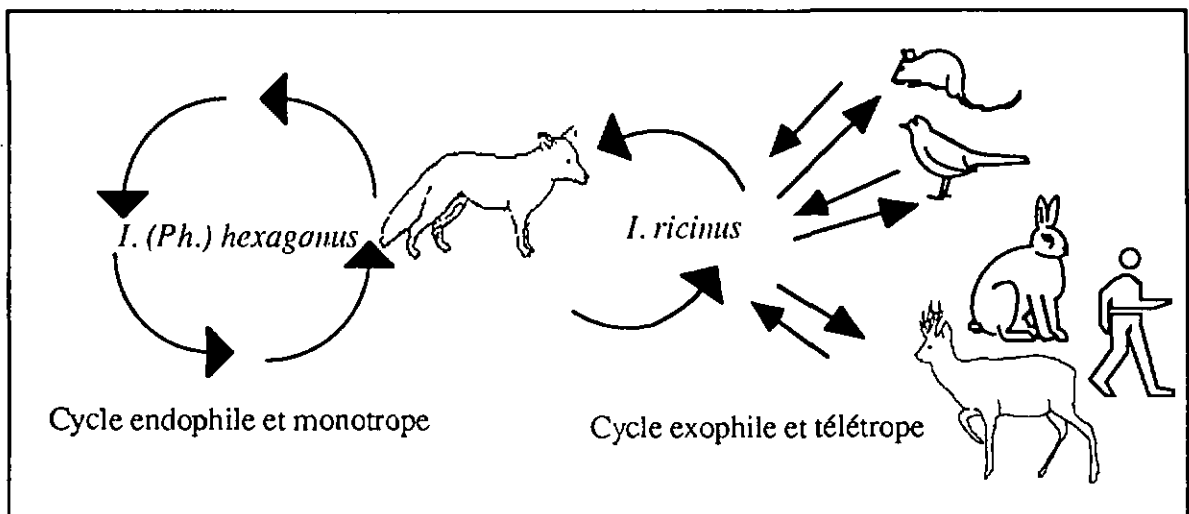


Figure 2. Cycle de transmission possible du virus TBE dans la nature

I. 7. La borréliose de Lyme

La borréliose de Lyme se manifeste chez l'homme par un ou plusieurs symptômes: érythème migrant, atteintes articulaires, cardiaques ou neurologiques. Cette maladie a été décrite pour la première fois par Steere *et al.* (1977) suite à une épidémie d'arthrites survenue chez des adultes et des enfants habitant la petite ville de Lyme, dans le Connecticut aux Etats-Unis. La maladie avait cependant déjà été décrite au début du

siècle par Afzelius (1910) chez un patient piqué par une tique, sous la forme d'une lésion cutanée qu'il nomma *Erythema Migrans* (EM). Cette observation a été reprise et renommée par Lipschütz (1913) comme *Erythema Chronicum Migrans* (ECM). En 1922, Garin et Bujadoux observent, chez un patient atteint de complications neurologiques, une lésion cutanée faisant suite à une piqûre d'*I. hexagonus*. Steere *et al.* (1977) donnent la première description complète des symptômes de la maladie, et en 1978 Steere *et al.* mettent en évidence la relation entre la fréquence des piqûres des tiques et la maladie appelée alors "Lyme disease". En 1982, Burgdorfer *et al.* découvrent aux Etats-Unis des spirochètes chez *I. scapularis* [anciennement *I. dammini* (Oliver *et al.*, 1993)]. Ces spirochètes réagissaient avec les sérums des patients atteints de "Lyme disease" lors d'un test d'immunofluorescence indirecte. Ces organismes ont été cultivés par la suite dans un milieu de Kelly modifié "BSK11" (Barbour, 1994). En 1983, Barbour *et al.* isolent, à partir d'*I. ricinus* provenant de Suisse, des spirochètes morphologiquement et sérologiquement semblables aux souches américaines. Ce n'est qu'en 1984 que Johnson *et al.* donnent au spirochète le nom de *Borrelia burgdorferi*, en l'honneur du Dr W. Burgdorfer.

I. 7.1. *Borrelia burgdorferi*

Appartenant à la famille des Spirochetaceae, *B. burgdorferi sensu lato* représente un complexe de bactéries Gram négatives. De forme hélicoïdale, *B. burgdorferi s. l.* mesure de 4-30 µm de long et 0,18-0,25 µm de diamètre; elle possède au moins 4 protéines majeures de surface (Wilske *et al.*, 1991).

En Europe, de nombreuses souches différentes de *B. burgdorferi* ont été isolées. Baranton *et al.* (1992) distinguent 3 espèces européennes: *B. garinii*, *B. burgdorferi sensu stricto* et le groupe VS461 appelé par la suite *B. afzelii* (Canica *et al.*, 1993).

I. 7.2. Vecteurs

Un arthropode-vecteur de *B. burgdorferi* doit répondre aux critères suivants:

- 1- pouvoir acquérir la bactérie par le biais du repas sanguin,
- 2- présenter un milieu favorable à sa survie et à sa multiplication dans ses organes,
- 3- héberger et maintenir le spirochète pour une longue période,
- 4- transmettre le *B. burgdorferi* à un autre hôte.

Seuls les *Ixodes* appartenant au complexe *I. ricinus* (Latreille) sont considérés comme des vecteurs compétents de *B. burgdorferi* (Burgdorfer *et al.*, 1982; Anderson, 1989). Toutefois, la capacité de transmettre le spirochète à un animal a été démontrée chez d'autres espèces du genre, comme par exemple *I. dentatus* qui, selon Telford et Spielman (1989), n'appartient pas au complexe *I. ricinus*.

Aux Etats-Unis, les principaux vecteurs de *B. burgdorferi* sont *I. scapularis* et *I. pacificus* (Burgdorfer *et al.*, 1982, 1985). Ajoutons que des spirochètes ont également été mis en évidence chez des espèces d'autres genres de tiques: *D. variabilis*, *D. occidentalis*, *D. parumapertus*, *Amblyomma maculatum*, *A. americanum*, *Haemaphysalis leporispalustris*, et *Rh. sanguineus* (Schulze *et al.*, 1984; Anderson *et al.*, 1985; Rawling, 1986; Lane et Burgdorfer, 1988; Piesman et Sinsky, 1988; Lane *et al.*, 1991; Ryder *et al.*, 1992).

En Europe orientale et en Asie, *B. burgdorferi* a également été décrit: Russie, (Korenberg *et al.*, 1990), Chine (Ai et Wu, 1989), Japon (Kawabata *et al.*, 1987; Masuzawa *et al.*, 1991). C'est *I. persulcatus* qui assure la transmission du spirochète dans ces régions. *I. ovatus* semble être vecteur d'une autre souche de *B. burgdorferi* apathogène pour l'homme (Nakao *et al.*, 1992).

En Europe, *I. ricinus* a longtemps été considéré comme le seul vecteur de *B. burgdorferi*. Cependant, en France, des spirochètes ont été mis en évidence chez *I.*

trianguliceps et *I. acuminatus* (Doby *et al.*, 1990). Sur une île suédoise, le rôle d'*I. uriae* dans la dissémination de *B. burgdorferi* parmi les oiseaux marins a été discuté (Olsén *et al.*, 1993). En Italie, le rôle éventuel d'*Argas reflexus* dans la circulation du spirochète a été évoqué (Genchi *et al.*, 1989). En Espagne, l'infection d'*Hm. punctata*, d'*I. canisuga* et d'*I. hexagonus* a été démontrée (Marquez et Constant, 1990; Estrada-Pena, 1991). En Allemagne, Kahl *et al.* (1992) découvrent des *Borrelia* sp. chez *D. reticulatus* et *Hm. concinna*. Liebisch *et al.* (1989) et Liebisch et Olbrich (1991) révèlent la présence de spirochètes chez 4,3% des différents stades d'*I. hexagonus* récoltés sur des hérissons. La capacité de ces espèces de tiques de transmettre *B. burgdorferi* n'a toutefois pas été démontrée par ces auteurs. La découverte des spirochètes dans des tiques semigorgées, prélevées de leur hôte, ne signifie encore rien quant à la compétence vectorielle de l'arthropode.

I. 7.3. Réservoirs et hôtes de *B. burgdorferi* en Europe

Les micromammifères jouent un rôle important dans le maintien du spirochète. En effet, Humair *et al.* (1993a), examinant des rongeurs par la méthode de la xénodiagnose, révèlent un pourcentage d'infection de 44,45% chez *Apodemus flavicollis* (mulot à collier) et de 37,2% chez *A. sylvaticus* (mulot sylvestre). Chez *Clethrionomys glareolus* (campagnol roussâtre) 20,5% des animaux étudiés étaient infectés.

Selon ces mêmes auteurs (1993b), des espèces de Turdidae, les merles noirs (*T. merula*) et les grives musiciennes (*T. philomelos*), sont capables d'infecter des stades immatures d'*I. ricinus* et participent ainsi à l'amplification de *B. burgdorferi* dans la nature.

Un examen sérologique des animaux sylvatiques à l'ouest de la France a révélé une séropositivité chez 19,7% des sangliers, 18% des chevreuils, 20% des cerfs et 35% des renards (Doby *et al.*, 1991b, 1991c). Doby *et al.* (1988) relèvent une séropositivité chez

3- L'épidémiologie

Comme nous l'avons mentionné plus haut, *I. hexagonus* s'est révélé porteur de *B. burgdorferi* dans la nature. Son éventuel rôle de vecteur du spirochète restait cependant à prouver. Pour cette raison, nous avons cherché à mettre en évidence la capacité d'*I. hexagonus* à s'infecter, à maintenir l'infection et sa faculté de la transmettre à un animal.

I. 8.1. Présentation du travail

I. 8.1.1. Etude faunistique

La détermination des lieux de capture des hôtes infestés par les tiques nous a permis d'établir une cartographie des 3 espèces concernées en Suisse. L'activité parasitaire exercée durant les saisons a pu être déterminée, grâce au relevé des dates de capture des différents stades évolutifs. L'identification des hôtes, ainsi que la nature de l'infestation par les tiques, ont révélé les relations tiques-hôtes qui nous ont permis de mieux comprendre certains aspects du comportement de ces tiques.

I. 8.1.2. Etude biologique

Notre premier objectif a été d'établir une méthode d'élevage assurant un bon rendement de tiques. Pour comparer nos résultats avec ceux obtenus par d'autres auteurs, mais sur d'autres espèces, nous avons utilisé des animaux du laboratoire (souris blanches et lapins néozélandais).

Nous avons concentré nos recherches sur certains paramètres du cycle évolutif d'*I. hexagonus* en suivant les étapes ci-dessous:

- Définition de la durée du cycle de vie,
- Examen de la relation entre le sexe des nymphes, la quantité de sang prise et la durée de post-nutrition,

30% des chiens de meute et 21,6% des chiens militaires. En Suisse, des cas cliniques de borréliose de Lyme chez des chiens ont été décrits par Pfister *et al.* (1989).

I. 8. Buts de travail

Ce travail vise à approfondir nos connaissances sur *I. hexagonus* au travers des trois étapes suivantes:

I- La faunistique

Les seules données concernant la présence d'*I. hexagonus* et d'*I. canisuga* en Suisse ont été fournies par Aeschlimann *et al.* (1965) lors de leur premier inventaire des tiques de ce pays. En 1982, Aeschlimann *et al.* signalent *I. hexagonus* au sud des Alpes, dans le canton du Tessin. La répartition de l'espèce en Suisse méritait cependant d'être complétée. Dans le cadre d'études faunistiques, nous avons cherché à établir une cartographie d'*I. hexagonus* en Suisse. Par ailleurs, nous avons tenté de mettre en évidence les relations de cette espèce avec *I. canisuga* et *I. rugicollis*, ainsi que les relations de ces trois espèces avec leurs hôtes.

2- La biologie

Si le cycle de vie d'*I. hexagonus*, d'*I. canisuga* et d'*I. rugicollis* a déjà été observé dans les conditions du laboratoire (Arthur, 1951; Smith, 1972; Aubert, 1981), de nombreuses lacunes existent encore dans nos connaissances concernant leur biologie et leur reproduction, notamment chez *I. hexagonus*. Nous nous sommes donc concentrés sur cette espèce. Pour tenter de combler ces lacunes, nous avons entrepris les démarches suivantes:

- 1- Etablissement d'une méthode d'élevage assurant un nombre suffisant de tiques pour notre étude;
- 2- Détermination des particularités de chaque étape évolutive du cycle de vie;
- 3- Définition du potentiel reproductif d'*I. hexagonus* et des facteurs influençant ce potentiel.

- Les relations nutrition-copulation-reproduction chez *I. hexagonus*.

I. 8.1.3. Etude épidémiologique

Pour mettre en évidence le rôle de vecteur d'*I. hexagonus* pour *B. burgdorferi*, (paragraphe 1.7.2) nous avons entrepris les démarches suivantes:

- 1- Infection des nymphes par des spirochètes par la méthode de l'infection artificielle par capillaire,
- 2- Mise en évidence de la transmission transstadiale du spirochète chez les adultes issus des nymphes infectées
- 3- Nutrition des adultes sur des souris de laboratoire pour assurer la transmission de *B. burgdorferi* à un hôte,
- 4- Recherche de l'infection chez les souris par la méthode de la xénodiagnose,
- 5- Etude de la transmission de *B. burgdorferi* à la génération suivante via la transmission transovarienne,
- 6- Détection du spirochète chez les différents stades de tiques au moyen d'un test spécifique d'immunofluorescence directe (IFD).

MATERIEL ET METHODES

II. Matériel et méthodes

II. 1. Etude faunistique

II. 1.1. Récolte des tiques

Le matériel de base provient pour l'essentiel de la collection dite "Tiques de Suisse" du Professeur A. Aeschlimann, déposée au Musée Zoologique de Lausanne. Ce matériel a été complété par les données de S. Debrot concernant des tiques de Mustélidés. Enfin, le Centre de la rage à Berne nous a envoyé, durant deux ans, des tiques récoltées principalement sur des carnivores sauvages.

La détermination des tiques a été basée sur les caractères morphologiques décrits par Arthur (1963), Morel et Perez (1973, 1977) et Morel et Aubert (1975). Le tableau 1 présente les principaux caractères morphologiques réunis sur lesquels nous sommes basés pour reconnaître les *Pholeoixodes* des *Ixodes*.

Table 1. Principaux caractères morphologiques comparés entre le groupe des *Pholeoixodes* et *I. ricinus*.

	Pholeoixodes	Ixodes
Hypostome	extrémité arrondie	extrémité plutôt aiguë
Pédipalpes	en massues, aussi longs que larges	très allongés, plus longs que larges
Scutum	cordiforme	arrondi
Talus distal I	bien marqué et court	bien marqué et long

Nous renvoyons le lecteur au travail de Cordas *et al.* (1993) pour la description complète des caractères morphologiques comparés, spécifiques à chacune des espèces de tique de Suisse.

II. 2. Etude biologique

II. 2.1. Nutrition des tiques sur souris blanches

La souris est anesthésiée par une injection intramusculaire au Nembutal sodique (1/50), à raison de 0.1 ml par gramme de souris. La souris est munie d'un collier en plastique rigide pour l'empêcher de se gratter, puis placée sur un grillage déposé dans un bac de 23x13x12 cm. Le fond du bac est tapissé d'un papier absorbant en cellulose qui est examiné et changé tous les jours. Le bac est recouvert par une grille au travers de laquelle la souris peut accéder à l'eau et à la nourriture. Le bac contenant la souris infestée par les tiques est placé au-dessus d'une surface d'eau. Les tiques gorgées tombent au fond du bac, remontent le long des parois du bac et ensuite retombent dans l'eau. Les larves (300-400 larves par souris) et les nymphes (20-30 par souris) sont posées sur la tête et le dos du rongeur. Les femelles (1-2 par souris) sont posées dans une capsule amovible, fixée sur la nuque de la souris, derrière le collier. Après la fixation, la capsule est enlevée et les femelles gorgées sont récoltées, soit à la surface de l'eau, soit dans le fond de la cage.

II. 2.2. Nutrition des tiques sur lapins

Les tiques sont nourries sur les oreilles de lapins blancs de race néozélandaise. Les oreilles sont recouvertes par un manchon de tissu blanc, fixé à la base par une bande adhésive. Les tiques sont posées dans le manchon, qui est fermé au moyen de l'adhésif. Le lapin est également pourvu d'un collier pour éviter qu'il ne se gratte les oreilles. Les

tiques gorgées sont récoltées dans le manchon. Les nymphes et les femelles sont pesées immédiatement après leur détachement des oreilles du lapin.

II. 2.3. Maintien des phases libres

Les larves sont regroupées selon le jour du détachement dans des tubes de 5 cc. Pour assurer l'humidité relative élevée, nécessaire à la survie des tiques, ces tubes sont placés dans des boîtes en Polystérol transparent de 28x9x9 cm contenant un récipient d'eau de 7x7x7 cm rempli d'eau. Les nymphes et les adultes gorgés sont conservés individuellement dans des tubes séparés.

Les tiques sont gardées à l'obscurité, à la température ambiante du laboratoire.

II. 3. Etude épidémiologique

II. 3.1. Infection artificielle des nymphes par *B. burgdorferi*

Les nymphes sont fixées sur le dos, à l'aide d'une bande adhésive double face, dans une boîte de Petri. Le rostre (hypostome et chélicères) est enfilé dans un tube de verre capillaire rempli de milieu de culture (BSKII) contenant une concentration de spirochètes de 10^5 - 10^6 / ml. Les nymphes sont ensuite laissées durant 30-60 minutes à l'obscurité dans une étuve à 34°C .

La souche B31, considérée comme souche standard, d'origine américaine, maintenue au laboratoire a été utilisée pour l'infection des tiques.

Deux groupes de nymphes ont été infectés artificiellement:

- groupe 1: nymphes infectées avant le repas sanguin. Ces nymphes ont été placées sur le lapin 24 h après l'infection artificielle.
- groupe 2: nymphes infectées après le repas sanguin. Ces nymphes ont été posées sur les capillaires immédiatement après leur détachement du lapin.

II. 3.2. Transmission du spirochète à un animal de laboratoire

Après la mue nymphale, les femelles infectées sont posées sur des souris blanches selon la méthode décrite sous II. 2.1

II. 3.3. Détection des spirochètes chez la souris

La détection des spirochètes chez les souris a été effectuée par la méthode de la xénodiagnose: des larves non infectées d'*I. ricinus* (élevage de l'Institut de Zoologie à Neuchâtel), sont nourries sur ces souris, puis examinées une à deux semaines après leur détachement, par la méthode d'immunofluorescence directe pour la présence de *B. burgdorferi*.

II. 3.4. Détection des spirochètes chez les tiques par immunofluorescence directe (IFD)

Le principe de cette méthode est de faire réagir avec un antigène, des anticorps spécifiques, marqués par des composés fluorescents, pour former un complexe fluorescent visible en microscopie à lumière ultraviolette.

Les anticorps spécifiques sont obtenus à partir du sérum d'un lapin de race néozélandaise immunisé contre *B. burgdorferi* (souche B31); ils sont marqués au moyen d'isothiocyanate de fluorescéine (Peacock *et al.*, 1971), pour former le conjugué réagissant avec les antigènes de surface de *B. burgdorferi*.

II. 3.4.1. Préparation des lames

Les tiques adultes sont disséquées et des prélèvements des intestins et des ovaires sont étendus sur les "spots" de lames de microscopie téflonnées et dégraissées 48h avant la dissection. Les nymphes et les larves sont écrasées sur ces spots de la manière suivante: la tique est maintenue sur un spot, percée au niveau du scutum, puis vidée de son contenu par des mouvements de pression sur l'abdomen à l'aide d'une brucelle. Les

tissus sont séchés durant 12h-24h à 34°C. Les lames sont ensuite fixées à l'acétone pur durant 30 minutes. Le conjugué est ajouté sur chaque spot. Les lames sont ensuite incubées dans une chambre humide à 34°C pendant 30 minutes. Après 2 rinçages dans du PBS (Phosphate Buffered Saline: 0.15M, PH 7.3), les lames sont séchées sous ventilation puis montées dans de la glycérine tamponnée dans du PBS (9:1). La lecture des lames est effectuée en lumière ultraviolette et au grossissement 400x (Olympus BH-2).

RESULTATS

III. Résultats

Les résultats obtenus ont déjà été publiés.

Pour des raisons pratiques, seules les pages de titre désignant chacune des publications suivront la pagination de la thèse. Les numéros des pages des textes publiés seront donc indépendants de la thèse.

III. 1. Etude faunistique

III. 1. 1. Publication n° 1:

Toutoungi, L. N., Gern, L., Aeschlimann, A. & Debrot, S. (1991): A propos du genre *Pholeoixodes*, parasite des Carnivores en Suisse. *Acarologia* XXXII (4): 312-328.

III. 2. Etude biologique

III. 2. 1. Publication n°2:

Toutoungi, L. N., Gern, L. & Aeschlimann, A. (1993): Biology of *Ixodes (Pholeoixodes) hexagonus* under laboratory conditions. Part 1. Immature stages. *Experimental & Applied Acarology*, 17: 655-662

III. 2. 2. Publication n°3:

Toutoungi, L. N., Gern, L. & Aeschlimann, A. (1995): Biology of *Ixodes (Pholeoixodes) hexagonus* under laboratory conditions. Part II. Effect of mating on feeding and fecundity of females. *Experimental & Applied Acarology*, 19: 233-245

III. 3. Etude épidémiologique

III. 3. 1. Publication n°4:

Gern, L., Toutoungi, L. N., Hu, C. M. & Aeschlimann, A. (1991): *Ixodes (Pholeoixodes) hexagonus*, an efficient vector of *Borrelia burgdorferi* in the laboratory. Medical and Veterinary Entomology, 5: 431- 435.

III. 3. 2. Publication n°5:

Toutoungi, L.N. & Gern, L. (1993): Ability of transovarially and subsequent transstadially infected *Ixodes hexagonus* ticks to maintain and transmit *Borrelia burgdorferi* in the laboratory. Experimental & Applied Acarology, 17: 581-586.

III. Résultats

III. 1. Etude Faunistique

III. 1. 1. Publication n°1:

Toutoungi, L.N., Gern, L., Aeschlimann, A. & Debrot, S. (1991): A propos du genre *Pholeoixodes*, parasite des Carnivores sauvages en Suisse. *Acaraologia*, **XXXII** (4): 312-328

A PROPOS DU GENRE *PHOLEOIXODES*, PARASITE DES CARNIVORES EN SUISSE

PAR L. N. TOUTOUNGI *, L. GERN, A. AESCHLIMANN et S. DEBROT

TIQUES
PH. HEXAGONUS
PH. CANISUGA
PH. RUGICOLLIS
CARNIVORES

RÉSUMÉ : Une étude faunistique a été entreprise en Suisse sur trois espèces de tiques pholéophiles, parasites des carnivores sauvages. Il s'agit de *Ph. hexagonus*, *Ph. canisuga*, *Ph. rugicollis*.

Nous avons concentré nos recherches sur la répartition géographique, les hôtes et la nature de l'infestation.

Le matériel provient de la collection AESCHLIMANN et DEBROT du Musée Zoologique de Lausanne, ainsi que des tiques prélevées récemment sur des carnivores par le Centre de la rage à Berne.

La répartition de *Ph. hexagonus* recouvre la Suisse entière, au Nord comme au Sud des Alpes. On l'observe en altitude jusqu'à 1 380 m. Cette tique a été récoltée sur 15 espèces animales. Elle parasite surtout les renards et tous les Mustélidés, mais elle a également été souvent observée sur des animaux domestiques tels que le chat et le chien.

Ph. canisuga apparaît fréquemment sur le Plateau Suisse et dans le Jura. Cette espèce parasite essentiellement le renard et le blaireau.

L'existence en Suisse de *Ph. rugicollis*, espèce apparemment rare, est démontrée sur 2 fouines et un chat.

58 % des renards examinés et 87 % des Mustélidés sont infestés par une seule espèce de tique. Par contre 42 % de ces renards présentent des infestations mixtes avec plusieurs espèces de tiques, dans 18 % des cas il s'agit de *Ph. hexagonus* et *I. ricinus*.

TICKS
PH. HEXAGONUS
PH. CANISUGA
PH. RUGICOLLIS
CARNIVORES

ABSTRACT : A study concerning 3 tick species ectoparasitic on carnivora : *Pholeoixodes hexagonus*, *Ph. canisuga* and *Ph. rugicollis* was conducted in Switzerland.

Our research focused on the geographical distribution of these ticks and their hosts. The material was supplied from AESCHLIMANN's collection deposited in the Zoological Museum in Lausanne and from the Rabies Center in Bern.

Ph. hexagonus is spread all over the country up to 1 380 m. It was collected from 15 animal species, especially from foxes and Mustelidae. Domestic animals like dogs and cats were also found infested.

Ph. canisuga is widespread on the Swiss Plateau and in the Jura up to 900 m. It was mainly collected from foxes and badgers.

Ph. Rugicollis seems to be rare in Switzerland where it was recorded only three times, twice on a stone marten and once on a cat.

A monospecific infestation was observed in respectively 58 % and 87 % of the infested foxes and Mustelidae. *Ph. hexagonus* and *I. ricinus* were found simultaneously on the same host on 18 % of the foxes.

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

INTRODUCTION

La faune des tiques de Suisse, plus particulièrement le genre *Ixodes*, a déjà fait l'objet de plusieurs études (AESCHLIMANN *et al.*, 1965, 1968, 1970; GRAF *et al.*, 1979; COTTY *et al.*, 1986). Le rôle de vecteur d'agents pathogènes a également été évoqué à maintes reprises, surtout en ce qui concerne *I. ricinus*, la tique la plus commune du pays (AESCHLIMANN *et al.*, 1979; BURGDORFER *et al.*, 1983).

Le présent travail est une continuation des recherches de faunistique. Il est consacré aux tiques des Carnivores, spécialement aux espèces du genre *Pholeoixodes* qui, aux côtés d'*I. ricinus*, parasitent fréquemment ces animaux. Il s'agit de *Ph. hexagonus* (Leach, 1915), *Ph. canisuga* (Johnston, 1849) et *Ph. rugicollis* (Schulze et Schlottke, 1929).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Le matériel de base nous a été fourni par l'examen de la collection « Tiques de Suisse », rassemblée par AESCHLIMANN et déposée au Musée zoologique de Lausanne.

En outre, nous nous sommes référés au travail de thèse de DEBROT (1982), qui a examiné 94 Mustélidés infestés par des tiques. Enfin, le Centre de la rage à Berne nous a adressé, durant les années 1986-1988, des tiques vivantes prélevées sur 62 renards, 16 Mustélidés et 1 hérisson, provenant de différentes régions de Suisse. L'envoi de ce matériel nous a permis d'amorcer l'élevage de *Ph. hexagonus* et *Ph. canisuga*. Les conditions dans lesquelles ces 2 espèces sont maintenues en laboratoire feront l'objet d'une autre publication.

La détermination du genre et de l'espèce a été effectuée à partir des caractères morphologiques décrits par ARTHUR (1953, 1963), MOREL et PEREZ (1973, 1977), MOREL et AUBERT (1975).

RÉSULTATS

L'examen des collections AESCHLIMANN et DEBROT et les envois de Berne nous ont permis de répertorier

sur les Carnivores de Suisse 3 espèces pholéophiles : il s'agit de 3 *Pholeoixodes* : *Ph. hexagonus*, *Ph. canisuga*, *Ph. rugicollis*. Ils ont été prélevés sur des animaux sauvages et domestiques. Les détails relatifs à ces 3 espèces de tiques sont présentés dans les tableaux 1, 2 et 3.

Remarque : nous trouvons dans ce travail la liste complète des collections de *Pholeoixodes* rassemblées en Suisse par AESCHLIMANN et DEBROT. Nous n'avons cependant pas pu tenir compte de toutes les données, car certaines sont incomplètes. Parfois, dates ou lieux manquent, mais ce sont essentiellement les listes d'hôtes et les stades évolutifs des tiques qui ont retenu notre attention.

Répartition, hôtes, activité saisonnière

Ph. hexagonus

Ph. hexagonus a une large répartition dans la chaîne jurassienne et sur le Plateau suisse (Fig. 1). On l'observe également dans certaines régions préalpines jusqu'à une altitude de 1 380 m, ainsi qu'au Sud des Alpes, dans le canton du Tessin.

Cette espèce est signalée fréquemment sur le renard, le hérisson et les Mustélidés, et occasionnellement sur le chamois, le chevreuil, l'écureuil, le lièvre et la pie (Tableau 1). Sa présence est également rapportée sur des animaux domestiques tels que le chat et le chien. Notons que des stades libres (2 nymphes, 6 femelles et 7 mâles) ont été récoltés dans des souches creuses (Petit Saconnex, Genève).

Les nymphes et les femelles de *Ph. hexagonus* parasitent leurs hôtes durant toute l'année. En ce qui concerne les larves, nous ne possédons aucune donnée pour les mois de décembre et janvier.

Les mâles de *Ph. hexagonus* sont très peu nombreux dans le matériel que nous avons examiné (2.9 % de l'ensemble du matériel, sex ratio : 43M/507F = 0.08).

Ph. canisuga

La distribution de *Ph. canisuga* recouvre celle de *Ph. hexagonus* en plaine (Fig. 1). Cette tique a parfois été signalée dans les régions alpines. On ne



Fig. 1 : Distribution géographique de *Pholeioxodes hexagonus* (●), *Ph. canisuga* (★) et *Ph. rugicollis* (○) en Suisse.

TABLEAU 1 : Liste de *Ph. hexagonus*

DATE	LOCALITE	CANTON	L	N	F	M	HOTE
0.05	ORBE	(VD)					C.FAMILIARIS
01.07.08	LAUSANNE	(VD)			1		E.EUROPAEUS
01.07.08	LAUSANNE	(VD)		1			E.EUROPAEUS
14.04.09	LAUSANNE	(VD)			1		E.EUROPAEUS
18.04.09	JOGNY	(VD)					F.CATUS
	YVERDON	(VD)	1	1			E.EUROPAEUS
16.06.41	BERLINGEN	(TG)	9	19	2		M.PUTORIUS
10.01.42	ALTESTEHEN	(ZH)			3		M.PUTORIUS
15.04.43	BULACH	(ZH)		1			E.EUROPAEUS
01.07.43	STEBORN	(BL)		3	1		P.PUTORIUS
12.07.43	WINTERTHUR	(ZH)	6				M.FOINA
44				3			V.VULPES
44	GRANDSON	(VD)		3			V.VULPES
02.06.44	BASEL	(BL)	5	2	11		E.EUROPAEUS
02.06.44	BASEL	(BL)		1			E.EUROPAEUS
16.05.45	EBNAT	(SG)			6		E.EUROPAEUS
6.45	ZURICH	(ZH)		1			E.EUROPAEUS
46	YVERDON	(VD)	1	2			V.VULPES
46	YVERDON	(VD)	1	1			V.VULPES
10.08.46	LAUSANNE	(VD)			2		E.EUROPAEUS
46	YVERDON	(VD)		2			V.VULPES
15.04.53	BERCHER	(VD)			2		E.EUROPAEUS
28.11.53	MORGE	(VD)			1		V.VULPES
54	NEUCHATEL	(NE)	1				V.VULPES
19.10.59				4			E.EUROPAEUS
02.05.60	BASEL	(BL)			1		E.EUROPAEUS
4.06	ECHALLENS	(VD)		3			P.PUTORIUS
10.6	ECHALLENS	(VD)		3			M.PUTORIUS
61	GRANDSON	(VD)		2			P.PICA
12.61	MOUDON	(VD)		2			V.VULPES
26.03.61	OLTEN	(SO)		1	1		E.EUROPAEUS
04.62	OLTEN	(VD)		1			M.MELES
27.04.62	BASEL	(BL)					F.CATUS
10.05.62	YVERDON	(VD)					E.EUROPAEUS
28.05.62	CORMONDRECHE	(NE)					M.MELES
02.06.62	PRANGINS	(VD)		1			E.EUROPAEUS
16.07.62	BASEL	(BL)	13	27			M.ERMINA
01.08.62	YVERDON	(VD)		6			F.CATUS
01.09.62	LAUSANNE	(VD)	3	10			M.FOINA
09.62	LAUSANNE	(VD)	2	8			M.FOINA
07.01.63	DAILLENS	(VD)					V.VULPES
26.02.63	BOREX	(VD)					V.VULPES
04.63	MOIRY	(VD)			1		M.MELES
15.05.63	LAUTENBURG	(SG)					V.VULPES
27.05.63	GRANDSON	(VD)					V.VULPES
27.05.63	CORCELLES	(VD)			3		
19.06.63	COSSONAY	(VD)					M.FOINA

DATE	LOCALITE	CANTON	L	N	F	M	HOTE
13.07.63	DIZY	(VD)					V.VULPES
15.07.63	LAUSANNE	(VD)					E.EUROPAEUS
08.08.63	SEMPACH	(LU)					E.EUROPAEUS
10.09.63	GRANDSON	(VD)					M.FOINA
18.09.63	PETIT SACONNEX	(GE)		14	23		
27.10.63	DAILLENS	(VD)					V.VULPES
10.63	CASLANO	(TI)			1		F.CATUS
02.05.64	RAMISUHLE	(ZH)			2		V.VULPES
25.06.64	BASEL	(BL)					E.EUROPAEUS
19.09.64	GRANDSON	(VD)					M.FOINA
14.09.64	LAUSANNE	(VD)					M.FOINA
09.64	VOLLEGES	(VS)					V.VULPES
01.11.64	LAMPENBERG	(BL)					M.MELES
06.11.64	PETIT SACONNEX	(GE)		2	6	7	SOUCHE CREUSE
04.65	SISSACH	(BL)			1		M.MELES
05.03.65	ERNETSCHWIL	(SG)	2	2			V.VULPES
06.07.65	BERN	(BE)		5	4		C.FAMILIARIS
15.07.65	MELCHNAU	(BE)		1	1		V.VULPES
20.07.65	BERN	(BE)			1		C.FAMILIARIS
18.08.65	BERN	(BE)		2			E.EUROPAEUS
23.08.65	PULLY	(VD)			1		E.EUROPAEUS
31.08.65	LAUSANNE	(VD)		69	3		E.EUROPAEUS
31.08.65	NYON	(VD)			2		F.CATUS
29.09.65	AFFELTRANGEN	(TG)			1	1	M.MELES
05.11.65	OUCHY	(VD)		1			M.FOINA
17.11.65	GIPF-OBERFRICK	(AG)	1	1	1		V.VULPES
25.11.65	DIEDOENBOFEN	(TG)		6	5	5	V.VULPES
24.04.66	SISSACH	(BL)		4	1		V.VULPES
26.04.66	SISSACH	(BL)		4	1		V.VULPES
09.05.66	BUCHS	(SG)		31	10		M.FOINA
18.05.66	HUTWIL	(BE)		8			C.FAMILIARIS
24.05.66	HAGENDORF	(SO)		4			V.VULPES
20.06.66	CASLANO	(TI)			1		
01.07.66	HAGENDORF	(SO)		1			M.FOINA
05.07.66	PULLY	(VD)		4			M.FOINA
07.07.66	HALLAU	(SH)		15			M.FOINA
08.07.66	NEUHAUSEN	(SH)		1			V.VULPES
10.07.66	OBERIET	(SG)		1			M.FOINA
31.07.66	VICHER	(VS)			1		C.FAMILIARIS
09.08.66	BUCHS	(ZH)		1			V.VULPES
17.08.66	PULLY	(VD)		2	6		E.EUROPAEUS
20.08.66	JEGENSTROF	(BE)		11	7	1	E.EUROPAEUS
22.08.66	VANDOEUVRES	(GE)			1		C.FAMILIARIS
20.09.66					1		E.EUROPAEUS
23.09.66	GENEVE	(GE)			1		C.FAMILIARIS
03.10.66	GENEVE	(GE)			1		C.FAMILIARIS
05.10.66	SISSACH	(BL)		6			V.VULPES

TABLEAU I : Liste de *Ph. hexagonus*

DATE	LOCALITE	CANTON	L	N	F	M	HOTE
19.10.66	WABERN	(BE)		14			E.EUROPAEUS
24.10.66	LAUSANNE	(VD)		18	4		E.EUROPAEUS
29.10.66	MAGLIASO	(TI)			1		F.CATUS
03.11.66	TURBENTHAL	(ZH)		1			V.VULPES
14.11.66	SCHAFFAUSEN	(SH)		2			M.PUTORIUS
03.12.66	TURBENTHAL	(ZH)		1			V.VULPES
13.12.66	WEIT	(SG)		5	4	1	V.VULPES
17.12.66	ALTESTTEN	(ZH)		2			V.VULPES
19.12.66	CASLANO	(TI)			2		F.CATUS
06.01.67	GUTMADINGEN	(SH)		6	1		V.VULPES
06.11.67	BERINGEN	(SH)		1			V.VULPES
06.01.67	RIEL-GRABS	(SG)		16			V.VULPES
13.01.67	NEUNKIRCH	(SH)		2	1		V.VULPES
18.01.67	GUTMADINGEN	(SH)			3		V.VULPES
19.01.67	MORGE	(VD)		1			E.EUROPAEUS
24.01.67	GRABS	(SG)		4	3		V.VULPES
14.02.67	LINDAU	(ZH)			1		V.VULPES
14.02.67	ILLNAU	(ZH)		2			V.VULPES
13.03.67	DENTENBOURG	(BE)			6		V.VULPES
20.03.67	REGOLDSWIL	(BL)	5	1			M.MELES
19.04.67	WOLENSEE	(BE)		1			V.VULPES
24.04.67	HERZOGENBUCHSEE	(BE)			1		V.VULPES
27.04.67	LAUSEIN	(BL)	2	1			V.VULPES
03.05.67	DIELSDORF	(ZH)		6			V.VULPES
05.05.67	BURC	(SO)		11			V.VULPES
24.06.69	STEINEN	(SZ)		2			S.VULGARIS
06.69	OLSBERG	(AG)		1			E.EUROPAEUS
02.07.69	TEUFENTHAL	(AG)	6	1			M.FOINA
10.07.69	HERISAU	(AG)	1				M.FOINA
22.07.69	LUZERN	(LU)			3		C.FAMILIARIS
06.08.69	WELCHENROHR	(SO)			28		M.MELES
13.08.69	UNTERGGEN	(SG)		3	8		M.PUTORIUS
14.08.69	KILECHBERG	(ZH)			5		E.EUROPAEUS
15.08.69	BRETZWIL	(ZH)		1	2		M.MELES
16.08.69	EBNAT-KABEL	(SO)		4			V.VULPES
19.08.69	BARETSWIL	(ZH)		1			V.VULPES
23.08.69	FISHENTAL	(ZH)			1		M.FOINA
05.09.69	GANSINGEN	(AG)			1		V.VULPES
09.09.69	AATHAL	(ZH)			1		V.VULPES
11.09.69	RUTI	(ZH)		2			V.VULPES
16.09.69	RICKETWIL	(ZH)	3	3	1		M.MELES
16.09.69	RICKETWIL	(ZH)		5	3		M.MELES
17.09.69	NIEDERMUHLERN	(BE)			11		M.MELES
19.09.69	PFAEFFIKON	(ZH)	3				M.FOINA
24.09.69	ROSSEBERG-BANHALDEI	(ZH)		1			M.MELES
24.09.69	BAUMA	(ZH)		1			V.VULPES

DATE	LOCALITE	CANTON	L	N	F	M	HOTE
25.09.69	TENNIKEN	(BL)		2			V.VULPES
11.11.69	HUNIKON	(ZH)		1			V.VULPES
02.11.69	LAUPEN	(ZH)		1			V.VULPES
15.12.69	OBERCHRENDINGEN	(AG)		1	5		V.VULPES
06.01.70	LENZBOURG	(AG)					M.PUTORIUS
09.01.70	TROGEN	(AR)			7		M.FOINA
28.02.70	KALTBRUNN	(SG)		2	1		V.VULPES
27.03.70	WALFERTSWIL	(SG)	38	16	2		M.FOINA
03.04.70	HALDENSTEIN	(GR)			1		M.MELES
06.04.70	MUOLEN	(SG)			3		V.VULPES
17.04.70	AARBURG	(AG)		1			M.FOINA
25.04.70	ST.GALLEN	(SG)		1			V.VULPES
02.05.70	TOGGEN	(SZ)			1		V.VULPES
17.05.70	BRASIO	(GR)			12	2	M.MELES
23.05.70	HONEREGGIUZUACH	(SG)			4		V.VULPES
25.05.70	HALLAU	(SH)			1		M.FOINA
10.06.70	GRUB	(SG)			8		V.VULPES
17.06.70	ST.GALLEN	(SG)	1				M.FOINA
18.06.70	SHANIS	(SG)			2		V.VULPES
03.07.70	HAGENSHWIL	(SG)			1		V.VULPES
03.07.70	OBERMBRACH	(ZH)			1		C.CAPREOLUS
10.07.70	STEIN	(SG)		1	10		M.MELES
28.07.70	EBNAT-KAPPEL	(SG)			3		V.VULPES
30.07.70	KRUMENAU	(SG)			1		V.VULPES
18.08.70	WALD	(ZH)			1		V.VULPES
27.08.70	RUTCHI	(SG)			1		V.VULPES
15.09.70	MOGELSBURG	(SG)		2			V.VULPES
17.09.70	TOURDETREME	(FR)			1		M.ERMINA
29.09.70	WALD	(ZH)		2	13		V.VULPES
29.09.70	ZOLLIKOFEN	(BE)			1		C.FAMILIARIS
10.10.70	STEIN	(SG)		1	10		M.MELES
24.10.70	HEIDEN	(AR)		2	1		E.EUROPAEUS
31.10.70	ST.JOHANN	(SG)		2			M.MELES
14.12.70	KRUMMENAU	(SG)		2			V.VULPES
17.07.71	HELGISRIED	(BE)		3	7	1	E.EUROPAEUS
17.10.71	MUTTEN	(BL)			2		E.EUROPAEUS
18.12.71	IBACH	(SZ)			2		E.EUROPAEUS
26.03.72	ZIELBACH	(BE)	2				E.EUROPAEUS
73	SAVIGNY	(VD)			14		V.VULPES
73	BURSINS	(VD)			3		E.EUROPAEUS
29.08.73	BURSINS	(VD)		2			M.MELES
29.09.73	BURSINS	(VD)		2			M.MELES
15.02.74	CORRENDLIN	(JU)	3	4	1		F.CATUS
11.74	LINDEN	(BE)	5	14	2		M.FOINA
25.03.77	LES BRENETS	(NE)			11	20	V.VULPES
02.07.77	LA BREVINE	(NE)	1	1			M.ERMINA

TABLEAU 1 : Liste de *Ph. hexagonus*

DATE	LOCALITE	CANTON	L	N	F	M	HOTE
04.11.77	LE LOCLE	(NE)			1		M.ERMINA
01.05.78	VAL DE RUZ	(NE)	1	1			M.ERMINA
20.06.78	BREVINE	(NE)			1		M.ERMINA
14.08.78	VAL DE RUZ	(NE)			3		M.ERMINA
15.08.78	VAL DE RUZ	(NE)		24			M.ERMINA
26.03.79	PEUSEUX	(NE)		1			F.CATUS
28.03.79	VAL DE RUZ	(NE)	15				M.ERMINA
24.04.79	VAL DE RUZ	(NE)		1			M.ERMINA
27.04.79	VAL DE RUZ	(NE)	94	44			M.ERMINA
13.06.79	VAL DE RUZ	(NE)		1			M.ERMINA
03.07.79	LA BREVINE	(NE)			1		M.ERMINA
18.07.79	VAL DE RUZ	(NE)		1			M.ERMINA
28.08.79	VAL DE RUZ	(NE)			1		M.ERMINA
30.10.79	VAL DE RUZ	(NE)	7	6			M.PUTORIUS
04.12.79	VAL DE RUZ	(NE)			1		M.PUTORIUS
17.03.80	VAL DE RUZ	(NE)			1		M.ERMINA
12.04.80	VAL DE RUZ	(NE)	20				M.ERMINA
21.04.80	VAL DE RUZ	(NE)	8				M.ERMINA
23.04.80	VAL DE RUZ	(NE)		1			M.ERMINA
24.04.80	VAL DE RUZ	(NE)			2		M.ERMINA
25.04.80	VAL DE RUZ	(NE)		12	6		M.ERMINA
17.07.80	ECHALLENS	(VD)			1		M.FOINA
12.08.80	VAL DE RUZ	(NE)		1			M.ERMINA
14.08.80	VAL DE RUZ	(NE)		1			M.ERMINA
20.08.80	BALLENS	(VD)			1		M.FOINA
20.08.80	VILLARRS LE COMPTE	(VD)			1		M.FOINA
21.08.80	VAL DE RUZ	(NE)			1		M.ERMINA
23.09.80	VAL DE RUZ	(NE)		4			M.ERMINA
25.09.80	VAL DE RUZ	(NE)		2			M.ERMINA
03.10.80	LAUSANNE	(VD)			1		M.FOINA
07.10.80	VAL DE RUZ	(NE)			1		M.ERMINA
04.02.81	CHAVORNEY	(VD)			1		M.FOINA
23.03.81	DYENS	(VD)		1			M.FOINA
25.05.81	PALESIEUX	(VD)	1	1			M.FOINA
22.03.81	VAL DE RUZ	(NE)	1				M.ERMINA
24.04.81	VAL DE RUZ	(NE)			2		M.ERMINA
20.07.81	VAL DE RUZ	(NE)		1			M.ERMINA
22.07.81	VAL DE RUZ	(NE)		1			M.ERMINA
20.08.81	VAL DE RUZ	(NE)		1			M.ERMINA
25.02.82	BEVAIX	(NE)			1		M.PUTORIUS
13.03.86	ZEIHEN	(AG)			1		V.VULPES
12.03.86	RIEHEN	(BS)		1	1		M.FOINA
15.03.86	CORSIER	(GE)		1			V.VULPES
15.03.86	ANWIL	(GE)		1			V.VULPES
04.04.86	BEINWIL	(AG)			1		V.VULPES
08.04.86	CHARMEY	(FR)			1		V.VULPES
18.04.86	ESSERTINES	(VD)			1		V.VULPES

DATE	LOCALITE	CANTON	L	N	F	M	HOTE
23.04.86	SCHAFFHAUSEN	(SH)			1	1	V.VULPES
30.04.86	OBEREHRENDINGEN	(AG)			1		V.VULPES
13.05.86	MORAT	(BE)	3				V.VULPES
14.05.86	BELLACH	(SO)		16	2	2	P.PUTORIUS
22.05.86	THUNDORF	(TG)				2	V.VULPES
26.05.86	WALD	(AR)		1			V.VULPES
25.05.86	SAVIGNY	(VD)		1	1		V.VULPES
26.05.86	APPLES	(VD)			8		E.EUROPAEUS
24.05.86	SCHONGAU	(LU)		1	1		V.VULPES
01.06.86	LAUFELGEN	(BL)			1		V.VULPES
02.06.86	HALLAU	(SH)			1		V.VULPES
06.08.86	DALLIKON	(ZH)			4		M.MARTES
11.09.86	COUST	(BE)			1		M.FOINA
04.09.86	DEUSBEISEN	(AG)			2		V.VULPES
17.09.86	REBESTEIN	(SG)		5	6		P.PUTORIUS
14.10.86	BILTEN	(GL)			1		V.VULPES
15.11.86	WILEN	(TG)			1		V.VULPES
04.12.86	TRIMMS	(GR)			4		M.FOINA
06.12.86	HIRTWIL	(BE)		3	2		M.MARTES
17.01.87	RECONVILIER	(BE)			2		M.FOINA
27.01.87	KUHLEWIL	(BE)		1			V.VULPES
02.02.87	GRESSY	(VD)	5	9			V.VULPES
16.02.87	LOHN	(SH)		3	2		V.VULPES
13.03.87	FULLINGSORF	(BL)		6	2		V.VULPES
01.04.87	PURA	(TI)		3	6		V.VULPES
09.04.87	SONURICO	(TI)		3	3		
14.04.87	SATIGNY	(GE)			1		
22.04.87	RIDES GIETTES SERILERS	(VS)			1		V.VULPES
22.04.87	THERWIL	(BL)		1	2		
26.04.87	BOURRIGNON	(JU)	1	7	19		
30.04.87	SCHMIEDRUED	(AG)		1			V.VULPES
14.06.87	UNTERKULM	(AG)		1			V.VULPES
26.06.87	PAYERN	(VD)			6		V.VULPES
08.07.87	CHAUX DE FOND	(NE)			1		M.FOINA
23.06.87	AIGLE	(VD)		2			V.VULPES
03.08.87	VITZNAU	(LU)			1		V.VULPES
29.08.87	NODS	(BE)			1		M.FOINA
02.04.88	STECKBERN	(TG)			4		M.FOINA
03.04.88	BRUALZALGLI	(BE)		1			V.VULPES
14.04.88				9	5		V.VULPES
22.04.88				5	14		P.PUTORIUS
10.05.88					10		V.VULPES
27.05.88				1			M.FOINA
03.06.88					1		V.VULPES
24.06.88					14		P.PUTORIUS

l'a pas encore récoltée au Sud des Alpes. Elle semble liée à des altitudes peu élevées, en général entre 400 et 500 m d'altitude, mais peut parfois être observée jusqu'à 900 m. Signalons cependant une donnée concernant *Ph. canisuga* sur un chamois à 1 338 m.

Cette tique a été prélevée en Suisse sur 5 espèces d'hôtes, essentiellement sur le renard et le blaireau, mais également 2 fois sur la fouine, 1 fois sur le putois et 1 fois sur le chamois (Tabl. 2).

Les nymphes et les femelles de *Ph. canisuga* peuvent être observées durant toute l'année. Étant donné le faible nombre de larves présentes dans nos données, il ne nous est pas possible de connaître l'activité saisonnière de ce stade en Suisse.

Comme pour *Ph. hexagonus*, les mâles de *Ph. canisuga* sont rares dans le matériel examiné (0.48, sex ratio : 3M/429F = 0.007). Nous avons observé un seul cas *in copula*, sur le blaireau.

Ph. rugicollis

Des 3 *Phaleoixodes* sp., *Ph. rugicollis* est l'espèce la moins représentée dans nos données. Elle a été signalée en Suisse pour la première fois par ZIMMERLI (1982). Il s'agissait d'une femelle prélevée dans le canton de Vaud, à Bottens (Fig. 1). Cette première observation a pu être complétée par les 7 exemplaires qui nous sont parvenues de Pully (Vaud), de Branson (Valais) et de Combat la Biche (Berne) (Fig. 1). Ces tiques ont été récoltées à des altitudes diverses (422 m, 510 m et 1 036 m).

Dans le matériel que nous avons examiné, 2 nymphes et 4 femelles ont été récoltées sur des fouines et une femelle sur un chat (Tabl. 3).

Les faibles données concernant *Ph. rugicollis* ne nous permettent pas de connaître l'activité saisonnière de cette tique.

Infestation des hôtes principaux.

Le matériel fourni par le Centre de la rage à Berne et les données signalées par DEBROT (1982) nous ont permis d'étudier la nature des infestations de 2 groupes de Carnivores : renards et Mustélinés (infestation monospécifique ou mixte). Nous avons également tenu compte de la présence d'*I. ricinus* sur ces animaux.

a) Les renards

Les résultats présentés ici concernent uniquement les tiques envoyées par le Centre de la rage. Elles ont été prélevées sur 62 renards. Trois espèces ont été identifiées dans ce matériel : *Ph. hexagonus*, *Ph. canisuga* et *I. ricinus*.

Ph. hexagonus infeste 40/62 renards (64 %) et *Ph. canisuga* 22/62 individus (35 %). Quant à *I. ricinus*, il était présent sur 26/62 renards (42 %).

Trente six (58 %) des 62 renards considérés présentent une infestation monospécifique (Fig. 2). Ainsi, 15 d'entre eux (24 %) sont infestés uniquement par *Ph. hexagonus*, 7 (11 %) par *Ph. canisuga* et 14 (23 %) par *I. ricinus*. Les 26 restants (42 %) montrent des infestations mixtes (Fig. 2). Onze (18 %) sont infestés par *Ph. hexagonus* et *Ph. canisuga*, 11 (18 %) par *Ph. hexagonus* et *I. ricinus* et 1 (1.6 %) par *Ph. canisuga* et *I. ricinus* (Fig. 2). La présence simultanée des 3 espèces sur un même hôte a été signalée chez 3 renards seulement (4.8 %).

b) Les Mustélinés

Les données concernant l'infestation des Mustélinés proviennent du travail de DEBROT (1982) et également du Centre de la rage. Quatre espèces de tiques ont été répertoriées sur ces animaux : *Ph. hexagonus*, *Ph. canisuga*, *Ph. rugicollis* et *I. ricinus*.

Quatre-vingts (73 %) des 110 Mustélinés infestés par les tiques sont parasités par *Ph. hexagonus*, 18 (16 %) par *Ph. canisuga* et 1 seul individu (0.9 %) par *Ph. rugicollis*. *I. ricinus* est présent sur 27 (25 %) d'entre eux.

Quatre vingt seize individus (96/110) (87 %) sont infestés par une seule espèce, soit 68 (62 %) par *Ph. hexagonus*, 11 (10 %) par *Ph. canisuga*, et 17 (15 %) par *I. ricinus* (Fig. 2). L'infestation monospécifique est plus fréquente chez les Mustélinés que chez les renards, la différence observée est hautement significative ($X^2 = 13$, $P = 0.003$, $df = 1$). Non seulement les infestations mixtes chez les Mustélinés sont plutôt rares mais elles ne comprennent que 2 espèces. Ainsi, *Ph. hexagonus* et *Ph. canisuga* infestent 4 individus (4 %), *Ph. hexagonus* et *I. ricinus* sont présents sur 7 individus (6 %) et, sur 3 individus (3 %), *Ph. canisuga* est accompagné d'*I. ricinus* (Fig. 2).

TABLEAU 2 : Liste de *Ph. canisuga*

DATE	LOCALITE	CANTON	L	N	F	M	HOTE
.46	YVERDON	(VD)	1	3			V.VULPES
46	YVERDON	(VD)		2			V.VULPES
01.02.51	GENEVE	(GE)					V.VULPES
53	MORGES	(VD)			1		V.VULPES
12.61	MOUDON	(VD)		1			V.VULPES
62				2			V.VULPES
01.08.62	SISSACH	(BL)		3			M.MELES
28.03.62	CORMONDRECHE	(NE)					M.MELES
01.07.62	DAILLENS	(VD)		5			M.MELES
07.01.63	DAILLENS	(VD)			3		V.VULPES
26.03.63	DAILLENS	(VD)		1	3		V.VULPES
26.02.63	BOREX	(VD)					V.VULPES
27.03.63	CORCELLE	(VD)			3		V.VULPES
27.05.63	CORCELLE	(VD)		2	2		V.VULPES
30.05.63	DAILLENS	(VD)			14		V.VULPES
30.07.63	DAILLENS	(VD)		2	2		V.VULPES
27.02.63	DAILLENS	(VD)		1			V.VULPES
20.05.65	NYON	(VD)			3		M.MELES
03.09.65	BOTTINGEN	(BL)		3			M.MELES
29.09.65	AFFELTRANGEN	(TG)		5			M.MELES
25.11.65	DISSENHOFFEN	(TG)		3	19		V.VULPES
06.01.66	RICHSBERG	(BE)			2		V.VULPES
11.01.66	BALSTHAL	(SO)			1		M.MELES
	YVONAND	(VD)			8		V.VULPES
19.04.66	STEBORN	(TG)			1		V.VULPES
26.04.66	SISSACH	(BL)			1		V.VULPES
05.07.66	PULLY	(VD)					M.FOINA
05.07.66	PULLY	(VD)		2			M.FOINA
28.05.66	SISSACH	(BL)			1		M.MELES
14.12.66	MORIKEN	(AG)		1	1		V.VULPES
21.12.66	WINTERTHUR	(ZH)		4	3		V.VULPES
06.01.67	BERINGEN	(SH)			1		V.VULPES
11.01.67	BRUGWALD	(SG)	1				V.VULPES
11.01.67	BRUGWALD	(SG)			1		V.VULPES
18.01.67	GONTMADINGEN	(SH)		1	16		V.VULPES
26.01.67	EGG	(ZH)			1		M.FOINA
01.02.67	AMRISWIL	(TG)		1	2		V.VULPES
14.02.67	LINDAU	(ZH)		1	1		V.VULPES
17.02.67	BUCHS	(SG)			9		V.VULPES
23.02.67	HIRSCHTHAL	(AG)		1			V.VULPES
18.04.67	UTTLIGEN	(AG)			2		M.MELES
24.02.67	HERZOGBUCHSEE	(BE)		3	12		V.VULPES
02.05.67	BAVOIS	(VD)			3		M.MELES
05.05.67	REGENDSORF	(ZH)			2		V.VULPES
07.06.67	BERN	(BE)			2		V.VULPES

TABLEAU 2 : Liste de *Ph. canisuga*

DATE	LOCALITE	CANTON	L	N	F	M	HOTE
22.06.67	TRACHESWALD	(BE)		1			V.VULPES
30.06.67	BREMGATRENWALD	(BE)		1			V.VULPES
09.09.67	RENENS	(VD)		1			M.MELES
31.10.67	DURRENROTH	(BE)		1			V.VULPES
30.11.67	AIGLE	(VD)			12		V.VULPES
18.11.67	OBERTHAL	(BE)			1		V.VULPES
02.12.67	OBERWIL	(BE)		1			V.VULPES
06.12.67	LAUFENTHAL	(BE)			2		V.VULPES
06.12.67	LAUFENTHAL	(BE)			1		V.VULPES
06.12.67	ENGGISTEIN	(BE)			4		V.VULPES
	LIDDES	(VS)			1		
	ROLLE	(VD)			2		
12.12.67	HEROLFINGEN	(BE)	11	5			V.VULPES
12.12.67	HEROLFINGEN	(BE)		3			V.VULPES
12.12.67	BOWIL	(BE)		2	1		V.VULPES
12.12.67	GIMEL	(VD)			1		V.VULPES
17.12.67	LANGAU	(BE)			2		V.VULPES
20.02.68	ROLLE	(VD)			2		V.VULPES
22.02.68	YVONNAND	(VD)			11		V.VULPES
22.02.68	BOUDRY	(NE)	1	1	12		V.VULPES
24.02.68	LIDDES	(VS)			1		R.RUPICAPRA
28.02.68	NOVILLE	(VD)		1	2		V.VULPES
01.03.68	CULLY	(VD)			1		V.VULPES
07.01.69	RUMLONG	(ZH)		9	37		V.VULPES
17.01.67	LENGNAU	(AG)			2	1	V.VULPES
11.01.69	RUTI	(ZH)		3	2		V.VULPES
20.01.69	WETTINGEN	(AG)			2		V.VULPES
25.01.69	WURENLOS	(AG)		2	2		V.VULPES
27.01.69	ROGGWIL	(TG)		2	4		V.VULPES
10.02.69	SCHNEISSINGEN	(AG)			1		V.VULPES
28.02.69	UNTEREGGEN	(SG)			1		V.VULPES
13.03.69	RUTI	(ZH)			1		V.VULPES
15.03.69	WURENLOS	(AG)			7		V.VULPES
18.03.69	WIRENLINGEN	(AG)		3	6		V.VULPES
19.04.69	WERETSHAUSEN	(ZH)		2	2		V.VULPES
06.05.69	WETTINGEN	(AG)			1		V.VULPES
19.05.69	WALD	(ZH)		1			V.VULPES
22.05.69	RAMISMUHL	(ZH)			2		V.VULPES
24.05.69	DOTTINGEN	(AG)		1			V.VULPES
30.05.69	REINACH	(AG)			1		V.VULPES
05.06.69	SCHLOSSTERED	(AG)			3	2	M.MELES (1 cop)
19.06.69	GENEVE	(GE)		1			V.VULPES
27.06.69	USTER	(ZH)		1			V.VULPES
20.08.69	MONTHA	(AG)		1			V.VULPES
16.09.69	RICKETWIL	(ZH)		5	3		M.MELES
08.12.69	UNTEREGGEN	(SG)			2		V.VULPES
02.11.69	STEINMAUR	(ZH)			2		V.VULPES

TABLEAU 2 : Liste de *Ph. canisuga*

DATE	LOCALITE	CANTON	L	N	F	M	HOTE
15.12.69	OBERSCHRHINGEN	(AG)			3		V.VULPES
28.06.70	ABTWIL	(SG)			2		V.VULPES
17.01.70	GOTLSCHAUS	(TG)			1		V.VULPES
08.01.70	ST.CHRISCHANBIL	(BS)			1		V.VULPES
24.03.70	ERNENSWIL	(SG)			2		V.VULPES
03.04.70	WITTENBACH	(SG)			9		V.VULPES
03.04.70	ST.GALLEN	(SG)			1		V.VULPES
30.05.70	JONA	(SO)			1		V.VULPES
17.07.70	WALDKICH	(SG)			4		V.VULPES
14.07.70	ST.GALLEN	(SG)			3		V.VULPES
11.08.70	SALMSACH	(TG)			1		V.VULPES
13.07.72	LES BERGERS	(?)	3				M.MELES
14.06.73	GRANGES	(VD)			1		V.VULPES
29.08.73	BURSINS	(VD)	6				M.MELES
10.05.74	GRANGES	(VS)	1	3			V.VULPES
27.05.74	RECHTHALTON	(?)	3				V.VULPES
05.02.75	KIRCHENTHUR	(BE)		15	40		V.VULPES
20.09.76	CHIETRE	(FR)		4			M.MELES
	GIPF	(AG)	2				V.VULPES
11.03.86	LIELI	(LU)		9	1		V.VULPES
13.03.86	ZEHEN	(AG)			3		V.VULPES
15.03.86	CORSIER	(GE)			1		V.VULPES
27.03.86	VILMERGEN	(AG)			1		V.VULPES
02.07.86	PAYERN	(VD)		2	4		V.VULPES
02.07.86	MONFOUX	(VD)			5		M.MELES
26.05.86	SCHONGAU	(LU)		1			V.VULPES
15.07.87	BALZERS	(FL)			2		V.VULPES
27.01.87	KUHLEWIL	(BE)			8		V.VULPES
02.02.87	GRESSY	(VD)		13	38		V.VULPES
13.03.87	FULLINGSDORF	(BL)		1	3		V.VULPES
17.03.87	LENZBURG	(AG)			6		V.VULPES
28.03.87	RHEINFELDEN	(AG)			1		V.VULPES
14.04.87	STAGNY	(GE)		1	1		
22.04.87	THERWIL	(BL)			3		
26.04.87	BOURRIGNON	(JU)			2		
01.05.87	SCHMIEDRUED	(AG)			1		V.VULPES
18.09.87	MURAZ	(VS)			9		V.VULPES
18.02.88	WALTALINGEN	(ZH)			1		V.VULPES
03.04.88	BRUALZALGLI	(BE)			6		V.VULPES
18.08.88					7		V.VULPES
20.04.88				16			P.PUTORIUS

TABEAU 3 : Liste de *Ph. rugicollis*.

DATE	LOCALITE	CANTON	L	N	F	M	HOTE
04.05.73	BRANSON	(VS)			1		F.CATUS
05.07.66	PULLY	(VD)		2			M.FOINA
21.11.90	LA CHAUX d'ABEL	(BE)			4		M.FOINA

Deux fouines parasitées par *Ph. rugicollis* présentent les deux types d'infestations : une monospécifique et une mixte avec *Ph. hexagonus* (Table. 3).

DISCUSSION

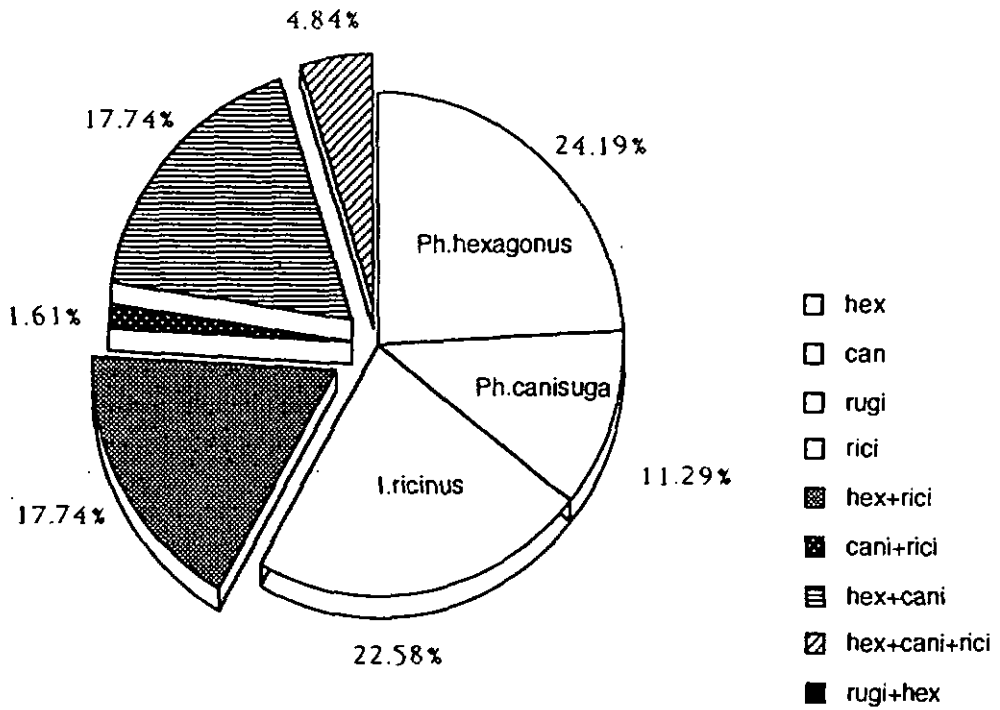
Trois espèces de tiques pholéophiles ont fait l'objet de ce travail, soit *Ph. hexagonus*, *Ph. canisuga* et *Ph. rugicollis*. Toutes sont monotropes et triphasiques, c'est-à-dire que les trois stades évolutifs se nourrissent du sang de mêmes groupes d'hôtes. Elles sont endophiles, vivant à l'intérieur des galeries et des terriers, à proximité de l'hôte et à l'abri des brusques changements climatiques externes.

Ph. hexagonus est l'espèce pholéophile la plus répandue sur le territoire suisse, bien que sa distribution touche surtout le Jura et le Plateau. Elle peut être observée à une altitude relativement élevée, puisqu'on note sa présence jusqu'à 1 380 m. GILOT et AUBERT (1985) l'ont récoltée en France à des altitudes maximales de 1 800 et 2 500 m. En fait, en Suisse, sa répartition géographique recouvre en grande partie celle de ses hôtes principaux, le renard et le hérisson. Le renard est cependant présent tout au long de la chaîne alpine jusqu'à 3 000 m (WANDELER, 1988) alors que cette tique est quasiment absente en haute altitude. Par contre, on constate une assez bonne corrélation entre la répartition de *Ph. hexagonus* et celle du hérisson. Dans notre pays, il occupe en général des régions de basses altitudes (BERTHOUD, 1988), s'étendant de la chaîne jurassienne au pied des Préalpes. On le rencontre également dans la vallée du Rhône jusqu'à Sierre ainsi qu'au Sud des Alpes (WANDELER, 1988).

Ph. hexagonus est à la fois la tique la plus fréquente dans le matériel examiné et celle qui parasite le plus large spectre d'hôtes (15 espèces). ARTHUR (1953) cite également sa présence sur de nombreuses espèces animales. Nous constatons cependant une certaine préférence pour le renard, d'ailleurs mentionnée par d'autres auteurs (AUBERT, 1975; HARRIS et THOMPSON, 1978). A côté du renard, le hérisson représente également un hôte traditionnel de *Ph. hexagonus* (ARTHUR, 1953; 1963; GILOT et AUBERT, 1985). Chez les Mustélidés, cette tique est décrite comme la plus fréquente sur la fouine (ZIMMERLI, 1982), sur l'hermine (DEBROT, 1982), et sur le putois (MERMOD, *et al.*, 1983). L'infestation des animaux domestiques a été signalée par certains auteurs (ARTHUR, 1953; AESCHLIMANN *et al.*, 1963; GIROUD *et al.*, 1965; THOMPSON, 1972; GILOT et AUBERT, 1985). Nous-mêmes avons observé *Ph. hexagonus* sur des chiens et des chats, hôtes relativement fréquents pour cette tique.

Ph. hexagonus vit aussi bien dans des terriers profonds que dans des nids en position superficielle, comme ceux des hérissons (ARTHUR, 1953; AUBERT, 1983). Notons ici, pour la première fois en Suisse, l'observation des stades libres de cette tique dans des souches creuses. D'autre part, si l'on se réfère à GILOT et AUBERT (1985), *Ph. hexagonus* peut réagir très rapidement au passage de l'hôte pour tenter de s'y fixer. Ces particularités biologiques et comportementales lui assurent une large dispersion géographique et la rendent susceptible de parasiter un important spectre d'hôtes. Ainsi peut-on comprendre l'infestation occasionnelle de chats, de chiens et de certains animaux sauvages tels que le chamois, le chevreuil, le lièvre, l'écureuil et la pie.

Renards



Mustélidés

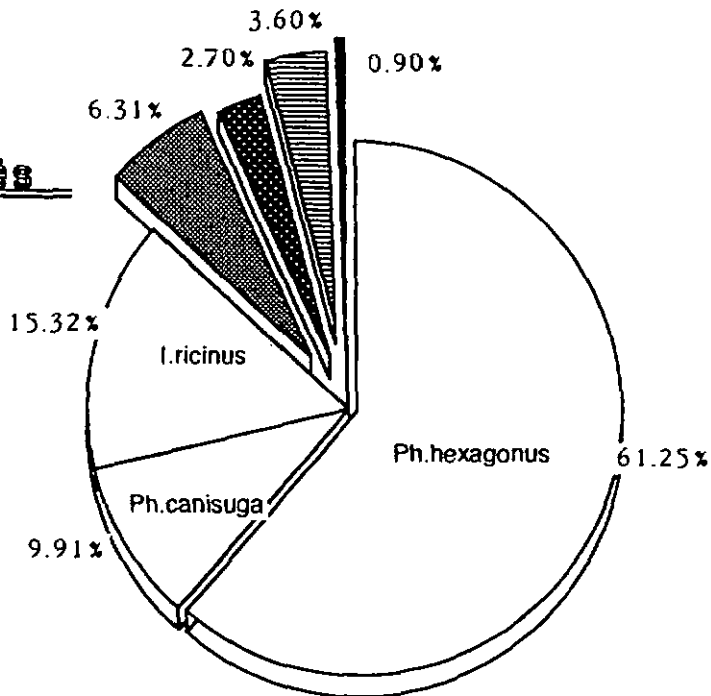


FIG. 2 : Infestations des renards et des Mustélidés par différentes espèces de tiques

Selon nos observations, les nymphes et les femelles de *Ph. hexagonus* se rencontrent sur leurs hôtes durant toute l'année. Il ne semble donc pas y avoir de diapause hivernale ni estivale. GILOT et AUBERT (1985) ne signalent que peu d'infestations au mois de juillet, sans cependant en tirer de conclusions quant à la présence d'une diapause estivale.

Ph. canisuga est moins abondant dans le matériel examiné que *Ph. hexagonus*. Il montre une répartition importante jusqu'à 900 m d'altitude. En France, AUBERT (1983) cite cette espèce jusqu'à 1 000 m. La présence de cette tique est limitée à une altitude inférieure à 1 000 m si on fait exception de l'unique exemplaire prélevé à 1 338 m, sur un chamois. Mais on sait que cet animal descend volontiers en plaine pendant une partie de la journée (HAINARD, 1961), il est probable qu'il a transporté la tique en regagnant les hautes altitudes. La distribution géographique de *Ph. canisuga* recouvre celle du renard en ce qui concerne le Jura et le Plateau. L'espèce n'a été trouvée que rarement dans les Alpes, surtout dans les vallées alpines et jamais au Tessin, où le renard est cependant présent.

Dans le matériel que nous avons examiné, la présence de *Ph. canisuga* est fréquemment signalée sur le renard et le blaireau, occasionnellement sur le putois et la fouine, accidentellement sur le chamois. En Suisse, il n'a jamais été mentionné sur des chats et des chiens, contrairement à ce qui a été décrit par ARTHUR (1963), SMITH (1979), HESSE et VÖLKER (1984), GILOT et AUBERT (1985) dans d'autres pays.

Cette tique se rencontre surtout sur des hôtes ayant des terriers bien constitués et saturés en humidité, comme ceux du renard et du blaireau. (HAINARD, 1961 ; BLAZER, 1975). Elle colonise essentiellement les galeries les plus profondes des terriers (AUBERT, 1983) et réagirait moins rapidement aux stimuli de l'hôte que ne le fait *Ph. hexagonus* (GILOT et AUBERT, 1985). Ces observations pourraient expliquer que l'on rencontre cette espèce moins fréquemment et sur un nombre plus restreint d'hôtes que *Ph. hexagonus*.

Les nymphes et les femelles de *Ph. canisuga* sont présentes durant toute l'année sur leurs hôtes ; il n'y a donc pas de diapause, ce que confirment les résultats obtenus par AUBERT (1975).

La troisième espèce pholéophile, *Ph. rugicollis*, est beaucoup plus rarement rencontrée que les deux autres. En France, MOREL et AUBERT (1975) citent cette tique sur la fouine et sur le renard. Ces deux auteurs signalent également la présence d'une femelle de *Ph. rugicollis* sur un putois à Ccfa, en Roumanie. En Suisse, elle a été signalée 3 fois sur la fouine, et elle a également été prélevée sur un chat dans le canton du Valais. C'est, à notre connaissance, la première mention de la présence de cette tique sur un animal domestique.

Le matériel examiné ne contient qu'un petit nombre de mâles de *Ph. hexagonus* et de *Ph. canisuga*. On peut en conclure, comme c'est d'ailleurs souvent la règle pour les espèces du genre *Ixodes*, que la rencontre des sexes et la copulation s'effectuent dans la nature, en dehors de l'hôte. Ceci est en accord avec les observations d'AUBERT (1975), GRAF (1978) pour *I. ricinus*, et GRAF *et al.*, (1979) pour *I. trianguliceps*.

Dans la majorité des cas, l'infestation des renards et des Mustélidés par les tiques est monospécifique (58 %, 87 %). Cependant, l'infestation monospécifique est statistiquement plus fréquente chez les Mustélidés que chez les renards. Ceci est certainement lié aux comportements différents des 2 groupes de Carnivores. Selon MERMOD et MARCHESI (1988), les Mustélidés se réfugient dans des terriers souterrains, profitant des trous naturels dans le sol ou dans les murs. Ils établissent leurs nids à un niveau proche du sol sous les souches et les racines, dans les souches creuses, dans des taillis de bois, des tas de branchages ou de foin, dans la paille, voire dans les constructions humaines. Certains auteurs ont mis en évidence des stades libres de *Ph. hexagonus* dans des milieux similaires (ARTHUR, 1953 ; ROMAN *et al.*, 1973 ; GILOT et AUBERT, 1985). Cependant *Ph. canisuga* n'a pas été signalé par ces auteurs dans ces mêmes milieux naturels. Ces biotopes offrent donc à *Ph. hexagonus* surtout, les conditions nécessaires à sa survie, mais ne permettent pas à *Ph. canisuga* de s'y développer. Cette tique semble préférer des milieux profonds et humides (galeries, grottes, terriers du renard et du blaireau). La contamination occasionnelle du putois et de la fouine par *Ph. canisuga* pourrait s'expliquer par leur refuge et leur passage dans des terriers de

renard (MERMOD et MARCHESI, 1988). Ce dernier, en plus de ces terriers et à l'exception de la période de reproduction, fréquente des biotopes très variés et plutôt ouverts (BLAZER, 1975 ; WANDELER, 1988). D'ailleurs, la présence d'*I. ricinus* chez 42 % des renards et chez seulement 25 % des Mustélidés témoigne de cette différence de comportement.

Les infestations mixtes avec *I. ricinus* nous indiquent que ces tiques pourraient jouer un rôle non négligeable dans la transmission de certains agents pathogènes en rapprochant des chaînes épidémiologiques différentes. En effet, d'une part, on a pu, à partir de *Ph. hexagonus* isoler le virus FSME de l'encéphalite à tique (KRIVANEC *et al.*, 1988), d'autre part, LIEBISCH *et al.*, (1989) ont mis en évidence le spirochète *Borrelia burgdorferi*, responsable de la maladie de Lyme, dans *Ph. hexagonus*. Le rôle *Ph. hexagonus* comme vecteur de *B. burgdorferi* a d'ailleurs été démontré dans notre laboratoire (GERN *et al.*, 1991).

REMERCIEMENTS

Ces résultats font partie de la thèse de L. N. TOUTOUNGI. Cette recherche a été en partie soutenue par le Fonds National Suisse de la Recherche Scientifique, à qui va notre reconnaissance.

Nous remercions le Dr WANDELER, du Centre de la rage à Berne et N. LACHAT de l'Institut de Zoologie de Neuchâtel, de nous avoir fourni le matériel indispensable pour ce travail, ainsi que le Professeur P. GOELDLIN, du Musée Zoologique de Lausanne, pour nous avoir donné accès à la collection Aeschlimann. Nous remercions également T. CORDAS de sa précieuse collaboration pour la détermination des espèces.

BIBLIOGRAPHIE

- AESCHLIMANN (A.), BÜTTIKER (W.), ELBL (A.) & HOOGSTRAAL (H), 1965. — A propos des tiques de Suisse (*Arachnaidea*, *Acarina*, *Ixodoidea*). — *Rev. Suisse Zool.*, 72 : 577-583.
- AESCHLIMANN (A.), BÜTTIKER (W.), DIEHL (P. A.), EICHENBERGER (G.) & WEISS (N.), 1970. — Présence d'*Ixodes trianguliceps* (Birula, 1895) et d'*Ixodes apranapharus* (Schultz, 1924) en Suisse (*Ixodoidea*, *Ixodidae* — *Mitt. Schweiz. Ent. Ges.*, LII (4) : 317-320.
- AESCHLIMANN (A.), BÜTTIKER (W.), 1975. — Importation de tiques en Suisse. — *Bull. Soc. Ent. Suisse*, 48 : 69-75.
- AESCHLIMANN (A.), BURGDORFER (W.), MATILE (H.), PETER (O.) & WYLER (R.), 1979. — Aspects nouveaux du rôle de vecteur joué par *Ixodes ricinus* (L.) en Suisse. — *Acta Trop.*, 36 : 181-191.
- AESCHLIMANN (A.), SCHNEEBERGER (S.), PFISTER (K.) BURGDORFER (W.), & COTTY (A.), 1982. — Données nouvelles sur les tiques Ixodides du canton du Tessin (Suisse) et sur la présence d'agents rickettsiens dans leur hémolymphe. — *Annu. Soc. Helv. Sci. Nat.*, (partie scientifique), 1 : 58-68.
- ARTHUR (D. R.), 1953. — The host relationships of *I. hexagonus* Leach in Britain. — *Parasitology*, 43 : 227-238.
- ARTHUR (D. R.), 1963. — *British Ticks*. — Butterworth, Londres, 213 pp.
- AUBERT (M. F. A.), 1975. — Contribution à l'étude des ectoparasites du renard (*Vulpes vulpes*) par les *Ixodidae* (*Acarina*) dans le Nord-Est de la France. — *Acarologia*, 17 : 452-479.
- AUBERT (M. F. A.), 1983. — Contribution à l'étude des ectoparasites du renard et d'autres Carnivores sauvages de l'Est de la France et à l'étude du rôle des Arthropodes dans l'épizootie de la rage vulpine. — Thèse Doctorat d'État Sciences Naturelles, Faculté des Sciences, Nancy I, 346 pp.
- BERTHOUD (G.), 1988. — *Erinaceus europaeus* L., 1758. In : Atlas des Mammifères de Suisse. Répartition de douze espèces de Mammifères en Suisse. — Société Suisse pour l'étude de la faune sauvage, Lausanne, 9-13.
- BLAZER (H.), 1975. — Les renards et les blaireaux. — Payot, Lausanne, Atlas visuel 3 : [64] pp.
- BURGDORFER (W.), BARBOUR (A. G.), HAYES (S. F.), PÉTER (O.) & AESCHLIMANN (A.), 1983. — Erythema chronicum migrans a tickborne spirochetosis. — *Acta Tropica*, 40 : 79-83.
- DEBROT (S.), 1982. — Écologie de *Mustela erminea* L : dynamique des composantes structurales trophiques et parasitaires de deux populations. — Thèse de doctorat non publiée. Univ. Neuchâtel, 279 pp.
- COTTY (A.), AESCHLIMANN (A.), SCHNEEBERGER (S.), 1986. — Distribution et fluctuation de populations d'*Ixodes ricinus* (L.), *Haemaphysalis punctata* (Ca. & Fanz.) et *Dermacentor marginatus* (Sulzer) (*Acarina*, *Ixodoidea*). — *Bull. Soc. Ent. Suisse*, 59 : 139-150.

- GERN (L.), TOUTOUNGI (L. N.), HU (C. M.) & AESCHLIMANN (A.), 1991. — *Ixodes (Pholeioxodes) hexagonus*, an efficient vector of *Borrelia burgdorferi* in the laboratory. — *Med. Vet. Entomol.* (In press).
- GILOT (B.) & AUBERT (M. F. A.), 1985. — Les Ixodidae (Acaïens, Ixodoidea) parasites des Carnivores sauvages dans les Alpes françaises et leur avant pays. — *Acarologia*, 26 : 215-233.
- GIROUD (P.), CAPPONI (M.) DUMAS (N.) & RAGEAU (J.), 1965. — Les *Ixodes ricinus* et *hexagonus* de France contiennent des agents rickettsiens. — *C. R. Acad. Sc. Paris*, 260 : 4874-4876.
- GRAF (J. F.), 1978. — Copulation, nutrition et ponte chez *Ixodes ricinus* L. (*Ixodoidea* : *Ixodidae*). 3^e partie. — *Bull. Soc. Ent. Suisse*, 51 : 343-360.
- GRAF (J. F.), MERMOD (C. PH.) & AESCHLIMANN (A.), 1979. — Nouvelles données concernant la distribution, l'écologie et la biologie d'*Ixodes trianguliceps* en Suisse. — *Bull. Soc. Neuchâteloise Sci. Nat.*, 102 : 54-68.
- HAINARD (R.), 1961. — Les Mammifères sauvages d'Europe. — Delachaux & Niestlé, Neuchâtel. 1 [320] pp.
- HARRIS (S.) & THOMPSON (G.), 1978. — Populations of the ticks *Ixodes (Pholeioxodes) hexagonus* and *Ixodes (Pholeioxodes) canisuga* infesting suburban foxes, *Vulpes vulpes*. — *J. Zool.*, 186 : 83-93.
- HESSE (G. H.) & VÖLKER (K.), 1984. — *Ixodes (Pholeioxodes) canisuga (Ixodoidea : Ixodidae)* : Parasite des Rotfuchses (*Vulpes vulpes* L.) im Bonner Raum (Nordrhein Westfalen). — *Z. Angew. Zool.*, 4 : 503-504.
- MERMOD (C. PH.), DEBROT (S.), MARCHESI (P.) & WEBER (J. M.), 1983. — Le putois (*Mustela putorius* L.) en Suisse romande. — *Rev. Suisse Zool.*, 90 : 847-856.
- MERMOD (C. PH.) & MARCHESI (P.), 1988. — Les petits carnivores. Payot, Lausanne, Atlas visuel, 19 : [64] pp.
- MOREL (P. C.) & PEREZ (C.), 1973. — Morphologie des stades préimaginaux des *Ixodidae* s. str. d'Europe occidentale. II. Les larves des *Pholeioxodes* Schulze, 1942. — *Cah. O.R.S.T.O.M.*, 11 (4) : 275-284.
- MOREL (P. C.) & PEREZ (C.), 1973. — Morphologie des stades préimaginaux des *Ixodidae* s. str. d'Europe occidentale. III. Les nymphes des *Pholeioxodes* Schulze, 1942. — *Cah. O.R.S.T.O.M.*, 11 (4) : 285-291.
- MOREL (P. C.) & AUBERT (M. F. A.), 1975. — Contribution à la connaissance de *Pholeioxodes rugicollis* (Schulze et Schlottke, 1929) (*Acarina, Ixodino*). — *Cah. O.R.S.T.O.M.*, 13 : 99-109.
- MOREL (P. C.) & PEREZ (C.), 1977. — Morphologie des stades préimaginales des *Ixodidae* s. str. d'Europe occidentale. V. Les larves des *Ixodes* s. str. — *Acarologia*, 19 (3) : 395-398.
- ROMAN (E.), LU (H. T.) & PICTOT (J.), 1973. — Étude biogéographique et écologique sur les tiques (Acaïens, *Ixodoidea*) de la région lyonnaise. — *Bull. Soc. Linn. Lyon*, n^o spécial : 63-73.
- SMITH (M. V.), 1972. — The life history of *Ixodes canisuga* (Johnston 1849) under laboratory conditions. — *Ann. trop. Med. Parasit.*, 66 (2) : 281-286.
- THOMPSON (G.), 1972. — Records of ticks (*Ixodoidea*) from Lancashire and Cheshire. — *Lancs. Chesh. Fauna Soc. Publ.*, 61 : 22-25.
- WANDELER (A.), 1988. — *Vulpes vulpes* L., 1758. In : Atlas des Mammifères de Suisse. Répartition de douze espèces de Mammifères en Suisse. — Société Suisse pour l'étude de la faune sauvage, Lausanne : 61-65.
- ZIMMERLI (J.), 1982. — Étude des parasites de la fouine (*Martes foina*) dans le canton de Vaud durant la période 1980-1981. — Thèse de doctorat non publiée. Univ. de Berne, 101 pp.

Paru en Décembre 1991.

III. Résultats

III. 2. Etude biologique

III. 2. 1. Publication n° 2:

Toutoungi, L.N., Gern, L. & Aeschlimann, A. (1993): Biology of *Ixodes* (*Pholeoixodes*) *hexagonus* under laboratory conditions. Part. I. Immature stages. Exp. Appl. Acarology, **17**: 655-662

Biology of *Ixodes (Pholeoixodes) hexagonus* under laboratory conditions. Part I. Immature stages

L.N. Toutoungi, L. Gern and A. Aeschlimann

Institute of Zoology, University of Neuchâtel, CH-2000 Neuchâtel, Switzerland

(Accepted 15 September 1993)

ABSTRACT

Toutoungi, L. N., Gern, L. and Aeschlimann, A. 1993. Biology of *Ixodes (Pholeoixodes) hexagonus* under laboratory conditions. Part I. Immature stages. Exp. Appl. Acarol., 17: 655–662.

A rearing method for *Ixodes (Pholeoixodes) hexagonus*, the hedgehog tick, was established which enabled the life cycle of immature stages to be studied under laboratory conditions. Larvae were fed on Swiss mice and nymphs on the ears of New Zealand rabbits. The feeding time of the larvae and nymphs on both hosts was 4–17 days. Larvae moulted to nymphs 15–21 days after detachment from mice. The premoult period was 13–26 days for newly emerged males and 15–27 days for females. Engorged nymphs which developed into males weighed less (5.64 ± 0.91 mg) than those that developed into females (6.019 ± 0.88 mg). The sex ratio (male: female) under laboratory conditions was 1:1.13.

INTRODUCTION

Ixodes (Pholeoixodes) hexagonus is one of the most widespread tick species in Europe (Morel 1965). The main hosts are hedgehogs (Arthur, 1953, 1963), foxes (Aubert, 1975; Harris *et al.*, 1978; Gilot *et al.*, 1985; Toutoungi *et al.*, 1991) and the Mustelidae (Gilot *et al.*, 1985; Mermod *et al.*, 1983; Toutoungi *et al.*, 1991). Domestic animals, *e.g.* cats and dogs, are often infested with this tick species (Arthur, 1953; Aeschlimann *et al.*, 1986; Liebisch *et al.*, 1989; Toutoungi *et al.*, 1991). In Switzerland, *I. hexagonus* is the most abundant tick species after *I. ricinus* (Aeschlimann *et al.*, 1965).

I. hexagonus is probably involved in the epidemiology of tick-borne encephalitis (Streissle, 1960; Krivanec *et al.*, 1988) and it was found to harbour *Borrelia burgdorferi*, the aetiologic agent of Lyme borreliosis (Liebisch *et al.*, 1989). Recently under laboratory conditions, *I. hexagonus* was shown to transmit *B. burgdorferi* transovarially and transstadially and to induce an infection in mice (Gern *et al.*, 1991). Despite the potential importance of *I. hexagonus* as a vector of

important human pathogens, comparatively little is known of the life cycle of this tick (Morel, 1965). In this paper we describe a method which has allowed us to establish and maintain a colony of *I. hexagonus* under controlled laboratory conditions and thereby examine the biology of the immature stages from larvae to newly emerged adults.

MATERIALS AND METHODS

The colony was initiated using larvae derived from an engorged female collected on a polecat (*Mustela putorius*), and with nymphs removed from red foxes (*Vulpes vulpes*) from Switzerland. Larvae were fed on Swiss mice, while nymphs were fed on the ears of New Zealand rabbits. White mice were anaesthetized by intramuscular injection of Pentobarbital (Vetanarcol, Veterinary AG; Zürich) diluted with NaCl solution (1/50), 0.1 mL per 1 g mouse weight. The rabbit ears were covered with a white cloth-sheath to prevent ticks from escaping. To prevent grooming, mice and rabbits were equipped with a collar as described previously by Graf (1978) for rearing *I. ricinus*.

Engorged larvae were grouped according to the detachment day, whereas engorged nymphs were maintained individually to prevent uncontrolled mating after moulting. Tubes containing ticks were kept inside a water container in trays at approximately 98% relative humidity. As *I. hexagonus* is an endophilic tick, all stages were kept in darkness, and at 22–23°C. For the control of the premoulting period in summer, 108 engorged larvae were kept at 30°C.

Daily examination of unfed and engorged larvae, nymphs and adults was undertaken to determine the duration of the prefeeding periods (defined as the time when newly hatched larvae and newly emerged nymphs were ready to feed), feeding periods (the time of attachment to hosts necessary to complete repletion), and pre-moulting+ moulting periods (the time interval between the day of detachment of engorged ticks and the emergence of the succeeding stage).

The Student's *t* test was used for statistical analysis. *P* values of less than 0.05 were regarded as significant.

RESULTS

Larvae

Prefeeding period: For the larval stage, a strong correlation was observed between the duration of the prefeeding period and the success in completing engorgement. When larvae were placed on mice one month after hatching, only 20% fed successfully, when they were placed 3–6 months after hatching, 50–70% completed their feeding. The percentage of success reached 95.7% with 11 month old larvae. After 12 months the degree of mortality of unfed larvae increased rapidly and only a small number of larvae attached to the host.

Feeding period: Larvae began to detach 4–5 days after placement on mice. Fig. 1 shows the daily drop-off rate for a total of 3389 larvae. 34.1% (11,256/3,389) of larvae were detached at the end of day 5 and 24% (816/3,389) were repleted at day 6. The midpoint (50%) of larval detachment occurred on day 6. All larvae had completed feeding by the 17th day.

To determine the success of feeding of the larval stage, we calculated the rate of engorgement of 500 larvae placed on two mice: 337/500 (67.4%) fed successfully.

Pre-moulting, moulting period: The incubation temperature was found to influence the duration of the premoulting and moulting periods. Fig. 2 shows the daily moulting rate of a total of 1194 engorged larvae maintained at 23°C and of a total of 108 larvae maintained at 30°C. When ticks were kept at 23°C the first nymphs emerged 15 days after drop-off. The 50% of the larvae (597/1,194) moulted 18 days after detachment from the host. The total period for ecdysis at this temperature was 27 days. At 30°C the premoulting and moulting periods shortened to 12–18 days, 50% (54/108) of these larvae moulted before day 14.

The moulting success of larvae was evaluated with 100 engorged larvae and we noticed that 80% metamorphosed into nymphs.

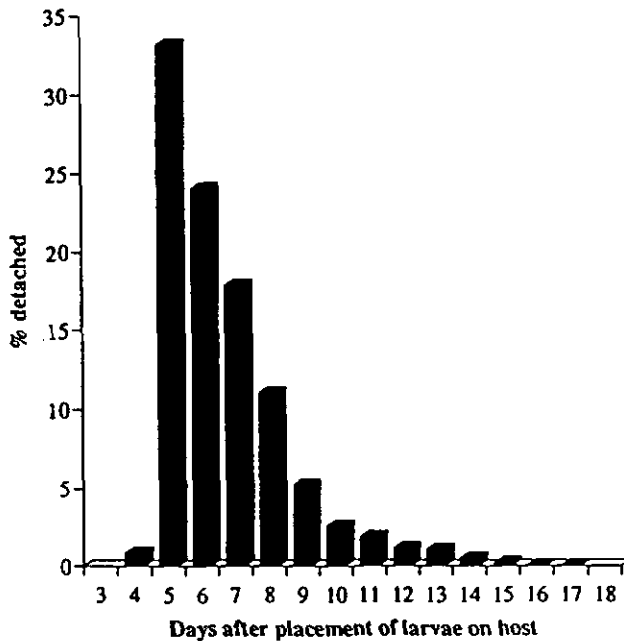


Fig. 1. Daily drop-off of 3,389 *I. hexagonus* larvae.

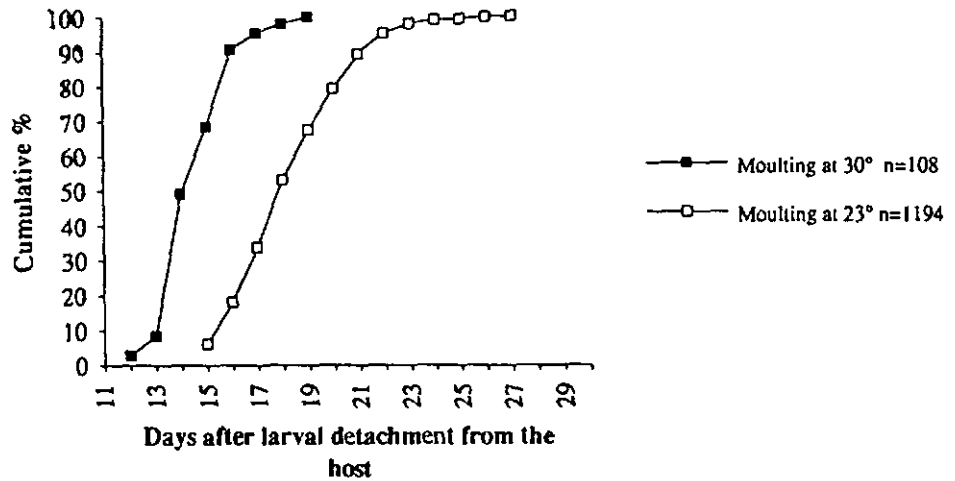


Fig. 2. Daily moult of larvae of *I. hexagonus*.

Nymphs

Prefeeding period: Nymphs fed successfully on rabbits 2 weeks after ecdysis.

Feeding period: Fig. 3 shows the nymphal drop-off rhythm of 278 engorged nymphs which developed into females and 253 engorged nymphs which became males. No significant difference could be observed in the duration of feeding period of female and male nymphs ($t=0.575$, D.F.= 231, $P=0.566$). The drop-off began 4 days after placement on hosts, 35.25% of female nymphs detached on day 5 and 19.06% on day 6. 42.3% of male nymphs repleted at day 5 and 19.06% on day 6. The 50% of both groups of nymphs was situated at day 6. The feeding period of nymphs lasted for 17 days.

The feeding success of two batches, each of 100 nymphs placed on two rabbits, was 97% (194/200).

Weight of replete nymphs: The weight distribution of 323 fully engorged nymphs is shown on Fig. 4. It varied between 3.5 and 9.8 mg. The mean weight of engorged nymphs moulting into females was 6.019 ± 0.88 mg and that of nymphs which became males was 5.642 ± 0.91 mg. The difference between the two groups was significant ($t=3.8$, D.F.=321, $P<0.005$).

Nymphal to adult moulting: Fig. 5 shows the moulting dynamics of 98 female nymphs and 93 male nymphs. The premoulting period was shorter for males (13–26 days) than for females (15–27 days). The 50% (47/93) of engorged male nymphs

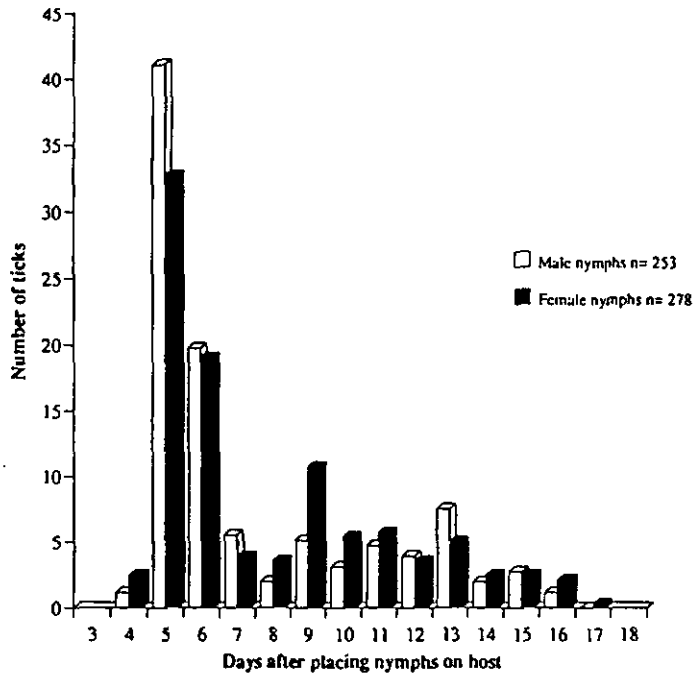


Fig. 3. Daily drop-off of *I. hexagonus* nymphs.



Fig. 4. Distribution of 323 engorged nymphal weights of *I. hexagonus*.

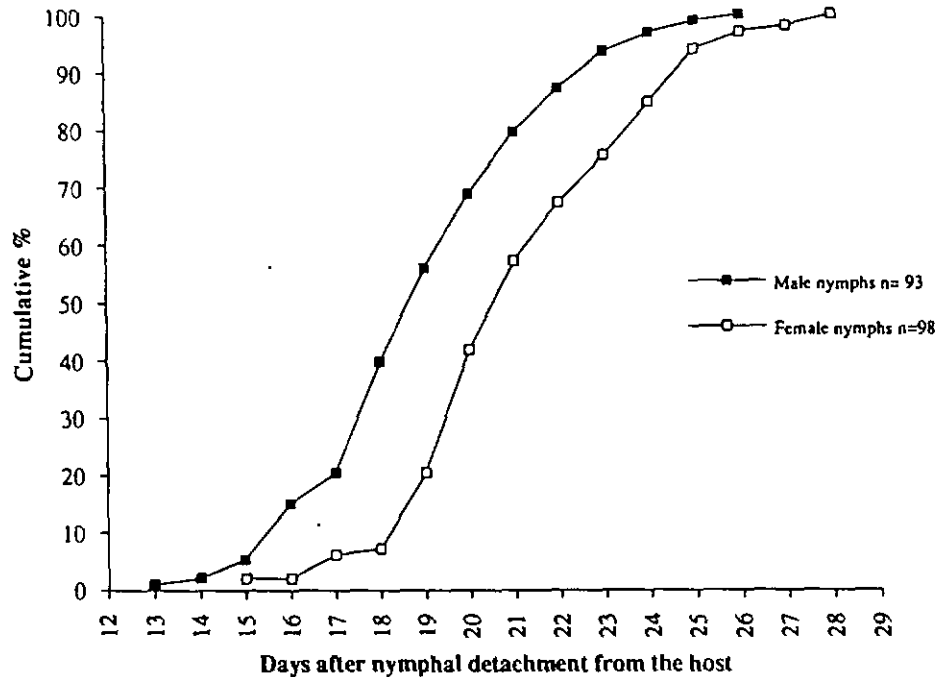


Fig. 5. Daily moult of engorged *I. hexagonus* nymphs.

moulted at day 18 and 50% (44/98) of engorged female nymphs moulted after 20 days. This difference was significant ($t=3.02$, D.F.=189, $P=0.003$).

The moulting success of 924 engorged nymphs was 88.2% (815/924). The sex ratio (male: female) of the newly emerged adults was 1:1.13.

The life cycle of the majority of the population of *I. hexagonus* was calculated by totalling the number of days of feeding and moulting of 50% individuals from the different stages and adding 15 days for hardening of nymphal integument. A minimum of 51 days was necessary for the development of larvae to adults stages with an average of 64 days. The percentage of 100 unfed larvae that became adults was 47% under laboratory conditions.

DISCUSSION

The rearing method described in this paper allowed us to obtain a sufficient number of ticks for the establishment of a *I. hexagonus* colony for biological studies under controlled laboratory conditions, and for use in other experiments on the transmission of microorganisms.

The rearing success from larvae to adults (47%) is relatively high if we compare it with other tick species reared in the laboratory. Graf (1978), using the same breeding conditions, reported a rate of 35–40% for *I. ricinus*. Smith (1972) obtained 38 adults of *I. canisuga* from 100 unfed larvae.

Under laboratory conditions, a minimum of one month for larval prefeeding period was observed, 50% of larvae began to feed 3 months after hatching, whereas 95.7% of 11 month old larvae attached to the host and completed their blood meal. This relative long larval prefeeding period shows that larvae do not feed directly after hatching. Arthur (1951) reported that the larval feeding period of *I. hexagonus* on hedgehogs was 3–6 days and the premoult period of engorged larvae collected on hedgehogs and maintained at 22°C was 27 days. There is a little difference with our results (4–17 days for feeding period and 15–27 days for premoult period). Arthur (1951) did not determine the day of larval fixation on the host and he did not explain the conditions under which he maintained the engorged larvae. High temperature diminished the duration of the moulting period of engorged larvae. This result confirmed the observations of Arthur (1951) and Honzakova (1971) who found that moulting from larvae to nymphs was prolonged by cold conditions and was diminished by high temperature. The effect of incubation temperature suggests that the time of metamorphosis may vary under natural conditions, and may be much longer in winter than in spring or summer.

There was no significant difference between the duration of the feeding period of male and female nymphs. The weight of engorged female nymphs was heavier than that of male nymphs. Similar weight difference was described for *I. ricinus* (Graf, 1978), and for other Ixodid species such as *Hyalomma anatolicum* (Arthur *et al.*, 1966), *H. marginatum rufipes* (Knight *et al.*, 1978) and *Rhipicephalus evertsi* (Rechav *et al.*, 1977). However, the *I. hexagonus* male moulted earlier than the female nymphs, as reported for *I. ricinus* (Graf, 1978) and *R. evertsi* (Rechav *et al.*, 1977) but not for *I. rugicollis* (Aubert, 1981). Under laboratory conditions, *I. hexagonus* took 51–105 days with an average of 64 days to develop from the larval to the adult stage. Arthur (1951, 1963) reported a period of an average of 62 days for *I. hexagonus* and 65–84 days for *I. festai*. Smith (1972) found a similar duration for *I. canisuga*. This period was longer for *I. rugicollis* (65–295 days) (Aubert, 1981). As rearing conditions were not uniform for the 4 species, the differences are probably not significant.

In conclusion, a period of three months was necessary for the development of *I. hexagonus* larvae to the adult stage under laboratory conditions (22–23°C, 98% relative humidity, darkness). The sexes of nymphs could be determined by the weight of engorged nymphs. The advantage of the rearing method described is the use of common laboratory animals.

ACKNOWLEDGEMENT

This work formed a part of P.H.D. thesis of L.N. Toutoungi. We wish to thank the Swiss National Science Foundation for financial support. We thank Dr P. Nuttall for critically reading the manuscript, and Dr Wandeler, from the Rabbits Centre of Bern, for providing the initial ticks.

REFERENCES

- Aeschlimann, A., Büttiker, W., Elbl, A. and Hoogstraal, H., 1965. A propos des tiques de Suisse (*Arachnoidea, Acarina, Ixodoidea*). *Rev. Suisse Zool.*, 72: 577-583.
- Aeschlimann, A., Schneeberger, S., Pfister, K., Burgdorfer, W. and Cotty, A., 1986. Données nouvelles sur les tiques Ixodides du canton du Tessin (Suisse) et sur la présence d'agents rickettsiens dans leur hémolymphe. *Ann. Soc. Helv. Sci. Nat., Partie scientifique.*, 1982/1: 58-68.
- Arthur, D.R., 1951. The bionomic of *I. hexagonus* Leach in Britain. *Parasitology*, 41: 82-90.
- Arthur, D.R., 1953. The host relationships of *I. hexagonus* Leach in Britain. *Parasitology* 43: 227-238.
- Arthur, D.R., 1963. British ticks. *Butterworth, Londre*, 213 pp.
- Arthur, D.R. and Snow K. R., 1966. The significance of size in the immature stages of the *Ixodidae*. *Parasitology*, 56: 391-397.
- Aubert, M.F.A., 1975. Contribution à l'étude du parasitisme du renard (*Vulpes vulpes* L.) par les *Ixodidae* (*Acarina*) dans le Nord-Est de la France. Interprétation de la dynamique saisonnière des parasites en relation avec la biologie de l'hôte. *Acarologia*, 17: 452-479.
- Aubert, M.F.A., 1981. Breeding of the ticks *Ixodes* (*Pholeoixodes*) *rugicollis* (*Acarina: Ixodidae*) under laboratory conditions. *J. Med. Ent.*, 18: 324-327.
- Gern, L., Toutoungi, L. N., Hu, C. M. and Aeschlimann, A., 1991. *Ixodes* (*Pholeoixodes*) *hexagonus*, an efficient vector of *Borrelia burgdorferi* in the laboratory. *Med. Vet. Entomol.*, 5: 431-435.
- Gilot, B., and Aubert, M.F.A. 1985., Les *Ixodidae* (*Acoriens, Ixodoidea*) parasites des Carnivores sauvages dans les Alpes françaises et leur avant pays. *Acarologia*, 26: 215-233.
- Graf, J. F., 1978. Copulation, nutrition et ponte chez *Ixodes ricinus* L. (*Ixodoidea: Ixodidae*) la partie. *Bull. Soc. Ent. Suisse*, 51: 343-360.
- Harris, S. and Thompson, G., 1978. Populations of the ticks *Ixodes* (*Pholeoixodes*) *hexagonus* and *Ixodes* (*Pholeoixodes*) *canisuga* infesting suburban foxes, *Vulpes vulpes*. *J. Zool.*, 186: 83-93.
- Honzakova, E., 1971. Development of some tick species under standard laboratory conditions. *Folia Parasitologica (PRAHA)*, 18: 357-363.
- Knight, M.M., Norval, R.A.I and Rechav, Y., 1978. The life cycle of the tick *Hyalomma marginatum rufipes* Koch (*Acarina: Ixodidae*) under laboratory conditions. *J. Parasitol.*, 64 (1): 143-146.
- Krivanec, K., Kopecky, J., Tomkova, E. and Grubhoffer, L., 1988. Isolation of TBE virus from the tick *Ixodes hexagonus*. *Folia parasitologica*, 53: 273-276.
- Liebisch, A., Olbrich, S., Brand, A., Liebisch, G. and Mouretou-Kunitz, M., 1989. Natürliche Infektion der Zeckenart *Ixodes hexagonus* mit Borrelien (*Borrelia burgdorferi*) Tierärztli. Umschau., 44: 809-810.
- Mermod, C., Debrot, S., Marchesi, P. and Weber, J.M. 1983: Le putois (*Mustela putorius* L.) en Suisse romande. *Rev. Suisse Zool.* 90 (4): 847-856
- Morel, P. C., 1965. Les tiques d'Afrique et du Bassin Méditerranéen (*Ixodoidea*). Manuscript not published.
- Rechav, Y., Knight, M.M. and Norval, R.A., 1977. Life cycle of the tick *Rhipicephalus evertsi evertsi* NEUMANN (*Acarina: Ixodidae*) under laboratory conditions. *J. Parasitol.*, 63 (3): 575-579.
- Smith, M. W., 1972. The life history of *Ixodes canisuga* (Johnston 1849) under laboratory conditions. *Ann. Trop. Med. Parasit.* 66 (2): 281-286.
- Streissle, G., 1960. Untersuchungen zur Übertragung des Virus der Frühsommer-Meningo-Encephalitis durch die Zecke *I. hexagonus* Leach. *Zent. Bakt. Parasit. Infek. Hyg.*, 197 (3): 289-297.
- Toutoungi, L.N., Gern, L., Aeschlimann, A. and Debrot, S., 1991. A propos du genre *Pholeoixodes* en Suisse. *Acarologia*, 32 (4): 311-328.

III. Résultats

III. 2. Etude biologique

III. 2. 2. Publication n°3

Toutoungi, L.N., Gern, L. & Aeschlimann, A. (1995): Biology of *Ixodes* (*Pholeoixodes*) *hexagonus* under laboratory conditions. Part II. Effect of mating on feeding and fecundity of females. *Exp. Appl. Acarology* **19**: 233-245

Biology of *Ixodes (Pholeoixodes) hexagonus* under laboratory conditions Part II. Effect of mating on feeding and fecundity of females

L.N. Toutoungi, L. Gern*, and A. Aeschlimann

Institute of Zoology, University of Neuchâtel, Emile Argand 9, CH-2000 Neuchâtel, Switzerland

ABSTRACT

The effect of mating on the feeding and fecundity of *Ixodes (Pholeoixodes) hexagonus* females was studied under controlled laboratory conditions of 22–23°C and 98% relative humidity. The feeding period of mated females was 6–15 days and 11–13 days for unmated females. The mean weight of the engorged mated females was 114.84 ± 45.89 mg, whereas, that of the engorged unmated females was significantly lower (80.61 ± 28.84 mg). During the initial slow feeding period, the weight of mated females increased 6.6 times. At the end of the blood feeding, they had increased their initial weight 35.5 times. Unmated females never entered the rapid engorgement phase and up to 12 days of feeding period their mean weight did not increase more than 9.2 times. The pre-oviposition periods of mated and unmated females were 6–15 days and 4–12 days, respectively. The mean of the egg production efficiency was $40.26 \pm 12.47\%$ for mated females and $35.68 \pm 12.2\%$ for unmated females. The mean of the mass conversion efficiency was $73.6 \pm 13.7\%$ for mated females and $66.48 \pm 16.55\%$ for unmated females. Sixty per cent of the eggs deposited by mated females hatched whereas only 1% of the eggs deposited by unmated females hatched. These results indicate that *I. hexagonus* females possess some predisposition for parthenogenesis and only fertility and not fecundity depends on mating.

Key words: Ticks, *Ixodes hexagonus*, biology, reproduction, feeding behaviour.

INTRODUCTION

Ixodes (Pholeoixodes) hexagonus (L.), the hedgehog tick, has been implicated in the epidemiology of tick-borne encephalitis (Streissle, 1960; Krivanec *et al.*, 1988) and as a vector of *Borrelia burgdorferi*, the causative agent of Lyme disease (Gern *et al.*, 1991, Toutoungi and Gern, 1993). This tick species is monotropic and triphasic; each stage feeds on three different hosts of the same animal species. Nevertheless, *I. hexagonus* was found on various other hosts, essentially foxes and Mustelidae (Harris and Thompson, 1978; Gilot and Aubert, 1985; Toutoungi *et al.*, 1991).

*To whom correspondence should be addressed.

Some cases of humans parasitized by *I. hexagonus* were reported by Carter (1955), Roman *et al.* (1973) and Liebisch and Olbrich (1991).

Nuttall (1913) observed two nymphs and two females of *I. hexagonus* feeding on a ferret, and has given some notes of which the following are essential points. Egg laying in spring begins 8–14 days after detaching from the host and this process lasts 32 days at 9.5°C. Each female lays 250–650 eggs. Arthur (1951) has demonstrated that the number of eggs laid varies from 880 to 1449 at various temperatures and 100% relative humidity but eggs did not develop when the humidity fell below 80%. Later, Honzakova (1971) showed the ability of all stages of *I. hexagonus* to feed on various laboratory animals.

In a previous study, a method which allowed us to establish a colony of *I. hexagonus* was described and the biology of immature stages was investigated (Toutoungi *et al.*, 1993). Since reproduction potential has not been examined, in the present study we intended to follow up the effect of mating on the feeding, fecundity and fertility of females.

MATERIAL AND METHODS

Breeding conditions

Ticks were obtained from the colony established in our laboratory as described previously (Toutoungi *et al.*, 1993). To prevent uncontrolled mating, engorged nymphs were maintained individually in tubes. Females were fed on the ears of New Zealand white rabbits and maintained individually. All stages were kept at approximately 98% relative humidity in darkness at 22–23°C.

Effect of mating on feeding

To study the effect of mating on the feeding period of females, individual couples of 76 females and males were kept in tubes for 3 weeks without feeding. All females ($n = 76$) were mated, as controlled by the presence of the ectospermatophore on the genital aperture, and were allowed to feed on rabbits, together with unmated females ($n = 42$). Repleted females were collected daily and their weights directly recorded after detachment from the host.

Effect of delayed mating on the weight evolution of the females during the feeding period

To evaluate the effect of delayed mating on weight evolution during feeding, females were separated into two groups: (1) females mated before feeding ($n = 78$) and (2) unmated females ($n = 102$). At day 8 of feeding, ten males were added to eight unmated fixed females, whereas 23 females remained unmated. Feeding females were removed from the host every 48 h and weighed until the beginning of the drop off. The weight gain at each period was expressed by using following formula:

$$\frac{\text{median weight of removed ticks} - \text{median weight of unfed ticks}}{\text{median weight of unfed ticks}}$$

Effect of mating on fecundity and fertility

Studies on the duration of the pre-oviposition (the period between the day of detachment of engorged females and the onset of egg laying) and oviposition periods were conducted on two groups of females: mated females ($n = 21$) and unmated females ($n = 20$).

To follow the weight evolution of the females during the pre-oviposition and oviposition periods, females and deposited eggs were weighed daily up to the end of the oviposition period. The mean weight of one egg was calculated from the weight of 15 batches of 50 eggs deposited by 15 mated females and 13 batches of 50 eggs deposited by 13 unmated females. The total number of eggs was estimated by dividing the weight of the total mass of the eggs by the mean weight of one egg.

The modified index described by Bennett (1974) was used for the measurement of the metabolic activity of *I. hexagonus* females for the oviposition process:

$$\text{egg production efficiency (EPE)} = \frac{\text{weight of egg}}{\text{weight of engorged females}} \times 100$$

$$\text{mass conversion efficiency (MCE)} = \frac{\text{weight of eggs}}{\text{weight of converted blood mass}} \times 100$$

The weight of the blood mass converted into eggs was calculated using following formula:

$$\text{weight of engorged females} - \text{weight of females after egg-laying}$$

After hatching, the larvae of each egg-batch were counted.

Statistical analysis

Statistical analyses of the means of blood-meal duration, weight, egg production efficiency and mass conversion efficiency were performed by the Student-*t*-test (significant difference: $p < 0.05$).

In the experiments on the effect of delayed mating on the feeding period, medians were calculated in order to reduce the importance of extreme values, which tend to influence the means. Median weights were compared by the Mann-Whitney U-test (significant difference: $p < 0.05$).

The Pearson *r* correlation was used to evaluate the relationships between the feeding periods, pre-oviposition, oviposition patterns and weight of engorged females (significant difference: $p < 0.05$).

RESULTS

Effect of mating on feeding

Mated females: Mated females ($n = 76$) fed for a period of 6–15 days (mean = 10.19 ± 2.53 days). The weights of engorged females varied between 31.2 and 225.80 mg (mean = 114.84 ± 45.89 mg).

There was a slight negative correlation ($r = -0.374$, $p = 0.0009$) between the feeding period and the weights of engorged females (Fig. 1a). The mean weight of 44 females which dropped off between 6 and 10 days (132.79 ± 46.145 mg) was significantly different from the mean weight of 32 engorged females which dropped off between days 11 and 15 (88.29 ± 33.89 mg) ($t = 4.62$, $p < 0.001$).

Unmated females: The mean feeding period of 42 unmated females was 11.56 ± 0.63 days with a range of 11–13 days. The weight of repleted unmated females varied between 30 and 131 mg (mean = 80.81 ± 28.84 mg). No correlation was found between the weight of engorged unmated females and the duration of the feeding period ($r = 0.013$, $p = 0.5322$) (Fig. 1b).

The mean weight and mean duration of the feeding period of unmated females were significantly different from those of mated females ($t = 4.41$, $p < 0.001$, $t = 3.34$, $p < 0.001$ respectively).

Effect of delayed mating on the weight evolution of the females during the feeding period

Mated females: The weight of unfed females ($n = 36$) varied between 2.3 and 3.8 mg (median = 3.1). Figure 2 (C1) shows the weight evolution during feeding of mated females. The slow feeding period lasted for 144 h (6 days). During this period, the female weights reached a gain in weight of 6.6 times their initial weights (median = 23.5 mg). This slow phase is followed by the rapid phase: 48 h later females increased to 11.74 times their initial weight (median = 39.5 mg) and 96 h after the slow feeding phase, females reached a weight gain of 35.45 times over their initial weight (median = 113 mg).

Unmated females. During the first 6 days (144 h), unmated females reached a weight gain of 5.8 mg (median = 21.2 mg). At this time the median weight of unmated females was not significantly different from that of mated females ($U = 60$, $p = 1$) (Fig. 2, C2). After 192 h (8 days) the weight increase of unmated females (6.6 times) was significantly lower than for mated females (11.74 times) (medians = 23.6 and 39.5 mg, respectively, $U = 8$, $p < 0.05$). Unmated females which continued feeding without mating, increased in weight slowly. The range in weight of repleted unmated females at 12 days (288 h) was 16.6–107.7 mg (median = 31.6 mg) with a weight gain of 9.2 times the initial weight.

Females mated during blood meal. When males were added to unmated females at day 8 of blood feeding, a rapid weight increase was observed 48 h later (Fig. 2, C3). The median weight of the detached females was 80.9 mg with a weight gain of 25.1 times the initial weight.

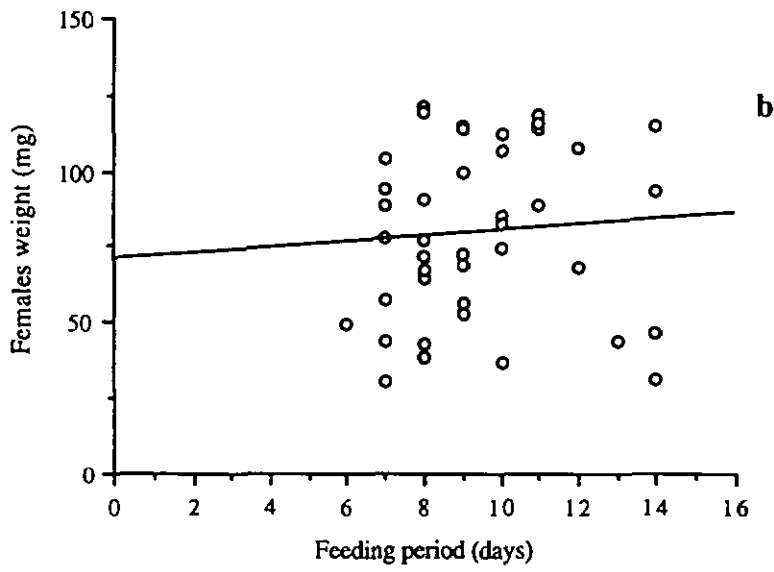
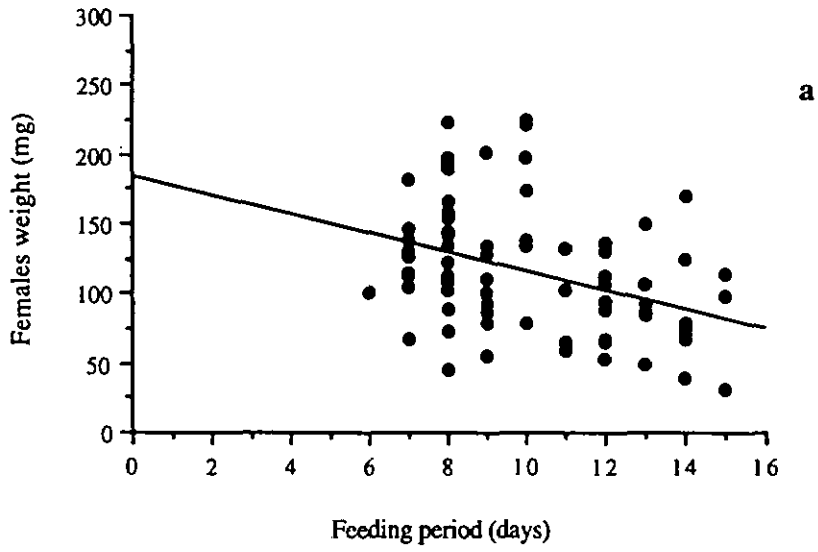


Fig. 1. Relationship between the weight of engorged (a) mated and (b) unmated females and feeding period.

TABLE I
Comparison of biological data of mated and unmated *I. hexagonus* females

Factor	Mated females (n = 21) Range (mean ± SD)	Unmated females (n = 20) Range (mean ± SD)
Pre-oviposition period	6-15 days (8.38 ± 2.13 days)	4-12 days (8.3 ± 2.62 days)
Weight loss during oviposition period	2.1-28.9% (11.1 ± 0.014%)	3-34.1% (13.35 ± 0.079)
Weight of deposited eggs	5.6-107.7 mg (43.55 ± 43.34 mg) ^a	7.3-66.3 mg (29.48 ± 18.85 mg) ^a
Weight of a single egg	0.046-0.097 mg (0.070 ± 0.014 mg)	0.067-0.090 mg (0.079 ± 0.080 mg)
Egg production efficiency (EPE)	16.28-36.32% (40.26 ± 12.47%)	10.64-61.70% (35.68 ± 12.2%)
Number of eggs per mg of engorged weight	1.4-7.54 eggs (5.18 ± 1.83 eggs)	1.3-9.5 eggs (4.6 ± 1.7 eggs)
Mass conversion efficiency (MCE)	38.2-92.2% (73.6 ± 13.7%)	31.92-92.07% (66.48 ± 16.55%)
Number of eggs per mg of converted blood mass	5.1-12.29 eggs (9.81 ± 1.83 eggs)	4.15-11.95 eggs (8.3 ± 2.02 eggs)

^a $p < 0.05$.

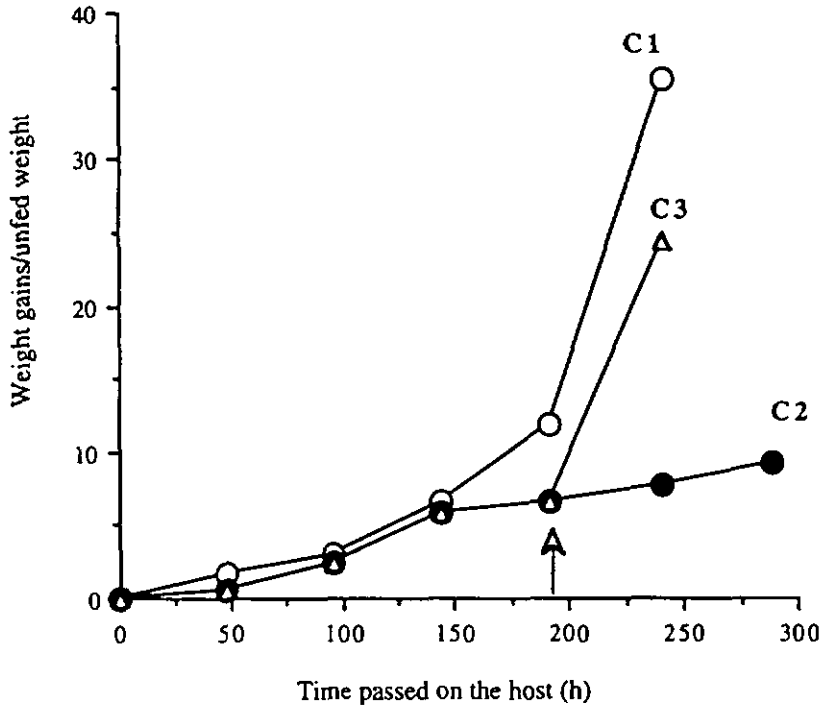


Fig. 2. Weight evolution during feeding period of mated females (C1), unmated females (C2) and females mated during blood meal (C3). The arrow head indicates, where males were added (C3).

EFFECT OF MATING ON FECUNDITY AND FERTILITY OF FEMALES

Pre-oviposition and oviposition periods

There was a negative correlation between the duration of the pre-oviposition period (Table 1) and the engorgement weight of mated females ($r = -0.638$, $p = 0.001$) (Fig. 3a). However, there is no correlation between the duration of the pre-oviposition period (Table 1) and the engorgement weight of unmated females ($r = 0.09$, $p = 0.677$) (Fig. 3b).

Egg laying of mated females lasted for 8–22 days, with the majority (55.68–98.09%) of the eggs being deposited during the first 6 days of the oviposition period. The egg-laying pattern of unmated females was identical to that of mated females.

Correlation between the weight of deposited eggs and the weight of engorged females

We observed a linear correlation between the weight of deposited eggs and the

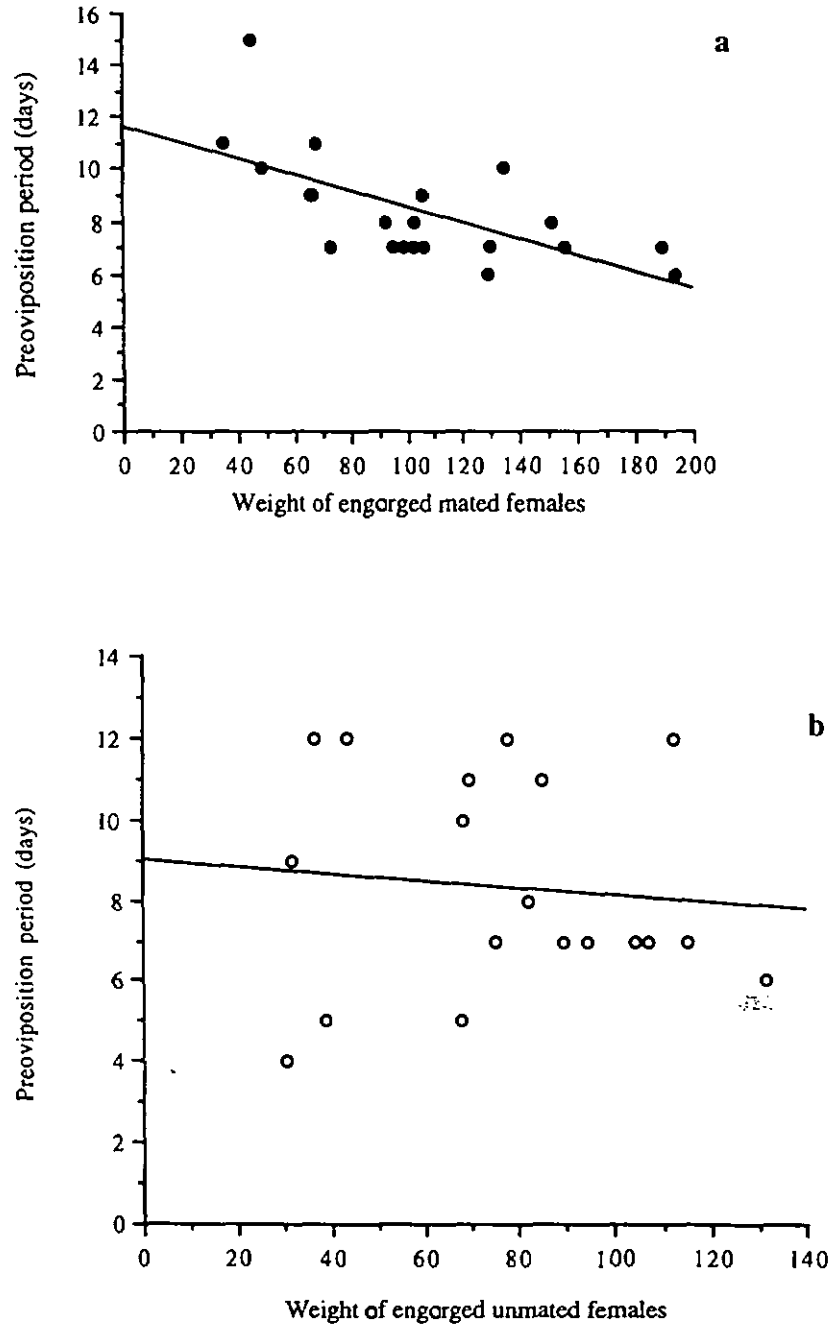


Fig. 3. Relationship between the weight of (a) mated and (b) unmated feeding females and the preoviposition period.

weight of engorged ticks ($r = 0.856$, $p = 0.001$ for mated females and $r = 0.90$, $p = 0.0001$ for unmated females) (Table 1). No significant correlation was found between the weight of an egg (Table 1) and the engorgement weight of females ($r = 0.29$, $p = 0.29$ for mated females and $r = 0.22$, $p = 0.26$ for unmated females) and there was no significant difference between the mean weight of an egg laid by mated or unmated females ($t = 1.59$, $p = 0.06$) (Table 1).

The minimum weight for a mated female to produce eggs was 12.4 mg for 4 days of feeding but the eggs did not hatch. A minimum weight of 24.8 mg and 6 days of feeding were necessary to produce viable eggs for mated females. Unmated females needed a minimum of 19.9 mg for 6 days of blood feeding to produce eggs.

Mated females produced 1.4–7.54 eggs per mg of engorged weight (mean = 5.18 ± 1.83 eggs) and 5.1–12.9 eggs (mean = 9.81 ± 1.83 eggs) per mg of converted blood mass (Table 1). There was a slight correlation between the EPE (Table 1) and the engorgement weight of mated females ($r = 0.59$, $p = 0.0051$). The blood mass converted into eggs represented 29.9–68.8% (mean = $54.3 \pm 10.8\%$) of the engorgement weight of mated females. No correlation was found between the MCE index (Table 1) and the engorgement weight ($r = 0.41$, $p = 0.067$). Unmated females produced 1.3–9.5 eggs (mean = 4.6 ± 1.7 eggs) per mg of engorgement weight and 4.15–11.95 eggs (mean = 8.3 ± 2.02 eggs) per mg of converted blood mass. The EPE of engorged unmated females (Table 1) did not depend on the engorgement weight ($r = 0.41$, $p = 0.07$). The blood mass converted into eggs presented 18.8–71.12% (mean = $54.3 \pm 12.2\%$) of the engorgement weight of unmated females and the MCE (Table 1) did not depend on the engorgement weight ($r = 0.18$, $p = 0.43$) (Table 1). The comparison of the EPE and MCE values of unmated females with those of mated females did not show significant differences ($t = 1.406$, $p = 0.17$) (Table 1).

Hatching of larvae

Mated females. The pre-hatching period was 30–38 days (mean = 34.94 ± 0.5 days). The eggs from three out of 21 females did not hatch. A mean of 60.5% of eggs hatched (range of 0–96%). There was a linear correlation between the number of larvae and the engorgement weight ($r = 0.73$, $p < 0.001$).

Unmated females. The pre-hatching period could not be observed. The success of eclosion was low and varied between 0 and 3.1% (mean = $1 \pm 0.002\%$) and only 96 larvae produced by 11 out of 20 females were obtained. The larvae did not feed well and the mortality was high. Only 19 larvae moulted to nymphs and only eight engorged nymphs were obtained which moulted to seven females.

DISCUSSION

In a previous study, we investigated the life cycle of immature stages of *I. hexagonus* in the laboratory (Toutoungi *et al.*, 1993). A mean period of 64 days was observed for larval to adult stage development. Here we completed the life cycle from the adult to larval stage. A mean of 73 days are needed by the females to produce larvae (the sum of the means of the duration of feeding, pre-oviposition, oviposition and pre-hatching periods). This suggests that the whole life cycle of *I. hexagonus* from larval to larval stage is accomplished in a mean period of 137 days under our laboratory conditions. Our results on the duration of feeding, pre-oviposition and oviposition periods were similar to those reported by Arthur (1951) and Honzakova (1971) for *I. hexagonus* and to those reported for other tick species belonging to the *Pholeoixodes* group such as *I. canisuga* (Smith, 1972) and *I. rugicollis* (Aubert, 1981). Compared to other *Ixodes* species, the feeding period was longer for *I. hexagonus* than for *I. festai* (Arthur, 1963) and *I. ricinus* (Graf, 1978) but the pre-oviposition period was shorter than for *I. festai* (Arthur, 1963) and *I. ricinus* (Graf, 1978).

The weight evolution of *I. ricinus* females during feeding was reported by several authors (see Graf, 1978). The effect of mating as a stimulating feeding factor for unmated females inducing the onset of rapid engorgement was reported for several Ixodid species such as *Hyalomma anatolicum* (Snow, 1967), *Dermacentor variabilis* (Pappas and Oliver, 1972), *I. ricinus* (Graf, 1978), *Ixodes trianguliceps* (Randolph, 1980) and *Rhipicephalus glabroscutatum* (Rechav and Knight, 1981). Mated and unmated *I. hexagonus* females showed a slow feeding phase of 6 days. At this period mated females entered the rapid engorgement phase which lasted for 48 h whereas unmated females did not: they continued to feed slowly until detachment from the host. This ability of unmated females to complete feeding was observed in *H. excavatum* (Rechav, 1968), *D. variabilis* (Gladney and Dawkins, 1971) and *H. dromedarii* (Aboul Nasr and Bassal, 1972). In the weight evolution experiment, the feeding period of mated females was longer than observed for the first group of 76 females and the mean weight of repleted unmated females was less than noticed for the first group of 42 females. These differences could be explained by the fact that removing ticks at random disturbed the remaining fixed ticks and hence reduced their feeding weight.

In several tick species the weight and the total number of eggs deposited are linearly correlated with the female weight (*Boophilus microplus*: Bennett, 1974; *H. aegyptium*: Sweatman, 1968; *D. variabilis*, *R. sanguineus*: Nagar, 1968; *Amblyomma maculatum*: Drummond and Whetstone, 1970; *I. ricinus*: Graf, 1978; *A. inornatum*: Gladney *et al.*, 1977; *D. marginatus*: Hueli *et al.*, 1988; *I. cookei*: Farkas and Surgeoner, 1991). This linear correlation was also found with *I. hexagonus*. The egg production efficiency (40.26%) was lower than reported for other tick species such as *B. microplus* (Bennett, 1974), *I. ricinus* (Graf, 1978),

D. marginatus (Hueli *et al.*, 1988) and *H. schulzei* (Al-Asgah, 1992). The egg production efficiency of mated females tends to increase with the engorgement weight; the same phenomenon was observed in *D. variabilis*. (Drummond *et al.*, 1971). Taking into account that the minimum engorgement weight required to produce eggs is 12.4 mg, but that *I. hexagonus* females needed twice this minimum (24.8 mg) to produce viable eggs, we conclude that the potential production of viable eggs in slightly engorged females increased with the engorgement weight. This relationship was not found in unmated females and the egg production efficiency of unmated females did not depend on engorgement weight. Females of *I. hexagonus* utilized a mean of 54.3% of their engorgement weight to convert it into eggs; the remainder of the engorgement weight was probably used for other metabolic processes as suggested by Bassal and Hefnawy (1972) for *H. dromedarii*. Nevertheless, the MCE did not correlate with the weight of engorged females, which suggests that the ability of the tick to utilize the blood mass at its disposal to produce a large or a small number of eggs resides in individual ticks. This result agrees with the statement of Dipeolu (1991) for *D. variabilis*, *R. sanguineus* and *A. maculatum*.

Parthenogenesis was described in some Ixodid ticks such as *R. bursa* (Nuttall, 1913), *H. excavatum* (Pervomaisky, 1949), *Haemaphysalis bispinosa* (Kitaoka, 1961), now referred to as *Haemaphysalis longicornus* (Hoogstraal *et al.*, 1968), *D. variabilis* (Gladney and Dawkins, 1971) and *I. canisuga* (Smith, 1972). Our results show that the feeding and pre-oviposition processes of unmated females are different from those of mated females. However, oviposition is not different since unmated females were able to feed and to produce eggs with the same efficiency as mated females. This suggests that in *I. hexagonus* only fertility and not fecundity depends on mating. As reported by Oliver (1974), individuals of some tick species, completing engorgement without mating, probably possess some predisposition for parthenogenesis. In the case of *I. hexagonus* female parthenogenesis is more likely occasional, their reproductive potential is limited to production of a small number of female progeniture. Further studies on the reproduction potential of these females would be needed to evaluate the relevance of parthenogenetic reproduction in *I. hexagonus*.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work formed part of the PhD thesis of L.N. Toutoungi. We thank the Swiss National Foundation for financial support. We are grateful to Bruno Betschart for reviewing the manuscript.

REFERENCES

- Aboul-Nasr, A.E., and Bassal, T.T.M. 1972. Biochemical and physiological studies of certain ticks (ixodoidea). Effect of mating, feeding and oogenesis on oxygen consumption of *Hyalomma (H.) dromedarii* Koch (Ixodidae). *J. Parasitol.*, 58 (4): 828-831.
- Al-Asgah, N. 1992. Biology of *Hyalomma schulzei* (Acari: Ixodidae) on rabbits under laboratory conditions. *J. Med. Entomol.*, 29: 19-24.
- Arthur, D.R. 1951. The bionomics of *Ixodes hexagonus* leach in Britain. *Parasitology*, 41: 82-90.
- Arthur, D.R. 1963. *British Ticks*. Butterworth, London.
- Aubert, M.F.A. 1981. Breeding of the tick *Ixodes (Pholeoixodes) rugicollis* (Acari: Ixodidae) under laboratory conditions. *J. Med. Entomol.*, 18 (4): 324-327.
- Bassal, T.T.M. and Hefnawy, T. 1972. Biochemical and physiological studies of certain ticks (Ixodoidea). The effect of unfed female weight on feeding and oviposition of *Hyalomma (H.) dromedarii* Koch (Ixodidae). *J. Parasitol.*, 58: 984-988.
- Bennett, G.F. 1974. Oviposition of *Boophilus microplus* (Canestrini) (Acarina: Ixodidae). *Acarologia*, 16 (1): 52-61.
- Carter, W.F., 1955. A case of human parasitization by *Ixodes hexagonus* Leach (hedgehog tick). *Br. Med. J.*, 4946 (65): 1012.
- Dipeolu, O.O. 1991. Laboratory studies on the oviposition, egg-sizes and shapes and embryonic development of *Dermacentor variabilis*, *Rhipicephalus sanguineus* and *Amblyomma maculatum*. *Acarologia*, 32 (3): 233-243.
- Drummond, R.O. and Whetstone, T.M., 1970. Oviposition of the Gulf Coast tick. *J. Econ. Ent.*, 63 (5): 1547-1551.
- Drummond, R.O., Whetstone, T.M. Ernest, S.E. and Gladney, W.J. 1971. Oviposition of the American dog tick (Acarina: Ixodidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 64 (6): 1305-1309
- Farkas, M.J. and Surgeoner, G.A. 1991. Development times and fecundity of *Ixodes cookei* Packard (Acari: Ixodidae) under laboratory conditions. *Can. Entomol.*, 123 (1): 1-12.
- Gern, L., Toutoungi, L.N., Hu, C.M. and Aeschlimann, A. 1991. *Ixodes (Pholeoixodes) hexagonus*, an efficient vector of *Borrelia burgdorferi* in the laboratory. *Med. Vet. Entomol.*, 5: 431-435.
- Gilot, B. and Aubert, M.F.A. 1985. Les Ixodidae (Acariens, Ixodoidea) parasites des Carnivores sauvages dans les Alpes françaises et leur avant-pays. *Acarologia*, 26: 215-233.
- Gladney, W.J. and Dawkins, C.C. 1971. Parthenogenetic reproduction by *Dermacentor variabilis* (Acarina: Ixodidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 64 (6): 1287-1289.
- Gladney, W.J., Dawkins, C.C. and Price, M.A. 1977. *Amblyomma inornatum* (Acarina: Ixodidae): natural hosts and laboratory biology. *J. Med. Entomol.*, 14 (1): 85-88.
- Graf, J.F. 1978. Copulation, nutrition et ponte chez *Ixodes ricinus* L. (Ixodoidea: Ixodidae) - 3e partie. *Bull. Soc. Entomol. Suisse*. 51: 343-360.
- Harris, S. and Thompson, G. 1978. Populations of the ticks *Ixodes (Pholeoixodes) hexagonus* and *Ixodes (Pholeoixodes) canisuga* infesting suburban foxes, *Vulpes vulpes*. *J. Zool.*, 186: 83-93.
- Honzakova, E. 1971. Development of some tick species under standard laboratory conditions. *Folia Parasit.*, 18: 357-363.
- Hoogstraal, H., Roberts, F.H.S., Kohls, G.M. and Tipton, V.J. 1968. Review of *Haemaphysalis (Kaiseriana) longicornis* Neumann (Resurrected) of Australia, New Zealand, New Caledonia, Fiji, Japan, Korea, and Northeastern China and USSR, and its parthenogenetic and bisexual populations (Ixodoidea, Ixodidae). *J. Parasitol.*, 54 (6): 1197-1213.
- Hueli, L.E., Guevara-Benitez, D.C. and Garcia-Fernandez, P. 1988. Oviposition de *Dermacentor (Dermacentor) marginatus* Schulzer, 1776 (Acarina, Ixodidae) dans des conditions de laboratoire. *Acarologia*, 29 (3): 261-264.
- Kitaoka, S. 1961. Physiological and ecological studies on some ticks. VII: Parthenogenetic and bisexual races of *Haemaphysalis bispinosa* in Japan and experimental crossing between them. *Nat. Int. An. Health (Tokyo) Quart.*, 1: 142-149.

- Kitaoka, S. and Yajima, A. 1958. Physiological and ecological studies of some ticks. II. Phase change in oviposition ability with blood sucking quantity. *Bull. Nat. Inst. Anim. Health.*, 34: 149–162.
- Krivanec, K., Kopecky, J., Tomkova, E. and Grubhoffer, L. 1988. Isolation of TBE virus from the tick *Ixodes hexagonus*. *Folia Parasitol.*, 53: 273–276.
- Liebisch, A. and Olbrich, S. 1991. The hedgehog tick, *Ixodes hexagonus* Leach, 1815, as a vector of *Borrelia burgdorferi* in Europe. In *Modern Acarology*, F. Dusbábek and V. Bukva (eds), pp. 67–71. Academia, Prague and SPB Academic Publishing BV, The Hague.
- Nagar, S.K. 1968. On the significance of the duration of preoviposition and oviposition periods in ixodid ticks. *Acarologia*, 10: 621–629.
- Nuttall, G.H.F. 1913. Observations on the biology of the Ixodidae. *Parasitology*, 6 (2) 68–118.
- Oliver, J.H. 1974. Symposium on reproduction of Arthropods of medical and veterinary importance. IV. Reproduction in ticks (Ixodoidea). *J. Med. Entomol.*, 11 (1): 26–34.
- Pappas, P. and Oliver, J.R. 1972. Reproduction in ticks (Acari: Ixodoidea). 2. Analysis of the rapid stimulus for rapid and complete feeding of female *Dermacentor variabilis* (Say). *J. Med. Entomol.*, 9 (1): 47–50.
- Pervomaisky, G.S. 1949. Parthenogenetic development in ticks of the family Ixodidae. *Zool. Zh.*, 28 (6): 523–526.
- Randolph, S.E. 1980. Population regulation in ticks: the effect of delayed mating on fertility in *Ixodes trianguliceps*. *J. Parasitol.*, 66 (2): 287–292.
- Rechav, Y. 1968. The effect of delayed mating on feeding time and oviposition in *Hyalomma excruciatum* (Koch) with a note on parthenogenesis. *Refu. Vet.*, 25: 172–178.
- Rechav, Y. and Knight, M.M. 1981. Life cycle in the laboratory and seasonal activity of the tick *Rhipicephalus gabroscutatum* (Acarina: Ixodidae). *J. Parasitol.*, 67 (1): 85–89.
- Roman, E., Huynh-Thanh, L. and Pichot, J. 1973. Etude biogéographique et écologique sur les tiques (Acariens Ixodoidea) de la région Lyonnaise. *Bull. Mens. Soc. Linn. Lyon.*, 42: 65–73
- Smith, M.W. 1972. The life history of *Ixodes canisuga* (Johnson 1849) under laboratory conditions. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 66 (2): 281–286.
- Snow, K.R. 1967. Egg maturation in *Hyalomma anatolicum* Koch, 1844 (Ixodoidea, Ixodidae). *Proc. 2nd Int. Cong. Acarol. Scutton Bonington*, 9–25 July, 1967: pp. 349–356.
- Streissle, G. 1960. Untersuchungen zur Übertragung des Virus der Frühsommer-Meningo-Enzephalitis durch die Zecke *Ixodes hexagonus* Leach. *Zent. Bakt. Parasit. Infek. Hyg.*, 197 (3): 289–297.
- Sweatman, G.K. 1968. Temperature and humidity effects on the oviposition of *Hyalomma aegyptium* ticks of different engorgement weights. *J. Med. Entomol.*, 5: 429–439.
- Toutoungi, L.N. and Gern, L. 1993. Ability of transovarially and subsequent transstadially infected *Ixodes hexagonus* ticks to maintain and transmit *Borrelia burgdorferi* in the laboratory. *Exp. Appl. Acarol.*, 17 (8): 581–586.
- Toutoungi, L.N., Gern, L., Aeschlimann, A. and Debrot, S. 1991. A propos du genre *Pholeoixodes*, parasite des Carnivores en Suisse. *Acarologia*, 32 (4): 311–328.
- Toutoungi, L.N., Gern, L. and Aeschlimann, A. 1993. Biology of *Ixodes (Pholeoixodes) hexagonus* under laboratory conditions. Part I. Immature stages. *Exp. Appl. Acarol.*, 17 (9): 655–662.

III. Résultat

III. 3. Etude épidémiologique

III. 3. 1. Publication n°4:

Gern, L., Toutoungi, L.N., Hu, C.M. & Aeschlimann, A. (1991): *Ixodes (Pholeoixodes) hexagonus* an efficient vector of *Borrelia burgdorferi* in the laboratory. Med. Vet. Entomol., 5: 431-435.

Ixodes (Pholeoixodes) hexagonus, an efficient vector of *Borrelia burgdorferi* in the laboratory

LISE GERN, LINA N. TOUTOUNGI, CHANG MIN HU and
ANDRE AESCHLIMANN Zoological Institute, Neuchâtel, Switzerland

Abstract. *Borrelia burgdorferi* Johnson *et al.* was first isolated from the midgut of *Ixodes dammini* Spielman *et al.* in the U.S.A. and from the midgut of *I. ricinus* (L.) in Europe. *I. ricinus* was considered to be the only tick vector of this borrelia, in Europe, until *I. hexagonus* Leach, the hedgehog tick, was found to harbour spirochaetes. This paper reports an evaluation of the vector competence of *I. hexagonus* for the spirochaete *B. burgdorferi*. Transovarial and trans-stadial survival were demonstrated and the spirochaete was transmitted to laboratory mice via the bites of trans-stadially infected *I. hexagonus* females.

Key words. *Ixodes hexagonus*, hedgehog ticks, *Borrelia burgdorferi*, Lyme disease, vector competence.

Introduction

Borrelia burgdorferi Johnson *et al.* was first isolated from the midgut diverticula of *Ixodes dammini* Spielman *et al.* ticks from the United States in 1981 (Burgdorfer *et al.*, 1982), and from the midgut of *I. ricinus* (L.) ticks collected in Switzerland in 1982 (Burgdorfer *et al.*, 1983). Since then, other species of Ixodid ticks have been found infected with spirochaetes: *Amblyomma* (Schulze *et al.*, 1984), *Dermacentor* (Anderson *et al.*, 1985), *Haemaphysalis* (Anderson & Magnarelli, 1984; Lane & Burgdorfer, 1988) and *Rhipicephalus* (Rawlings, 1986). Nevertheless, only members of the *I. ricinus* complex were considered to be competent vectors of *B. burgdorferi*. However, Telford & Spielman (1989) reported that *I. dentatus*, which is not a member of the *I. ricinus* complex, is capable of transmitting *B. burgdorferi*.

I. dammini, *I. scapularis* Say and *I. pacificus* Cooley & Kohls are the vectors of *B. burgdorferi*

in North America, and *I. persulcatus* Schulze in Asia. In Europe, *I. ricinus* was considered to be the only tick vector of this spirochaete until *I. (Pholeoixodes) hexagonus* Leach, the hedgehog tick, was found to harbor *B. burgdorferi*-like spirochaetes (Liebisch *et al.*, 1989). Hedgehogs (*Erinaceus europeus* L.), red foxes (*Vulpes vulpes* L.), martens (*Martes foina* (Erxleben)), stoats (*Mustela erminea* L.), polecats (*M. putoria* L.) and badgers (*Meles meles* L.) are the main hosts for *I. hexagonus* in Switzerland (Toutoungi *et al.*, 1991). If this tick species is shown to serve as a competent vector of *B. burgdorferi*, it may contribute to the establishment of enzootic foci of Lyme borreliosis in regions where *I. ricinus* is absent or infrequent, particularly in urban areas where hedgehogs are present. This paper reports an evaluation of the vector competence of *I. hexagonus* for the spirochaete *B. burgdorferi*.

Materials and Methods

Tick colonies. Nymphal *I. hexagonus* used in these experiments were derived from our laboratory colony. The breeding conditions will be

Correspondence: Dr Lise Gern, Zoological Institute, Chantemerle 22, CH-2000 Neuchâtel, Switzerland

the subject of another paper. Briefly, ticks were kept at room temperature, in the dark, in vials with 97% relative humidity. Larvae were fed on Swiss mice, nymphs and adults on rabbits.

Larval *I. ricinus* ticks used for xenodiagnosis, were derived from a laboratory colony that has been maintained for many years (Graf, 1978). Periodic tests using direct immunofluorescence have shown that they are free of *B. burgdorferi* infection.

Infection modes. *I. hexagonus* nymphs were infected using a modified capillary method described elsewhere (Gern et al., 1990). *B. burgdorferi* strain B31 cultivated in BSK II medium (Barbour, 1984) was employed at a concentration of 10^5 – 10^6 cells/ml (Helber counting cell chamber) to infect the ticks. Two groups of ticks were used in these experiments: Group I: pre-feeding infected ticks. Unfed nymphs were infected using the capillary method and then placed on rabbit ears to complete engorgement. Group II: post-feeding infected ticks. Engorged nymphs were infected using the capillary method after feeding to repletion on rabbit ears.

Tick feeding. Bloodfeeding of *I. hexagonus* nymphs was carried out using uninfected New Zealand white rabbits which had been tested for *B. burgdorferi* by indirect immunofluorescence. Noninfected Swiss mice were used in the transmission experiments.

Spirochete detection. Ticks were examined for spirochaetes using the direct immunofluorescent antibody test (DFA). Tick organ smears were treated with a fluorescein isothiocyanate-labelled conjugate prepared from the serum of a New Zealand white rabbit that had been immunized against *B. burgdorferi* (Peacock et al., 1971). The adults were dissected and the various organs were screened separately for spirochaetal infection; larval and nymphal ticks were squashed on slides and then examined.

Results

Trans-stadial transmission

In order to determine whether a spirochaetal infection of *I. hexagonus* could be maintained trans-stadially, we examined adults derived from nymphs that had been infected pre- and post-engorgement.

Group I: pre-feeding infected nymphs. Twenty

unfed nymphs infected using the capillary method were placed on rabbit ears to complete feeding. Eighteen engorged nymphs were collected from the rabbit. To determine whether the spirochaetes survived in *I. hexagonus* midgut, six of the replete nymphs were examined 1 week after detachment from the rabbit: four of the ticks were found to harbour *B. burgdorferi*. The trans-stadial survival of spirochetes in the twelve resulting adults was determined 10 days after moulting: seven of eight female ticks were found to be infected and only one of four males. The prevalence of infection for adults derived from pre-feeding infected nymphs was 66.6%.

Group II: post-feeding infected nymphs. In this experiment fifty-three nymphs were infected by the capillary method after feeding on a rabbit; forty-four nymphs moulted to the adult stage. Of these, twenty-one males and fourteen females were tested by DFA, 1 week after moulting. Most of these ticks (71.4%) were found to be infected (15/21 males and 10/14 females).

The overall infection prevalence for *I. hexagonus* adults was 70.2%. The slight discrepancy observed in the evidence of infection of adults derived from pre- or post-feeding infected nymphs has also been reported in similar experiments conducted with *I. ricinus* ticks (Monin et al., 1989). The results demonstrate that trans-stadial persistence of *B. burgdorferi* occurs in artificially infected *I. hexagonus*.

Transmission of B. burgdorferi to the host

To determine whether *I. hexagonus* can transmit spirochaetes to a vertebrate host, five females derived from nymphs of group II were placed on four uninfected mice (Table 1). Following engorgement, three females were dissected and examined for spirochaetal infection by DFA; *B. burgdorferi* was detected in two of them. The negative tick had fed on mouse 3 (Table 1). The two remaining females were examined after egg laying (see transovarial transmission). The success of the transmission of *B. burgdorferi* by *I. hexagonus* females to the mice was determined by xenodiagnosis. For this purpose, larval *I. ricinus* were allowed to feed on mice 1 week and 2 weeks after repletion of the *I. hexagonus* adults. A total of seventy-two engorged *I. ricinus* larvae were recovered and examined 6 days later for *B. burgdorferi* infection by DFA; most

Table 1. Xenodiagnosis (using *I. ricinus*) of mice exposed to infected *I. hexagonus* females.

Mouse	<i>I. ricinus</i>	
	No. tested	No. infected (%)
1	6	5 (83%)
2	24	16 (67%)
3*	21	19 (90%)
4	21	13 (62%)

* Two *I. hexagonus* females were placed on this mouse.

of them (53/72; 73.6%) were shown to be infected (Table 1). The results demonstrate that *I. hexagonus* females can transmit the spirochaete to laboratory-bred mice.

Transovarial transmission

Two females from group II were examined after egg laying (see transmission of *B. burgdorferi* to the host). Both contained spirochaetes in their tissues: one in the midgut only, the other in the midgut and in the ovary. Larval *I. hexagonus* derived from these females were examined 5 weeks after hatching (10 weeks after egg laying). Spirochaetes were found in nine of twenty-five larvae from one female and none of thirty-two larvae from the second. Thus *I. hexagonus* females are able to transmit transovarially the *B. burgdorferi* infection to their progeny.

Discussion

In Europe, Ixodidae in genera other than *Ixodes* have never been shown to contain *B. burgdorferi*. Furthermore, Lyme borreliosis spirochaetes were described in species other than *I. ricinus* only recently. Liebisch *et al.* (1989) found spirochaetes in *I. hexagonus* in Germany. Using dark field microscopy, these authors examined fourteen larvae, 178 nymphs and 111 adults collected from hedgehogs (*E. europaeus*), and found that 4.3% of them were infected. This percentage appeared to be greater if they considered the females only: 11.7% of 111 females contained the spirochaete. However, when tested using immunofluorescence, only 2.7% of the females

and none of the nymphs and larvae were positive for the spirochaete. More recently, Doby *et al.* (1990) observed spirochaetes, using the immunofluorescence test, in two other *Ixodes* sp. collected in France, *I. trianguliceps* (10/106) and *I. acuminatus* (1/32).

The spirochaetes present in the midgut of *I. hexagonus*, *I. trianguliceps* and *I. acuminatus* were neither characterized using monoclonal antibodies nor isolated from these tick species. Hence their identification as *B. burgdorferi* was not confirmed. Moreover, ticks were collected on hosts and examined in their engorged state. It is possible that the spirochaete was present in the bloodmeal and only survived in the midgut for a short period. In fact, no tests were carried out to demonstrate the ability of these tick species to transmit the spirochaete or to maintain it trans-stadially.

This paper is the first to describe the ability of a European tick species other than *I. ricinus* to transmit *B. burgdorferi* to a host. The successful infection of four mice, using five trans-stadially infected *I. hexagonus* females, demonstrated that this tick species is able to transmit *B. burgdorferi* to laboratory animals. In addition, the laboratory tests conducted in this study showed that *I. hexagonus* maintained infection trans-stadially from nymphal to adult stages (70.2%) and transmitted transovarially the spirochaetes to the larval ticks (15.8%). The numbers of infected ticks in our experiments are generally high compared with those observed in natural populations of this tick species. Liebisch *et al.* (1989) reported that 4.3% of *I. hexagonus* collected from hedgehogs were positive and 11.7% if females only were considered. In our experiment, 70.2% of the unfed adults harboured *B. burgdorferi*. This could be explained by the experimental conditions and especially by the high dose of *B. burgdorferi* that the ticks imbibed. Alternatively, the observed discrepancy may be due to the tick host. Liebisch *et al.* (1989) collected ticks from an unique host species captured in one region only. The hedgehog may be a poor reservoir host of *B. burgdorferi*.

As shown in our experiments, *I. hexagonus* is a very efficient potential vector of *B. burgdorferi*. Thus, the fact that this tick species has a host spectrum and a geographical distribution that differ from those of *I. ricinus* (Toutoungi *et al.*, 1991) suggests that *I. hexagonus* may maintain an alternative transmission cycle of this bor-

reliosis in nature. This implies that the geographical distribution of *B. burgdorferi* may be greater than that predicted on the basis of the known distribution of *I. ricinus*. Furthermore, if *I. trianguliceps* and *I. acuminatus* are also confirmed as vectors of *B. burgdorferi*, this will mean that the borrelia may be transmitted in other silent foci (i.e. no disease in humans) devoid of bridge vectors such as *I. ricinus*.

If *I. hexagonus* (and possibly other *Ixodes* tick species such as *I. trianguliceps* and *I. acuminatus*) is a competent vector under natural conditions, it may be an additional reason why the distribution of *B. burgdorferi* is greater than that of TBE virus in Switzerland (Gern et al., 1991). Small mammals have been found to be a source of *B. burgdorferi* infection for *I. ricinus* larvae and nymphs for long periods: more than 2 years in the laboratory (Vittoz et al., 1990). These rodents are very efficient reservoirs of *B. burgdorferi* and they could also occasionally be a source of infection for *I. hexagonus* since they can be infested by this tick species (Manhart, 1971).

The presence of *I. hexagonus* on hedgehogs and martens indicates that this tick species is found in locations where *I. ricinus* is rare or absent, e.g. in suburban and urban areas.

Furthermore, *I. hexagonus* parasitizes domestic animals such as dogs and cats (Toutoungi et al., 1991). Hence *I. hexagonus* can be suspected as a vector of *B. burgdorferi* to these animals. Clinical cases of Lyme borreliosis in dogs have been reported in Switzerland by Pfister et al. (1989). As described by Arthur (1953), *I. hexagonus* seems to feed rarely on humans. Failure to parasitize human hosts suggests that this tick poses little danger to public health (Matuschka et al., 1990) but the presence of infected *I. hexagonus* on dogs may represent a source of *B. burgdorferi* infection for the persons who remove the ticks from these animals.

Under laboratory conditions, the vector competence of *I. hexagonus* proved to be very high. Additional experiments are required to assess the vector competence of this tick under natural conditions. This assessment is important as it may identify other independent cycles of transmission of *B. burgdorferi*, including other reservoir hosts such as insectivores and carnivores, which were not described in the current zoonotic model of Lyme borreliosis in Europe.

Acknowledgments

The results presented here are part of the Ph.D. thesis of L. Toutoungi. This research received support from the Swiss National Science Foundation grants 3.975.87 and 32-29964.90. We thank Olivier Rais for his technical assistance.

References

- Anderson, J.F. & Magnarelli, L.A. (1984) Avian and mammalian hosts for spirochete infected ticks and insects in a Lyme disease focus in Connecticut. *Yale Journal of Biology and Medicine*, **57**, 627–641.
- Anderson, J.F., Johnson, R.C., Magnarelli, L.A. & Hyde, F.W. (1985) Identification of endemic foci of Lyme disease: isolation of *Borrelia burgdorferi* from feral rodents and ticks (*Dermacentor variabilis*). *Journal of Clinical Microbiology*, **22**, 394–396.
- Arthur, D.R. (1953) The host relationship of *Ixodes hexagonus* in Britain. *Parasitology*, **43**, 227–238.
- Barbour, A.G. (1984) Isolation and cultivation of Lyme disease spirochetes. *Yale Journal of Biology and Medicine*, **57**, 521–525.
- Burgdorfer, W., Barbour, A.G., Hayes, S.F., Benach, J.J., Grunwaldt, E. & Davis, J.P. (1982) Lyme disease – a tick-borne spirochetosis? *Science*, **216**, 1317–1319.
- Burgdorfer, W., Barbour, A.G., Hayes, S.F., Péter, O. & Aeschlimann, A. (1983) Erythema migrans – a tick-borne spirochetosis? *Acta Tropica*, **40**, 79–83.
- Doby, J.M., Bigaignon, G., Launay, H., Costil, C. & Lorvellec, O. (1990) Présence de *Borrelia burgdorferi*, agent de spirochétozes à tiques, chez *Ixodes (Exopalgiger) trianguliceps* Birula, 1895 et *Ixodes (Ixodes) acuminatus* Neumann 1901 (*Acaris* Ixodidae) et chez *Cnetophthalmus baeticus arvernus* Jordan, 1931 et *Megabothris turbidus* (Rothschild, 1909) (Insectes Siphonaptera), ectoparasites de micromammifères des forêts dans l'Ouest de la France. *Bulletin de la Société Française de Parasitologie*, **8**, 311–322.
- Gern, L., Zhu, Z. & Aeschlimann, A. (1990) Development of *Borrelia burgdorferi* in *Ixodes ricinus* females during blood meal. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, **65**, 89–93.
- Gern, L., de Marval, F. & Aeschlimann, A. (1991) Comparative considerations on Lyme borreliosis and tick-borne encephalitis in Switzerland. In: *Modern Acarology*. Academia Press.
- Graf, J.F. (1978) Copulation, nutrition et ponte chez *Ixodes ricinus* L. (*Ixodoidea: Ixodidae*), 1ère partie. *Bulletin de la Société Entomologique Suisse*, **51**, 89–97.
- Lane, R.S. & Burgdorfer, W. (1988) Spirochetes in

- mammals and ticks (Acari: Ixodidae) from a focus of Lyme borreliosis in California. *Journal of Wildlife Diseases*, 14, 1–9.
- Liebisch, A., Olbrich, S., Brand, A., Liebisch, M. & Mouretou-Kunitz, M. (1989) Natürliche Infektionen der Zeckenart *Ixodes hexagonus* mit Borrelien (*Borrelia burgdorferi*). *Tierärztliche Umschau*, 44, 809–810.
- Mahnert, V. (1971) Parasitologische Untersuchungen an alpinen Kleinsäugetern: Ixodoidea (Acari). *Mitteilungen der Schweizerischen Entomologischen Gesellschaft*, 44, 323–332.
- Matuschka, F.R., Richter, D., Fischer, P. & Spielman, A. (1990) Nocturnal detachment of the tick *Ixodes hexagonus* from nocturnally active hosts. *Medical and Veterinary Entomology*, 4, 415–420.
- Monin, R., Gern, L. & Aeschlimann, A. (1989) A study of the different modes of transmission of *Borrelia burgdorferi* by *Ixodes ricinus*. *Zentralblatt für Bakteriologie und Hygiene*, 263, 14–20.
- Peacock, M., Burgdorfer, W. & Ormsbee, R.S. (1971) Rapid fluorescent-antibody conjugation procedure. *Infection and Immunity*, 3, 355–357.
- Pfister, K., Bigler, B., Neswadba, J., Gern, L. & Aeschlimann, A. (1989) *Borrelia burgdorferi* infections of dogs in Switzerland. *Zentralblatt für Bakteriologie und Hygiene*, 263, 26–31.
- Rawlings, J.A. (1986) Lyme disease in Texas. *Zentralblatt für Bakteriologie und Hygiene A*, 263, 483–487.
- Schulze, T., Bowen, G.S., Bosler, E.M., Lakat, M.F., Parkin, W.E., Altman, R., Ormiston, B.G. & Shisler, J.K. (1984) *Amblyomma americanum*: a potential vector of Lyme disease in New Jersey. *Science*, 224, 601–603.
- Telford, S.R. & Spielman, A. (1989) Competence of a rabbit-feeding *Ixodes* (Acari: Ixodidae) as a vector of the Lyme disease spirochete. *Journal of Medical Entomology*, 26, 118–121.
- Toutoungi, L.N., Gern, L. & Aeschlimann, A. (1991) A propos du genre *Pholeoixodes*, parasite des carnivores sauvages en Suisse. Submitted.
- Vittoz, N., Humair, P.F., Siegenthaler, M., Aeschlimann, A. & Gern, L. (1990) Mammalian and avian reservoirs for *Borrelia burgdorferi* in a Lyme borreliosis focus in Switzerland. *Revue Suisse de Zoologie*, 97, 783.

Accepted 16 May 1991

III. Résultat

III. 3. Etude épidémiologique

III. 3. 2. Publication n°5:

Toutoungi, L. N. & Gern, L. (1993): Ability of transovarially and subsequent transstadially infected *Ixodes hexagonus* ticks to maintain and transmit *Borrelia burgdorferi* in the laboratory. *Exp. Appl. Acarology*, **17**: 581-586

Ability of transovarially and subsequent transstadially infected *Ixodes hexagonus* ticks to maintain and transmit *Borrelia burgdorferi* in the laboratory

L.N. Toutoungi and L. Gern*

Institut de Zoologie, University of Neuchâtel, Chantemerle 22, CH-2000 Neuchâtel, Switzerland.

(Accepted 30 August 1993)

ABSTRACT

L.N. Toutoungi and L. Gern, 1993. Ability of transovarially and subsequent transstadially infected *Ixodes hexagonus* ticks to maintain and transmit *Borrelia burgdorferi* in the laboratory. Exp Appl. Acarol., 17, 581–586.

In a previous study, transstadial and transovarial survival of *Borrelia burgdorferi* in *Ixodes hexagonus* and transmission to laboratory mice via the bite of infected females were demonstrated. Here, we report the ability of *I. hexagonus* progeny infected transovarially to maintain and transmit the spirochaete to the host.

Ticks were examined for spirochaetes by direct immunofluorescence antibody test. *I. hexagonus* larvae derived from the parental transstadially infected females were fed on two white mice: 21/54 (38.9%) of these ticks examined as unfed nymphs were infected.

I. hexagonus nymphs were fed on three white mice and examined for spirochaetes after moulting as adults: 7/25 (28%) were found to harbour the spirochaete. The success of *B. burgdorferi* transmission to the mice by larval and nymphal *I. hexagonus* was determined by xenodiagnosis using *I. ricinus* larvae: 20/50 (40%) and 30/99 (30.3%) of the *I. ricinus* larvae fed on the mice infected by *I. hexagonus* larvae and nymphs respectively became infected.

This study shows that *B. burgdorferi* can be maintained through transovarial and subsequent transstadial transmissions in *I. hexagonus*.

INTRODUCTION

Borrelia burgdorferi, the causative agent of Lyme borreliosis, was first described in the United States in the midgut of *Ixodes dommini* (at present *Ixodes scapularis* (Oliver *et al.*, 1993)) (Burgdorfer *et al.*, 1982) and afterwards in Europe, in *I. ricinus* from Switzerland (Burgdorfer *et al.*, 1983). Since then in the United States, other tick species of Ixodid ticks have been found infected (reviewed in Gern *et al.*, 1991). In Europe, surveys in Germany and France revealed spirochaetes in species other than *I. ricinus*: *I. hexagonus* (Liebisch *et al.*, 1989), *Dermacentor reticulatus* (Kahl *et al.*, 1992), *I. trianguliceps* and *I. acuminatus* (Doby *et al.*,

*To whom correspondence should be addressed.

1990). Nevertheless, only members of the *I. ricinus* complex were considered to be competent vectors of *B. burgdorferi* until *I. dentatus* (Telford and Spielman, 1989), and *I. hexagonus* (Gern *et al.*, 1991), which are not members of the *I. ricinus* complex, were found to be able of transmitting *B. burgdorferi*.

In Europe, the hedgehog tick, *Ixodes hexagonus*, is widespread and parasitizes primarily hedgehogs and Mustelidae. In Switzerland, it was collected from 15 animal species, especially from foxes and Mustelidae, but also from dogs and cats (Toutoungi *et al.*, 1991). In a previous study, *I. hexagonus* has experimentally been shown to be susceptible to *B. burgdorferi*, to transmit this agent to mice and to pass this organism transovarially via eggs to filial ticks (Gern *et al.*, 1991).

The objectives of the present study were to investigate the ability of transovarially infected filial larval and nymphal *I. hexagonus* to maintain and transmit *B. burgdorferi*.

MATERIALS AND METHODS

I. ricinus larvae used for xenodiagnosis were derived from a colony that has been maintained for many years under the laboratory conditions described by Graf (1978). The same rearing conditions were applied for *I. ricinus* larvae in this study. Periodic tests using direct immunofluorescence have shown that the tick colony is free of *B. burgdorferi* infection.

I. hexagonus ticks were derived from our laboratory colony (Toutoungi *et al.*, in press). Briefly, ticks were kept at room temperature (in this case 23°C), in darkness and at 98% relative humidity. Larvae were fed on Swiss mice, nymphs and adults on rabbits. The same climatic regime was applied to all unfed and fed stages.

I. hexagonus ticks of the first laboratory generation (Gern *et al.*, 1991) were infected as unfed nymphs by a modified capillary method described by Gern *et al.* (1990), using the American *B. burgdorferi* strain B31. Briefly, *I. hexagonus* nymphs were infected with a concentration of 10^5 – 10^6 cells mL⁻¹ BSK II medium. The nymphs were subsequently fed on tick naive and uninfected Swiss white mice. After moulting, the resulting transstadially infected females were placed onto mice for feeding. After oviposition and egg hatching, 9 month-old larvae (offspring of one female) were fed on two uninfected white mice. Three weeks after moulting, the resulting nymphs were placed on three uninfected white mice.

The success of spirochaete transmission to the mice was evaluated by xenodiagnosis using uninfected *I. ricinus* larvae. The *I. ricinus* larvae were allowed to feed on the mice two weeks and three weeks after repletion of the *I. hexagonus* larvae and nymphs respectively.

I. hexagonus and *I. ricinus* ticks were individually examined for *B. burgdorferi* by direct immunofluorescence antibody test. Tick organ smears were treated with a fluorescein isothiocyanate-labelled conjugate prepared from the serum of a New Zealand white rabbit that had been immunized against *B. burgdorferi* (strain B31) (Peacock *et al.*, 1971). Larval *I. hexagonus* were examined 9 months after hatch-

ing and nymphal and adult *I. hexagonus* three weeks after moulting. *I. ricinus* larvae were squashed two weeks after feeding to repletion on mice and examined.

Fischer's exact test (2-tailed) was used to compare the number of infected ticks at successive stages. *P* values of less than 0.05 were regarded as significant.

RESULTS

Transstadial transmission

We showed in a previous study that 9/25 larvae (36%) derived from an infected female were infected 5 weeks after hatching (Gern *et al.*, 1991). To determine whether *B. burgdorferi* can persist in unfed transovarially infected larvae, 15 were examined 9 months after hatching and 6 (40%) were found to harbour spirochaetes.

To discover if transovarially passed spirochaetes survive transstadial passage to nymphs, 54 *I. hexagonus* larvae fed on two uninfected white mice were examined for *B. burgdorferi* after moulting as unfed nymphs, and 21/54 (38.9%) were found infected. The difference between the number of transovarially infected larvae and the resulting transstadially infected nymphs is not significant ($P=1.00000$).

I. hexagonus nymphs were placed on three white mice and examined for *B. burgdorferi* after moulting, as unfed adults: 7/25 (28%) were found to harbour *B. burgdorferi*. The difference between the percentage of infected nymphs and infected adults is not significant ($P=0.45043$).

Transmission of B. burgdorferi to the host

The success of transmission of *B. burgdorferi* by *I. hexagonus* larvae and nymphs to the mice was determined by xenodiagnosis. *I. hexagonus* larvae transmitted the infection to both mice. Altogether 20/50 (40%) of *I. ricinus* larvae which fed on these two mice became infected (Table 1).

TABLE 1

Infection of *Ixodes ricinus* fed on mice two and three weeks after placement of *Ixodes hexagonus* larvae and nymphs respectively.

Mouse	No of tested <i>I. ricinus</i>	No of infected <i>I. ricinus</i> (%)
L1	30	14 (46.7%)
L2	20	6 (30%)
N3	33	7 (21.2%)
N4	33	9 (27.3%)
N5	33	14 (42.4%)

L: Mouse exposed to *I. hexagonus* larvae

N: Mouse exposed to *I. hexagonus* nymphs

The infection status of the three mice, which *I. hexagonus* nymphs were fed on, was assessed by xenodiagnosis, and 30/99 (30%) of the *I. ricinus* larvae which fed on these animals acquired the infection (Table 1). The difference between the two groups of *I. ricinus* larvae that fed on mice infected by *I. hexagonus* larvae and nymphs is not significant ($P=0.27212$).

DISCUSSION

In a previous study, we demonstrated transovarial transmission of *B. burgdorferi* in *I. hexagonus* (Gern *et al.*, 1991). Transovarial transmission of *B. burgdorferi* has been reported for several tick vectors: *I. dammini* (at present *I. scapularis*) (Bosler *et al.*, 1983, Piesman *et al.*, 1986, Magnarelli *et al.*, 1987), *I. pacificus* (Burgdorfer *et al.*, 1985, Lane and Burgdorfer, 1987, Lane *et al.*, 1991, Lane, 1992), *I. scapularis* (Magnarelli *et al.*, 1986) and *I. ricinus* (Burgdorfer *et al.*, 1983, Stanek *et al.*, 1986). Nevertheless, little is known on the ability of these transovarially infected larval ticks and the subsequent stages to transmit *B. burgdorferi* to a host.

The results of the present study have shown that *B. burgdorferi* can survive for several months in *I. hexagonus* larvae after hatching and can be transmitted to a host. The successful infection of two mice via transovarially infected larvae demonstrates the competence of *I. hexagonus* larvae to transmit infection, though the number of replicates and sample sizes were small. The transmission of *B. burgdorferi* by transovarially infected larvae was described in *I. ricinus* (Stanek *et al.*, 1986). Studies conducted of the Western black-legged tick *I. pacificus* (Lane and Burgdorfer, 1987, Lane *et al.*, 1991, Lane, 1992) and on *I. dammini* (Magnarelli *et al.*, 1987, Burgdorfer *et al.*, 1988) did not show the ability of transovarially infected larvae to transmit the spirochaete to an animal host.

The differences observed between the number of infected larvae (40%), infected nymphs (38.9%), and infected adults (28%) were not statistically significant ($P=1.00000$ and $P=0.45043$, respectively). This suggests that most of the larvae and nymphs, if not all, transmitted the spirochaete to the nymphs and adults respectively, and that *I. hexagonus* is able to establish a permanent infection, at least during one generation. Nevertheless, it remains to be established that no transmission of *B. burgdorferi* has taken place between co-feeding ticks, as described for ticks infected by Thogoto virus and tick-borne encephalitis virus (Jones *et al.*, 1987; Alekseev and Chunikhin, 1990; Labuda *et al.*, 1993). In the progeny of 2 female *I. ricinus*, the degree of spirochetal infection after transovarial passage gradually diminished to just a few organisms in the central ganglion as larvae developed to nymphs and nymphs to adults (Burgdorfer, 1984). Although such a phenomenon was not observed in the case of *I. hexagonus*, further studies are needed to clarify, whether spirochaetal infection rates decline from one filial generation to the next in *I. hexagonus* as it was demonstrated in *I. pacificus* (Lane, 1992).

Transovarial transmission of *B. duttoni* in *Ornithodoros moubata*, its soft tick vector, led to a total loss of the spirochaetal pathogenicity for mice by the fifth gen-

eration (Geigy and Aeschlimann, 1964). Additional studies on the effect of persistence of infection after several transovarial transmissions in *I. hexagonus* are needed.

Our results suggest that *I. hexagonus* establishes a permanent infection with *B. burgdorferi* and may represent a natural vector for *B. burgdorferi*, but whether or not *B. burgdorferi* is frequently transovarially transmitted remains to be determined. Co-feeding of *I. hexagonus* and *I. ricinus*, the primary vector of *B. burgdorferi* in Europe (Gern *et al.*, 1993), occurs in the field, since both species were found on foxes, Mustelidae, hedgehogs, dogs and cats (Toutoungi *et al.*, 1991; unpublished data). This seems to indicate that an overlap of two different transmission cycles may occur in Europe. Nevertheless, the fact that *I. hexagonus* presents an host spectrum and a geographical distribution that may differ from those of *I. ricinus* (Toutoungi *et al.*, 1991) suggests that *B. burgdorferi* may locally circulate where *I. hexagonus* is common and *I. ricinus* absent and hence *I. hexagonus* might maintain an alternative transmission cycle of this borreliosis in nature. Further studies are required to elucidate the exact role of *I. hexagonus* in the current ecological model of Lyme borreliosis in Europe.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work formed a part of the PhD thesis of L.N. Toutoungi. We wish to thank Oliver Rais for his technical assistance and the Swiss National Science Foundation for financial support (32-29964.90).

REFERENCES

- Alekseev, A.N. and Chunikhin, S.P., 1990. Exchange of tickborne encephalitis virus between Ixodidae simultaneously feeding on the animals with subthreshold levels of viraemia. *Med. Parasitol. and Parasitological Dis.*, 2: 48-50.
- Bosler, E.M., Coleman, J.L., Benach, J.L., Massey, D.A. and Hanrahan, J.P., 1983. Natural distribution of the *Ixodes dammini* spirochete. *Science*, 220: 321-322.
- Burgdorfer W., 1984. Discovery of the Lyme disease spirochete and its relation to tick vectors. In: *Lyme disease. First International Symposium. The Yale Journal of Biology and Medicine*, A.C. Steere, Malawista, S.E., Craft, J.E., Fisher, D.K., Garcia-Blanco, M. (Editors), Inc., New Haven, Connecticut, 65-70.
- Burgdorfer, W., Barbour, A.G., Hayes, S.F., Benach J.J., Grunwaldt, E. and Davis, J.P., 1982. Lyme disease - a tick-borne spirochetosis? *Science*, 216: 1317-1319.
- Burgdorfer, W., Barbour, A.G., Hayes, H.S., Péter, O. and Aeschlimann, A., 1983. Erythema migrans - a tick-borne spirochetosis? *Acta Tropica*, 40: 79-83.
- Burgdorfer, W., Lane, R.S., Barbour, A.G., Gresbrink, R.G. and Anderson, J., 1985. The Western black-legged tick, *Ixodes pacificus*: A vector of *Borrelia burgdorferi*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 34 (5): 925-930.
- Burgdorfer, W., Hayes, S.F. and Benach, J.L., 1988. Development of *Borrelia burgdorferi* in Ixodid tick vectors. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 539: 172-179.
- Doby, J.M., Bigaignon, G., Launay, H., Costil, C. and Lorvellec, O., 1990. Présence de *Borrelia burgdorferi*, agent de spirochètoses à tiques, chez *Ixodes (Exopalpiger) trianguliceps* Birula, 1985 et *Ixodes (Ixodes) acuminatus* Neumann 1901 (Acariens Ixodidae) et chez *Cnetophthalmus baeticus arvernus* Jordan, 1931 et *Megabothris turbidus* (Rothschild, 1909) (Insectes Siphonaptero),

- ectoparasites de micromammifères de forêts dans l'Ouest de la France. Bull. Soc. Franç. Parasitol., 8: 311–322.
- Gern, L., Zhu, Z. and Aeschlimann, A., 1990. Development of *Borrelia burgdorferi* in *Ixodes ricinus* females during blood meal. Ann. Parasitol. Hum. Comp., 65: 89–93.
- Gern, L., Toutoungi, L.N., Hu, C.M. and Aeschlimann, A., 1991. *Ixodes (Pholeoixodes) hexagonus*, an efficient vector of *Borrelia burgdorferi* in the laboratory. Med. Vet. Entomol., 5: 431–435.
- Gern, L., Burgdorfer, W., Aeschlimann, A. and Krampitz, H.E., 1993. The ecology of Lyme borreliosis in Europe. In: Aspects of Lyme Borreliosis, Weber K. and Burgdorfer, W. (Editors), Springer Verlag, pp: 59–69.
- Geigy, R. and Aeschlimann, A., 1964. Langfristige Beobachtungen über transovariable Uebertragung von *Borrelia duttoni* durch *Ornithodoros moubata*. Acta Tropica, 21: 87–91.
- Graf, J.F., 1978. Copulation, nutrition et ponte chez *Ixodes ricinus* L. (Ixodoidea: Ixodidae), 1ère partie. Bull. Soc. Entomol. Suisse, 51: 89–97.
- Jones, L.D., Davies, C.R., Steele, G.M. and Nuttall, P.A., 1987. A novel mode of arbovirus transmission involving a nonviraemic host. Science, 237: 775–777.
- Kahl, O., Janetzki C., Gray, J.S., Stein, J. and Bauch, R.J., 1992. Tick infection with *Borrelia: Ixodes ricinus* versus *Haemaphysalis concinna* and *Dermacentor reticulatus* in two locations in Germany. Med. Vet. Entomol., 6: 363–366.
- Labuda, M., Jones, L.D., Williams, T., Danielova, V. and Nuttall, P.A., 1993. Efficient transmissions of tick-borne encephalitis virus between co-feeding ticks. J. Med. Entomol., in press.
- Lane, R.S., 1992. Effects of transovarially and transstadially-passed Lyme disease spirochetes on the development and reproductive biology of *Ixodes pacificus* (Acari: Ixodidae). In: First International Conference of Tick-Borne Pathogens at the Host-Vector Interface: An Agenda for Research. Proceedings and Abstracts, pp. 282–289.
- Lane, R.S., and Burgdorfer, W., 1987. Transovarial and transstadial passage of *Borrelia burgdorferi* in the Western black-legged tick *Ixodes pacificus* (Acari: Ixodidae). Am. J. Trop. Med. Hyg., 37: 188–192.
- Lane, R.S., Piesman, J. and Burgdorfer, W., 1991. Lyme borreliosis: relation of its causative agent to its vectors and hosts in North America and Europe. Ann. Rev. Entomol., 36: 587–609.
- Liebisch, A., Olbrich, S., Brand, A., Liebisch, M. and Mouretou-Kunitz, M., 1989. Natürliche Infektionen der Zeckenart *Ixodes hexagonus* mit Borrelien (*Borrelia burgdorferi*). Tierärztliche Umschau, 44: 809–810.
- Magnarelli, L.A., Anderson, J.F., Apperson, C.S., Fish, D., Russell, C.J. and Chappell, A.W., 1986. Spirochetes in ticks and antibodies to *Borrelia burgdorferi* in white-tailed deer from Connecticut, New York State, and North Carolina. J. Wildl. Dis., 22: 178–188.
- Magnarelli, L.A., Anderson, J.F. and Fish, D., 1987. Transovarial transmission of *Borrelia burgdorferi* in *Ixodes dammini* (Acari: Ixodidae). J. Infect. Dis., 156: 234–236.
- Oliver, J.H., Owsley, M.R., Hutcheson, H.J., James, A.M., Chen, C., Irby, W.S., Dotson, E.M. and McLain D.K., 1993. Conspecificity of the ticks *Ixodes scapularis* and *I. dammini* (Acari: Ixodidae). J. Med. Entomol., 30: 54–63.
- Peacock, M., Burgdorfer, W. and Ormsbee, R.S., 1971. Rapid fluorescent-antibody conjugation procedure. Infection and Immunity, 3: 355–357.
- Piesman, J., Donahue, J.G., Mather, T.N. and Spielman, A., 1986. Transovarially acquired Lyme disease spirochetes (*Borrelia burgdorferi*) in field-collected larval *Ixodes dammini* (Acari: Ixodidae). J. Med. Entomol., 23: 219.
- Stanek, G., Burger, I., Hirschl, A., Wewalka, G. and Radda, A., 1986. *Borrelia* transfer by ticks during their life cycle. Studies on laboratory animals. Zbl. Bakt. Hyg. (A), 263: 29–33.
- Telford, S.R. and Spielman, A., 1989. Competence of rabbit-feeding *Ixodes* (Acari: Ixodidae) as a vector of the Lyme disease spirochete. J. Med. Entomol. 26: 118–121.
- Toutoungi, L.N., Gern, L., Aeschlimann, A., 1993. Biology of *Ixodes (Pholeoixodes) hexagonus* under laboratory conditions. Part I. Immature stages. Exp. Apl. Acarol. In press.
- Toutoungi, L.N., Gern, L., Aeschlimann, A. and Debrot, S., 1991. A propos du genre *Pholeoixodes* parasite des carnivores sauvages en Suisse. Acarologia, 32: 311–328.

*DISCUSSION GENERALE ET
CONCLUSIONS*

IV. Discussion générale et conclusions

Les trois principaux buts du présent travail consistaient à compléter nos connaissances sur la distribution géographique d'*I. hexagonus* en Suisse en relation avec ses hôtes habituels, sur sa biologie, sur son rôle éventuel dans le cycle de la borréliose de Lyme. Les recherches les plus complètes entreprises auparavant en Europe sur *I. hexagonus* (Harris et Thompson, 1978; Aubert, 1983, Gilot et Aubert; 1985; Liebisch et Walter, 1986) décrivaient surtout l'écologie et quelquefois l'éthologie de cette tique. L'étude de la faune et de la biologie de la reproduction fournissent donc un complément indispensable à une meilleure compréhension et à une vue plus cohérente du cycle de la tique et de son rôle épidémiologique.

IV. 1. Etude faunistique

Le matériel de base (Collection "Tique de Suisse", collection de S. Debrot et le matériel du Centre de la rage à Berne) n'est pas représentatif de l'ensemble du territoire suisse. En revanche, la cartographie des tiques pholéophiles parasites des carnivores sauvages, établie à partir de ce matériel, a permis de montrer l'importante répartition d'*I. hexagonus* sur le territoire suisse, principalement en plaine, mais aussi dans les montagnes jusqu'à une altitude de 1380m (selon nos collections). On note également l'abondance d'*I. canisuga* dans les plaines. En outre, cette cartographie a permis de confirmer la présence très discrète, voir rare d'*I. rugicollis* en Suisse. Vu le mode de vie endophile de ces 3 espèces, il est souvent difficile d'obtenir des renseignements sur ces tiques. L'hôte étant le support trophique des tiques, peut jouer un rôle dans leur dissémination surtout chez les espèces monotropes et endophiles. La liste des hôtes sur lesquels elles se nourrissent contribue à la connaissance de leur biotope et de leur comportement. Si la tique est inféodée à une seule espèce animale, sa distribution est limitée aux nids de son hôte et la rencontre avec un nouvel hôte dépend de son passage

dans ces nids. Ainsi, *I. canisuga* apparaît comme une espèce "sauvage" liée aux terriers bien constitués, comme ceux des blaireaux et des renards. En Suisse, nous l'avons uniquement récoltée sur des animaux sauvages qui fréquentent ou peuvent fréquenter des terriers de renards et de blaireaux. Gilot et Aubert (1984) n'ont relevé sa présence que sur des chats à mœurs sauvages. Cependant, Liebisch et Walter (1986) indiquent que les chiens domestiques peuvent se trouver infestés par cette tique en revenant de la chasse au renard.

I. rugicollis semble lié aux Mustélidés selon Morel et Aubert, 1975. En Suisse, nous l'avons observé sur la fouine, mais également sur le chat. Malheureusement, le peu de données que nous possédons ne nous permet pas de commenter le genre de biotopes occupés par cette espèce.

Quant à *I. hexagonus*, elle a été récoltée sur différentes espèces animales. Les hôtes principaux sont le hérisson, le renard et les Mustélidés. La diversité des hôtes d'*I. hexagonus* témoigne de la diversité des biotopes occupés par cette tique et accroît les chances de sa dispersion. Ses biotopes sont loins d'être "sauvages". Le parasitisme de certains Mustélidés fréquentant les habitations humaines, celui des chats et des chiens domestiques, laissent supposer la présence d'*I. hexagonus* au voisinage de l'homme. Il est probable que le hérisson joue un rôle actif dans l'introduction ou le maintien de cette tique dans les zones urbaines (Rouvinez *et al.*, 1994). En effet, cet animal construit ses nids en forêt aussi bien que dans des jardins résidentiels (Berthoud, 1982); en outre, ses nids sont en général bien protégés (Berthoud, 1982) et présentent un biotope favorable à la survie d'*I. hexagonus*.

IV. 2. Etudes biologiques

I.V.2.I. Durée du cycle et biologie des stades immatures

Notre méthode d'élevage d'*I. hexagonus* présente deux intérêts majeurs: l'utilisation de mammifères de laboratoire, faciles à manipuler, et le bon rendement obtenu. Cette méthode simple nous a permis de préciser la durée du cycle biologique d'*I. hexagonus* (durée des repas sanguin, durée de post-nutrition) dans les conditions du laboratoire. Arthur (1951) et Honzakova (1971) ont montré que la durée du cycle est influencée par les changements de température et d'humidité. Effectivement, la période de post-nutrition des larves d'*I. hexagonus* gorgées et maintenues à 30°C (14 jours) est plus courte que celle des larves maintenues à 23°C (18 jours). Ces résultats laissent penser que dans la nature, le cycle pourrait être accéléré durant l'été et ralenti pendant l'hiver. Néanmoins, les localisations des stades libres décrites par Beaucournu et Matile (1963) (cavités souterraines) et par Aubert (1983) (enfoncés dans la terre de la voûte des terriers de renards) montrent que les biotopes naturels d'*I. hexagonus* sont saturés en humidité et stables du point de vue thermique. Ils offrent à l'espèce une protection contre les changements climatiques externes. On peut donc supposer que le cycle se déroule d'une manière régulière, à condition que la température ambiante de ce microbiotope reste constante. En revanche, si le microhabitat de la tique est en position relativement superficielle comme les nids d'été du hérisson, cette durée pourrait être influencée par les fluctuations climatiques externes.

Notre méthode d'élevage nous a aussi permis de démontrer chez les nymphes mâles et femelles d'*I. hexagonus*, l'existence de certains nombres de différences physiologiques qui se répercutent notamment lors du repas sanguin, sur le poids d'engorgement et sur la durée de post-nutrition. Chez *I. ricinus* ces différences physiologiques sont exprimées par le poids des nymphes gorgées et par la durée du repas sanguin (Graf, 1978a).

I.V.2.2. Reproduction

D'autres notions ont pu être précisées dans ce travail. Les rapports copulation-nutrition chez *I. hexagonus* n'avaient jamais été élucidés jusqu'ici. La rareté des mâles sur les hôtes, observée dans notre travail faunistique, indique que la rencontre des sexes et la copulation, s'effectuent en général dans la nature, en dehors de l'hôte comme c'est le cas chez la majorité des Prostriata (Graf, 1978b; Diehl *et al.*, 1982). D'ailleurs, au laboratoire, il est aisé de faire copuler mâles et femelles à jeun avant toute rencontre avec l'hôte.

L'étude de l'évolution du poids des femelles durant le repas sanguin d'*I. hexagonus* a montré que la copulation est indispensable à l'intervention de la phase rapide de gorgement, soit à l'achèvement normal du repas. C'est d'ailleurs ce qui a été décrit par plusieurs auteurs (Snow, 1967; Pappas et Oliver, 1972; Graf, 1978b; Randolph, 1980; Rechav et Knight, 1981). Chez *D. variabilis* (Coons *et al.*, 1989) cette phase rapide correspond au déclenchement de la vitellogenèse et à la production des œufs. Par contre, chez certaines femelles vierges de cette espèce, la vitellogenèse est déclenchée après une période de prise de sang prolongée (Rosell-Davis et Coons, 1989). Chez *I. hexagonus*, les femelles vierges ne connaissent pas de phase rapide de gorgement. Néanmoins, elles restent fixées sur l'hôte et poursuivent leur prise de sang, en une phase lente de nutrition, puis se détachent et pondent un nombre normal d'œufs en relation avec leur poids de gorgement. Cette période de prise de sang prolongée permet donc l'accomplissement de la vitellogenèse et la ponte d'œufs, dont la majorité ne sera pas viable; cependant, 1%-3%, des œufs pondus écloreont. On observe donc une parthénogenèse facultative chez *I. hexagonus*. Ce type de reproduction est rare parmi les Ixodides (Diehl *et al.*, 1982). A notre avis, il augmente le potentiel reproductif de la tique, en particulier lorsque la copulation intervient tardivement. En effet, la fécondation de femelles vierges d'*I. hexagonus* pendant ou après la fin de la nutrition

conduit à la ponte d'œufs viables (observation non publiée). Cette particularité a été démontrée également chez *I. canisuga* (Smith, 1972), l'espèce de tique la plus proche taxonomiquement d'*I. hexagonus*.

IV. 3. Etude épidémiologique

La dernière partie du présent travail consistait à déterminer le rôle éventuel d'*I. hexagonus* dans le cycle de la borréliose de Lyme. *B. burgdorferi* a été observé dans les intestins de plusieurs espèces de tiques appartenant à des genres tels que *Ixodes*, *Amblyomma*, *Dermacentor*, *Haemaphysalis* et *Rhipicephalus* (Anderson *et al.*, 1985; Rawling, 1986; Lane et Burgdorfer, 1988; Lane *et al.*, 1991). Cependant, seules les tiques du genre *Ixodes* appartenant au complexe *I. ricinus* sont semble-t-il capables de transmettre le spirochète à un vertébré (Burgdorfer *et al.*, 1982, 1983; Anderson, 1989). Le cas d'*I. dentatus* reste particulier car sa position systématique n'est pas clairement définie (Clifford *et al.*, 1973; Brown, 1994). Ainsi, il semble que certaines espèces peuvent héberger le spirochète sans pouvoir le transmettre à un animal ou sans pouvoir le maintenir au sein d'une population de tiques, par la transmission transstadiale ou transovarienne. Une affinité est donc nécessaire entre *B. burgdorferi* et l'espèce de tique qui l'héberge pour que le spirochète soit finalement transmis à un vertébré. Dans cette étude, nous avons montré qu'*I. hexagonus* est capable de transmettre le spirochète à des souris de laboratoire et de maintenir l'infection par voie transstadiale et transovarienne. En l'état actuel de nos connaissances, *I. hexagonus* est la seule espèce, en Europe, n'appartenant pas au complexe *I. ricinus*, qui soit capable de transmettre *B. burgdorferi* à un vertébré. Nous avons aussi prouvé la capacité de cette espèce de tique de maintenir l'infection via la transmission transovarienne jusqu'à la première descendance au moins, sans l'intervention d'un hôte infecté. La transmission transovarienne a été démontrée chez les principaux vecteurs: *I. ricinus* (Burgdorfer *et al.*, 1982; Stanek *et al.*, 1986), *I. scapularis* (Bosler *et al.*, 1983; Piesman *et al.*, 1986; Magnarelli *et al.*,

1987) et *I. pacificus* (Burgdorfer *et al.*, 1985; Lane et Burgdorfer, 1987; Lane *et al.*, 1991). Chez *I. ricinus*, 2/180 femelles examinées (1.1%) ont transmis *B. burgdorferi* à 60% et 100% de leurs progénitures (Burgdorfer *et al.*, 1983). Dans un autre travail, Stanek *et al.* (1986) mettent en évidence la capacité des larves d'*I. ricinus* infectées via la transmission transovarienne à transmettre l'infection à un animal de laboratoire. Magnarelli (1987) récolte 5 femelles d'*I. scapularis* qui ont transmis le spirochète à 3.3-27% des larves. Par ailleurs, Burgdorfer *et al.* (1988) examinant 12 femelles de la nature, n'ont pas signalé d'infection chez les larves. Chez *I. pacificus*, une femelle a transmis le spirochète à 100% des larves qui ont maintenu l'infection jusqu'à 5 générations (Lane et Burgdorfer, 1987; Lane *et al.*, 1991). La capacité de ces larves à transmettre le spirochète à un animal n'a pas été démontrée. Les recherches menées sur le développement de *B. burgdorferi* dans *I. scapularis* ont montré qu'une invasion massive des spirochètes dans les ovocytes empêche la maturation des œufs (Burgdorfer *et al.*, 1988). Bien que, dans certaines conditions, une légère infection des ovaires peut conduire à la production des progénitures infectées (Burgdorfer *et al.*, 1989). Il apparaît donc que la transmission transovarienne est peu fréquente chez ces espèces. Chez *I. ricinus* elle est autour de 1.1% (Burgdorfer *et al.*, 1983); ce qui explique la rareté des larves à jeun infectées dans la nature. Vu le faible pourcentage d'infection des larves dans la nature, certains auteurs ont considéré ce mode de transmission d'importance minime dans le maintien du spirochète (Zhioua *et al.*, 1988, 1994; Burgdorfer *et al.*, 1988; Burgdorfer *et al.*, 1991; Schoeler et Lane, 1993). Toutefois, Randolph (1994) a constaté, selon un modèle mathématique, la contribution relative de 1% des larves infectées transovarierement dans le maintien du cycle de *B. burgdorferi*. En ce qui concerne *I. hexagonus*, Rouvinez *et al.* (1994) ont montré que 76% des femelles récoltées sur des hérissons, ont transmis *B. burgdorferi* à 2% et à 30% de leurs progénitures; ce qui suggère que la transmission transovarienne se produit assez fréquemment chez cette espèce et qu'elle est plus importante que chez *I. ricinus*. Des

études complémentaires sont nécessaires pour étudier la fréquence de la transmission transovarienne chez *I. hexagonus* et pour déterminer le rôle des larves infectées via les ovaires dans le cycle de transmission du spirochète dans la nature. *I. hexagonus* joue donc un rôle important dans le maintien du cycle de *B. burgdorferi* dans la nature. Ce rôle consisterait à conserver un foyer "endophile" où le spirochète survivrait à travers la tique et son hôte en circuit fermé. Rouvinez *et al.* (1994) ont mis en évidence, dans un milieu urbain, la présence d'un tel foyer "endophile" de borrelie faisant intervenir uniquement *I. hexagonus* et le hérisson. Ces mêmes auteurs, dans une zone suburbaine, ont par ailleurs capturé des hérissons présentant une double infestation par *I. ricinus* et *I. hexagonus*. Sachant que le hérisson se déplace fréquemment entre les zones urbaines et les zones suburbaines (Berthoud, 1982), on pourrait supposer que les foyers "endophiles", maintenus par *I. hexagonus* et le hérisson, sont liés à un autre cycle de transmission, maintenu cette fois par *I. ricinus* et ses hôtes. D'ailleurs, le rôle du hérisson dans le maintien du spirochète a été évoqué par Gray *et al.* (1994). La diversité des hôtes d'*I. hexagonus* et son activité parasitaire exercée durant tous les mois de l'année pourront aussi jouer un rôle dans la propagation de *B. burgdorferi* pendant les périodes où *I. ricinus* est inactif, comme en hiver. Prenons par exemple le cas du renard, hôte fréquent d'*I. hexagonus* et d'*I. canisuga*. En France, cet animal s'est révélé sérologiquement positif pour *B. burgdorferi* (Doby *et al.*, 1991c). Les adultes présentaient des titres d'anticorps plus élevés que les jeunes renardeaux, signalant ainsi des infections de longue date et surtout plus fréquentes. En Suisse, et dans 42% des cas, le renard présentait des infestations mixtes avec *I. hexagonus*, *I. canisuga* et *I. ricinus*. Rien n'empêche de croire à l'existence d'un cycle de transmission du spirochète où interviennent le renard, *I. ricinus* et *I. hexagonus*, et impliquant en outre *I. canisuga*, cette dernière espèce ayant été observée hébergeant *B. burgdorferi* (Estrada-Pena, 1991, Doby, *et al.*, 1991a). L'existence des foyers "endophiles" ne présente pas un danger direct pour l'homme; néanmoins, ces foyers participent à la dissémination du spirochète

en impliquant plusieurs espèces d'hôtes et d'autres espèces de tiques. Ceci montre que le cycle naturel de *B. burgdorferi* est beaucoup plus complexe qu'il ne le paraissait de prime abord. Des études ultérieures sont nécessaires afin de mieux cerner l'implication d'*I. hexagonus* et surtout de ses hôtes dans l'écologie de la borréliose de Lyme.

RESUME

Cette étude nous a permis d'approfondir nos connaissances d'*I. hexagonus* au travers de trois études:

Etude faunistique

La distribution géographique en Suisse des espèces de tique appartenant au groupe *Pholeoixodes* parasites des Carnivores sauvages a été approfondie. La répartition d'*I. hexagonus* couvre la Suisse entière, en plaine comme en montagne. On l'observe ainsi à des altitudes relativement élevées, jusqu'à 1380m. Cette tique parasite surtout le hérisson, le renard et tous les Mustélidés. Les chats et les chiens domestiques sont assez souvent infestés par *I. hexagonus*. La répartition d'*I. canisuga* semble être limitée aux plaines. Cette espèce parasite essentiellement le renard et le blaireau. Quant à *I. rugicollis* sa présence dans ce pays est confirmée.

Etude biologique

L'établissement d'une méthode d'élevage relativement simple et le bon rendement obtenu nous ont permis de déterminer certains paramètres du cycle biologique de cette tique. Les particularités de chaque stade ont été évoquées: durée des repas sanguins, durée des périodes de post-nutrition, détermination du sexe des nymphes en fonction de leur poids après le repas sanguin et la durée de post-nutrition.

L'étude de la biologie de reproduction chez *I. hexagonus* a montré que la copulation avant la nutrition est indispensable à l'achèvement normal du repas sanguin et à la ponte d'œufs viables. Toutefois, sans l'intervention de la copulation, la vitellogenèse peut être déclenchée après un repas sanguin prolongé conduisant à la ponte d'œufs dont quelques uns éclore. Ce type de reproduction, par parthénogenèse facultative, augmente le

potentiel reproductif des femelles; surtout que les copulations tardives conduisent à la ponte d'œufs viables.

Etude épidémiologique

Nous avons montré la capacité d'*I. hexagonus* de transmettre *B. burgdorferi* à un vertébré et de maintenir l'infection au sein d'une population de tiques via la transmission transstadiale et transovarienne. *I. hexagonus* joue ainsi un rôle important dans l'écologie de la borréliose de Lyme en assurant la circulation de *B. burgdorferi* dans des foyers "endophiles", dans les zones où *I. ricinus* est absent et pendant les périodes où il est inactif. Des études ultérieures seraient nécessaires pour mettre en évidence le rôle de tels foyers maintenus par *I. hexagonus* et ses hôtes. Cela permettrait de résoudre quelques-unes des nombreuses questions qui se posent encore concernant l'épidémiologie de la borréliose de Lyme.

Remerciements:

J'adresse mes plus sincères remerciements à tous ceux qui ont contribué de près et de loin à la réalisation de cette thèse.

Je tiens tout particulièrement à faire part de ma gratitude et j'adresse mes sincères remerciements à Monsieur le Professeur André Aeschlimann qui m'a accueillie dans son laboratoire et a mis à ma disposition tous les moyens nécessaires pour me permettre de mener ce travail à son terme. Ses conseils, ses réflexions et surtout sa patience m'ont beaucoup soutenues tout au long de mes études.

Le Dr Lise Gern, de l'Institut de Zoologie de Neuchâtel, s'est engagée à fond dans cette recherche. Sans le soutien permanent qu'elle m'a accordé au cours de ces recherches, ce travail n'aurait jamais vu le jour. Je la remercie profondément.

Mes remerciements vont également:

- au Dr B. Betschart, pour l'intérêt et l'aide qu'il a accordés à cette étude lors de son arrivée à l'Institut de Zoologie de Neuchâtel;
- aux: Dr J.F. Graf, Dr O. Péter, Dr L. Béati, membres du jury, pour avoir pris le temps nécessaire pour juger ce travail et m'adresser des remarques judicieuses.
- au Dr. G. Wandeler, du Centre de la rage à Berne, qui nous a fourni une grande partie du matériel nécessaire pour commencer cette thèse;
- au Professeur P. Goeldlin, du Musée Zoologique de Lausanne, qui a mis à ma disposition la collection "Tiques de Suisse";
- au Dr N. Lachat pour nous avoir fourni le matériel concernant *I. rugicollis*;
- à A. M Cotti pour son assistance concernant la détermination des tiques;
- à Mme J. Moret, qui a été toujours disponible pour ce qui touchait au domaine de la statistique;
- à Mlle J. Pont, dont l'amitié, la disponibilité et l'aide dans les recherches bibliographiques m'ont beaucoup aidé;

-à Mme C.M. Hu, pour sa collaboration lors des expériences sur l'infection artificielle des tiques;

- au M. O. Rais, qui a contribué minutieusement à la préparation du matériel nécessaire pour la réalisation de nos expériences;

- à M. A. Collaud, pour son assistance technique;

- plus particulièrement, je tiens à remercier le Dr F. de Marval pour son soutien, son amitié et ses encouragements multiples, pour ses remarques impitoyables qui ont contribué à une meilleure réalisation de cette thèse.

- à tous mes collègues de l'Institut de Zoologie de Neuchâtel qui m'ont soutenue et encouragée tout au long de ce travail;

Enfin, une dernière pensée est adressée à mes parents qui ont suscité mon intérêt pour la parasitologie, plus particulièrement à mon frère le Dr. méd. M. Toutoungi, passionné par les sciences humaines, et qui m'a transmis la patience nécessaire à toute recherche.

BIBLIOGRAPHIE

Bibliographie

- Aeschlimann, A., Büttiker, W., Elbl, A. & Hoogstraal, H. (1965): A propos des tiques de Suisse (Arachnoidea, Acarina, Ixodoidea). Rev. Suisse Zool., 72: 577-583
- Aeschlimann, A. (1967): Biologie et écologie des tiques (Ixodoidea) de Côte d'Ivoire. Acta Tropica, 24 (4): 281-405
- Aeschlimann, A. (1972): *Ixodes ricinus* Linné, 1768 (Ixodoidea: Ixodidae). Essai préliminaire de synthèse sur la biologie de cette espèce en Suisse. Acta Tropica, 29: 321-340
- Aeschlimann, A., Burgdorfer, W., Matile, H., Péter, O. & Wyler, R. (1979): Aspects nouveaux du rôle de vecteur joué par *Ixodes ricinus* (L.) en Suisse. Acta Tropica, 36: 181-191
- Aeschlimann, A. (1981). The role of hosts and environment in the natural dissemination of ticks. Studies on a Swiss population of *Ixodes ricinus* L. 1758. Rev. Adv. Parasit. (Ed. W. Slusarski). Polish Scientific Publishers, Warszawa. 1981 (ICOPA IV): 859-869
- Aeschlimann, A., Schneeberger, S., Pfister, K., Burgdorfer, W. & Cotty, A. (1982): Données nouvelles sur les tiques Ixodides du canton de Tessin (Suisse) et sur la présence d'agents rickettsiens dans leur hémolymphe. Annu. Soc. Helv. Sci. Nat., 1: 58-68
- Afzelius, A. (1910): Verhandlung der dermatologischen Gesellschaft zu Stockholm. Arch. Derm. Syph., 101: 404-406
- Ai, C. & Wu, X. (1989): Lyme disease in China. In: Lyme Borreliosis II. Zbl. Bakt. Suppl. 18 (Ed. Stanek). Gustav Fisher: 75-76.
- Anderson, J.F. (1989): Epizootiology of *Ixodes* tick vectors and reservoir hosts. Rev. Infect. Dis., 11: S1451-9
- Anderson, J. F. & Magnarelli, L. A. (1984): Avian and mammalian hosts for spirochete infected ticks and insects in a Lyme disease focus in Connecticut. Y. J. Biol. Med., 57: 627-641
- Anderson, J.F., Johnson, R.C., Magnarelli, L.A. & Hyde, F.W. (1985): Identification of endemic foci of Lyme disease: Isolation of *Borrelia burgdorferi* from feral rodents and ticks (*Dermacentor variabilis*). J. Clin. Microbiol., 22: 394-396
- Arthur, D.R. (1951): The bionomics of *Ixodes hexagonus* Leach in Britain. Parasitology, 41: 82-90
- Arthur, D.R. (1953): The host relationships of *Ixodes hexagonus* Leach in Britain. Parasitology, 43: 227-238
- Arthur, D. R., (1955): Observations on collections of ticks from Denmark. Ent. Med., 27: 76-81

- Arthur, D.R.** (1963): British Ticks. Butterworth, Londres. 213 pp.
- Arthur, D.R. & Thompson, G.B.** (1953): Records of ticks collected from birds in the British Isles. *Ann. Mag. Nat. Hist.*, 12 (6): 797-800
- Aubert, M.F.A.** (1974): Identification en France de *Pholeoixodes rugicollis* (Schulze et Schlotzke, 1929) et première observation des stades préimaginaux de cette espèce. *Ann. Parasit. Hum. Comp.*, 49 (2): 247-248
- Aubert, M.F.A.** (1975): Contribution à l'étude du parasitisme du renard (*Vulpes vulpes* L.) par les Ixodidae (Acarina) dans le Nord-Est de la France. Interprétation de la dynamique saisonnière des parasites en relation avec la biologie de l'hôte. *Acarologia*, 17: 452-479
- Aubert, M.F.A.** (1981): Breeding of the tick *Ixodes (Pholeoixodes) rugicollis* (Acari: Ixodidae) under laboratory conditions. *J. Med. Entomol.*, 18 (4): 324-327
- Aubert, M.F.A.** (1983): Contribution à l'étude des ectoparasites du renard et d'autres Carnivores sauvages de l'Est de la France et à l'étude du rôle des Arthropodes dans l'épizootie de la rage vulpine. Thèse Doctorat d'État Sciences Naturelles, Faculté des Sciences, Nancy 1: 346 pp.
- Babos, S.** (1964): Die Zeckenfauna Mitteleuropas. Akad. kiado. Budapest: 410 pp.
- Bailly-Choumara, H., Morel, P.C. & Rageau, J.** (1974): Première contribution au catalogue des tiques du Maroc (Acari, Ixodoidea). *Bull. Soc. Sc. Ph. Nat. Maroc*, 54 (1-2): 71-80
- Baranton, G., Postic, D., Saint-Girons, I., Boerlin, P., Piffaretti, J.C. Assous, M. & Grimont, P.A.D.** (1992): Delineation of *Borrelia burgdorferi* sensu stricto, *Borrelia garinii* spp. nov., and group VS461 associated with Lyme borreliosis. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 42: 378-383
- Barbour, A.G., Burgdorfer, W. Hayes, S.F., Péter, O. & Aeschlimann, A.** (1983): Isolation of a cultivable spirochete from *Ixodes ricinus* ticks of Switzerland. *Curr. Microbiol.*, 140: 507-516
- Barbour, A.G.** (1984): Isolation and cultivation of Lyme disease spirochetes. *Yale J. Med.*, 57: 521-525
- Beaucournu, J.C. & Matile, L.** (1963): Contribution à l'inventaire faunistique des cavités souterraines de l'Ouest de la France. 3, liste des espèces. Bibliographie. *Ann. Spéléol.*, 18 (4): 519-531
- Berthoud, G.** (1982): Contribution à la biologie du hérisson (*Erinaceus europaeus* L.) et application à sa protection. Thèse doctorat ès Sciences, Univ. Neuchâtel. 247 pp.
- Blanc, G. & Bruneau, J.** (1958): Apparition saisonnière d'*Ixodes* sur lapins, petits mammifères et lézards de la forêt de Néfifik. *Arch. Inst. Pasteur Maroc*, 5 (8): 493-498
- Bosler, E.M., Coleman, J.L., Massey, D.A. & Hanrahan, J.P.** (1983). Natural distribution of the *Ixodes dammini* spirochete. *Science*, 220: 321-322

- Browning, E. & Airy Shaw, H.K. (1944): On the discovery of number of males of a tick *Ixodes hexagonus* Leach with a note on their habitat. Proc. Linn. Soc. Lond., 156: 96-99
- Brown, R.N. (1994): Confirmation of the conspecification of two American vectors of the agent of Lyme disease. Parasitology Today, 10 (9): 334-335
- Burgdorfer, W., Barbour, A.G., Hayes, S.F., Benach, J.L., Grunwaldt, E. & Davis, J.P. (1982): Lyme disease- a tick-borne spirochetosis ?, Science. 216: 1317-1319
- Burgdorfer, W., Barbour, A. G., Hayes, S. F., Péter, o. & Aeschlimann, A. (1983): Erythema chronicum migrans- a tick borne spirochetosis. Acta tropica, 40: 79-83
- Burgdorfer, W., Lane, R.S., Barbour, R.A., Gresbrink, R.A. & Anderson, J.R. (1985): The western black-legged tick, *Ixodes pacificus*: A vector of *Borrelia burgdorferi*. Am. J. Trop. Med. Hyg. 34 (5): 925-930.
- Burgdorfer, W., Hayes, F.S. & Benach, J.L. (1988): Development of *Borrelia burgdorferi* in *Ixodid* tick vectors. Ann. N. Y. Acad. Sci. 539: 172-179.
- Burgdorfer, W., Hayes, S.F. & Corwin, D. (1989): Pathophysiology of the Lyme disease spirochete, *Borrelia burgdorferi*, in ixodid ticks. Rev. Infect. dis. 11: S1442-S1450.
- Burgdorfer, W, Anderson, J.F., Gern, L., Lane, R.S., Piesman, J. & Spielman, A. (1991): Relationship of *Borrelia burgdorferi* to its arthropod vectors. Scan. J. Infect. Dis. Suppl., 77: 35-40.
- Camicas, J.L., & Morel, P.C. (1977): Position systématique et classification des tiques (Acarina. Ixodidae). Acarologia. 18 (3): 410-420.
- Canica, M.M., Nato, N., du Merle, L., Mazie, J.C., Baranton, G. & Postic, D. (1993): Monoclonal antibodies for identification of *Borrelia afzelii* sp. nov. associated with late cutaneous manifestations of Lyme borreliosis. Scand. J. Infect. Dis. 25: 441-448.
- Carter, W.F. (1955): A case of human parasitization by *Ixodes hexagonus* Leach (hedgehog tick). Brit. Med. J. 4946 (65): 1012.
- Cerny, V. 1961. On the diagnosis of the tick *Ixodes hexagonus* Leach by its larvae and nymphs. Acad. Nauk. SSSR. 40: 184-188.
- Clifford, C.M., Sonenshine, D.E., Keirans, J. & Kohls, G.M. (1973): Systematics of the subfamily Ixodinae (Acarina: Ixodidae). 1. The subgenera of *Ixodes*. Ann. Entomol. Soc. Am. 66 (3): 489-500.
- Condoret, A., Bailenger, J. & Amyot, B. (1962): La piroplasmose canine dans le Sud-Ouest de la France. Ann. Parasitol. Hum. Comp. 37 (4): 483-494.
- Coons, L.B., Lamoreaux W.J., Rosell-Davis, R. & Tarnowski, B. (1989). Onset of vitellogenin, production and vitellogenesis, and their relationship to changes in the midgut epithelium and oocytes in the tick *Dermacentor variabilis*. Exp. Appl. Acarol. 6: 291-305.
- Cordas, T. Aeschlimann, A. & Morel, P.C. (1993): Étude morphologique des *Ixodidae* s. str. (Schulze, 1937) de Suisse au microscope électronique à balayage. Acarologia. XXXIV (1): 21-46.

- Cornely, M. & Schultz, U. (1992): The tick fauna of Eastern Germany. *Angew Parasitol.* **33** (3): 173-83.
- Didier, R. & Rode, P. (1935). Les mammifères de France. *Arch. Hist. Nat. Soc. Aclimat. fr.* **10**: 398 pp.
- Diehl, P.A., Aeschlimann, A. & Obenchain, F. (1982): Tick reproduction: Oogenesis and oviposition. In: *Physiology of ticks*, F. Obenchain and R. Galun, P (Editors), Pergamon Press, Oxford: 277-350.
- Doby, J.M., Chevrier, S. & Couatarmanac'h, A. (1988): La spirochétose à tiques par *Borrelia burgdorferi* chez les chiens dans l'Ouest de la France. Examens sérologiques systématiques de 806 chiens de meutes et 88 chiens de 14 départements. *Rec. Méd. Vét.* **164** (5) 367-364
- Doby, J.M., Bigaignon, G., Launay, H., Costil, C. & Lorvellec, O. (1990): Présence de *Borrelia burgdorferi*, agent de spirochétoses à tiques, chez *Ixodes (exopalpiger) trianguliceps* Birula, 1895 et *Ixodes (Ixodes) acuminatus* Neumann 1901 (*Acarieni* Ixodidae) et chez *Cnetophthalmus boeticus arvernus* Jordan, 1931 et *Megabothris turbidus* Rothschild, 1909) (*Insecta Siphonoptera*), ectoparasites de micromammifères des forêts dans l'Ouest de la France. *Bull. Soc. Franç. Parasitol.* **8**: 311-322.
- Doby, J. M., Bigaignon, G., Aubert, M. & Imbert, G. (1991a): Ectoparasites du renard et borreliose de Lyme. Recherche de *Borrelia burgdorferi* chez les tiques Ixodidae et *Insecta Siphonoptera*. *Bull. Soc. Franç. Parasitol.* **9** (2): 279-288.
- Doby, J. M., Betremieux, C., Rolland, C. & Barrat, J. (1991b): Les grands mammifères forestiers, réservoirs de germe pour *Borrelia burgdorferi*, agent de la maladie de Lyme? Recherche des anticorps chez 543 cervidés et suidés. *Rec. Med. Vet.* **167**: 55-61.
- Doby, J. M., Betremieux, C., Barrat, J. & Rolland, C. (1991c): Spirochétose à tiques par *Borrelia burgdorferi* chez les carnivores sauvages en France. Résultats de l'examen sérologique de 372 renards. *Bull. Soc. Path. exot.* **84**: 46-53.
- Eichler, W. (1968): Kritische Liste mitteleuropäischer Zeckenarten. *Angew Parasitol.* **9** (2): 88-97.
- Estrada-Pena, E. (1991): Lyme disease reported in Spain. *Sove Newsletter.* **22** (1): 6-7.
- Feider, Z., & Rauchbach, C. (1960): *Ixodes hexagonus* Leach 1815 et *Ixodes crenulotus* Koch 1835 sont deux espèces distinctes. *Acarologia.* **2**: 300-307.
- Filippova, N.A. (1961): On the taxonomy of ticks of the group "crenulatus" (Ixodidae, *Ixodes, Pholeoixodes*). *Akad. Nauk. SSSR.* **20**: 226-247.
- Garin, Ch. & Bujadoux, M. (1922): Paralysie par les tiques. *J. Med. Lyon.* **71**: 765-767.
- Genchi, C., Magnino, S., Pacetti, A., Simeoni, J., Di Siaco, B & Falagiani, P. (1989): *Argas reflexus*, possible vettore di *Borrelia burgdorferi*. *Gior. Mal. infett. parassit.* **41** (84): 403-408.
- Gil Collado, J. (1948): Acaros Oxodoideos de cataluna y Baleares. *Mus. Cien. Nat. Barcelona.* **10**: 11 p.

- Gilot, B. (1975): Recherche des rickettsies hébergées par les tiques (Acariens, Ixodoidea) du Sud-Est de la France. Premier bilan. Contexte écologique de rencontre avec l'homme. Bull. Soc. Path. exotique. 68 (6): 529-538
- Gilot, B. (1985): Bases biologiques, écologiques et cartographiques pour l'étude des maladies transmises par les tiques (Ixodidae, Argasidae) dans les Alpes françaises et leur avant-pays. Thèse doctorat ès Sciences, Grenoble, 535 pp.
- Gilot, B. & Aubert, M.F.A. (1984): Le parasitisme des carnivores domestiques par les tiques du genre *Pholeoixodes* (Acarina, Ixodoidea) dans les Alpes françaises et leur avant-pays: bases écologiques. Écol. applic., 5 (4): 355-367.
- Gilot, B. & Aubert, M.F.A. (1985): Les Ixodidae (Acariens, Ixodoidea) parasites des Carnivores sauvages dans les Alpes françaises et leur avant-pays. Acarologia. 26: 215-233.
- Giroud, P., Capponi, M., Dumas, N. & Rageau, J. (1965): Les *Ixodes ricinus* et *hexagonus* de France contiennent des agents rickettsiens. C. R. Acad. Sc. Paris. 260: 4874-4876.
- Gothe, R., Stendel, W. & Holm, R. (1977): Zum Vorkommen von *Ixodes canisuga* Johnston 1848 in Deutschland, ein Beitrag zur *Ixodes* Fauna. Z. Parasitenk., 53 (1): 123-128
- Graf, J.F. (1978a): Copulation, nutrition et ponte chez *I. ricinus* L. (Ixodoidea: Ixodidae)- 1er partie. Bull. Soc. Ent. Suisse, 51: 89-97
- Graf, J.F. (1978b): Copulation, nutrition et ponte chez *Ixodes ricinus* L. (Ixodoidea: Ixodidae)- 3e partie. Bull. Soc. Entomol., Suisse. 51: 343-360.
- Gray, J.S., Kahl, O., Janetzki-Mittman, C., Stein, J. & Guy, E. (1994): Acquisition of *Borrelia burgdorferi* by *Ixodes ricinus* ticks fed on the European hedgehog, *Erinaceus europaeus* L. Exp. Appl. Acarology, 18: 485-491
- Harris G.H., & Thompson, G. (1978): Populations of the ticks *Ixodes (Pholeoixodes) hexagonus* and *Ixodes (Pholeoixodes) canisuga* infesting suburban foxes, *Vulpes vulpes*. J. Zool., 186: 83-93.
- Hess, G.H. & Völker, K. (1984): *Ixodes (Pholeoixodes) canisuga (Ixodidea: ixodidae)*: Parasite des Rotfuchses (*Vulpes vulpes* L.) im Raum (Nord-Rhein Westtsalen). Z. Angew. Zool., 4: 503-504.
- Honzakova, E. (1971): Development of some tick species under standard laboratory conditions. Folia Parasitologia (PRAHA), 18: 357-363.
- Hoogstraal, H. & Aeschlimann, A. (1982): Tick-host specificity. Bull. Soc. Ent. Suisse. 55: 5-32.
- Humair, P.F., Turrian, N., Aeschlimann, A. & Gern, L. (1993a): *Borrelia burgdorferi* in a focus of Lyme borreliosis: epizootiologic contribution of small mammals. Folia Parasitol. 40: 65-70.
- Humair, P.F., Turrian, N., Aeschlimann, A. & Gern, L. (1993b): *Ixodes ricinus* immatures on birds in a focus of Lyme borreliosis. Folia Parasitol. 40: 237-242

- Jaenson, T.G.T., Tälleklint, L., Lundqvist, L., Olsen, B., Chirico, J. & Mejlom, H. (1994): Geographical distribution, host associations, and vector roles of Ticks (Acari: Ixodidae, Argasidae) in Sweden. *J. Med. Entomol.* **31** (2): 240-256
- Johnson, R.C., Schmid, G.P.P., Hyde, F.W., Steigerwalt, A.G. & Brenner, D.J. (1984): *Borrelia burgdorferi* sp. nov.: etiologic agent of Lyme disease. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **34** (4): 496-497.
- Kahl, O., Janetzki C., Gray, J.S., Stein, J. & Bauch, R.J. (1992): Tick infection with *Borrelia: Ixodes ricinus* versus *Haemaphysalis concinna* and *Dermacentor reticulatus* in two locations in Germany. *J. Vet. Entomol.* **6**: 363-366.
- Kawabata, M., Baba, S., Iguchi, K., Yamaguti, N. & Russell, H. (1987): Lyme disease in Japan and its possible incriminated tick vector, *Ixodes persulcatus*. *J. Infect. Dis.* **156** (5): 854.
- Kolonin, G.V. (1981): World distribution of ixodid ticks (genus *Ixodes*). *Akad. Nauk. SSSR, Dal'n Nauch. "Nauka". Moskova*: 115 pp.
- Korenberg, E.I., Shcherbakov, S.V., Bannova, G.G., Levin, M.L., & Karavanov, A.S. (1990): Simultaneous infection of *Ixodes persulcatus* ticks with agents of Lyme disease and tick-borne encephalitis (en russe: résumé en anglais). *Parazitologija.* **24** (2): 102-105.
- Krivanec, K., Kopecky, J., Tomkova, E. & Grubhoffer, L. (1988): Isolation of TBE virus from the tick *Ixodes hexagonus*. *Folia Parasitologica.* **53**: 273-276.
- Lachmajer, J. (1967): Species composition and distribution of Ixodoidea (Acarina) in Poland. *Wiad. Parazitol.* **13** (4, 5): 511-515.
- Lamontellerie, M. (1965): Les tiques (Acariens: Ixodoidea) du Sud-ouest de la France. *Ann. Parasit. Hum. Comp.* **40** (1): 87-100.
- Lane, R.S. & Burgdorfer, W. (1987): Transovarial and transstadial:passage of *Borrelia burgdorferi* in the Western black-legged tick *Ixodes pacificus* (Acari: Ixodidae). *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **37**: 188-192.
- Lane, R.S. & Burgdorfer, W. (1988): Spirochetes in mammals and ticks (Acari: Ixodidae) from a focus of Lyme borreliosis in California. *J. Wldl. Dis.* **14**: 1-9.
- Lane, R.S., Piesman, J., & Burgdorfer, W. (1991): Lyme borreliosis: relation of its causative agent to its vectors and hosts in North America and Europe. *Ann. Rev. Entomol.* **36**: 587-609.
- Liebisch, A. & Walter, G. (1986): Untersuchungen von Zecken bei Haus- und Wildtieren in Deutschland: zum Vorkommen und zur Biologie der Igelzecke (*Ixodes hexagonus*) und der Fuchszecke (*Ixodes canisuga*). *Dtsch. Tierärztl. Wochenschr.* **93**: 447-450.
- Liebisch, A., Olbrich, S., Brand, A., Liebisch, G. & Mourettou-Kunitz, M. (1989): Natürliche Infektion der Zeckenart *Ixodes hexagonus* mit Borrelien (*Barrelia burgdorferi*). *Tierärztl. Umschau.* **44**: 809-810.

- Liebisch, A. & Olbrich, S. (1991): The hedgehog tick, *Ixodes hexagonus* Leach, 1815, as a vector of *Borrelia burgdorferi* in Europe. Modern Acarology. Academia, Prague and SPB Academic publishing bv, The Hague. 2: 67-71.
- Liebisch, G., Schmidt, M., Liebisch, A. & Lehmacher, W. (1994): Tick bites in humans with *Borrelia* infected *Ixodes ricinus* and the prevention by repellent. IVInt. Conf. LB. Bologne.
- Lipschütz, B. (1913): Über die seltene Erythemform (erythema chronicum migrans). Arch. Dermatol. syphilol. 118: 349.
- Magnarelli, L.A., Anderson, J.F., & Fish, D. (1987): Transovarial transmission of *Borrelia burgdorferi* in *Ixodes dammini* (Acari: Ixodidae). J. Infect. Dis. 156: 234-236.
- Manhert, V. (1971): Parasitologische Untersuchungen in alpinen Kleinsäugetern: Ixodoidea (Acari). Mit. Schweiz. Entomol. Gesellschaft. 44: 323-332.
- Marquez, F.J. & Constant, M.C. (1990): Infection d'*Ixodes ricinus* (L., 1758) et *Haemaphysalis punctata* Canestrini et Fanzaco, 1077 (Acarina: Ixodidae) par *Borrelia burgdorferi* dans le Nord de la Péninsule Ibérique (Pays basque espagnol et Navarre). Bull. Soc. Fr. Parasitol. 8 (2): 323-330.
- Matuschka, F.R., Richter, D., Fischer, P. & Spielman, A. (1990): Nocturnal detachment of the tick *Ixodes hexagonus* from nocturnally active hosts. Med. Vet. Ent. 4: 323-332.
- Masuzawa, T., Okada, Y., Yanagihara, Y. & Sato, N. (1991): Antigenic properties of *Borrelia burgdorferi* isolated from *Ixodes ovatus* and *Ixodes persulcatus* in Hokkaido, Japan. J. Clin. microbiol. 29 (8): 1568-1573
- Morel, P.C. (1965): Les tiques d'Afrique et du bassin méditerranéen. Maison Alfort (I. E. M. T. Y.). Document polycopié: 695 pp.
- Morel, P.C. & Perez, C. (1973): Morphologie des stades préimaginaux des *Ixodidae* s. str. d'Europe occidentale. II. Les larves des *Pholeoixodes* Schulze, 1942. Cah. O.R.S. T.O.M. 11 (4): 275-284.
- Morel, P.C. & Aubert, M.F.A. (1975): Contribution à la connaissance de *Pholeoixodes rugicollis* (Schultze et Schlotke, 1929) (Acarina, Ixodina). Cah. O.R.S.T.O.M. 13: 99-109.
- Morel, P.C. & Perez, C. (1977): Morphologie des stases préimaginales des *Ixodidae* s. str. d'Europe occidentale. V. Les larves des *Ixodes* s. str. Acarologia. 19 (3): 395-398.
- Nakao, M., Miyamoto, K., Uchikawa, k. & Fujita, H. (1992): Characterization of *Borrelia burgdorferi* isolated from *Ixodes persulcatus* and *Ixodes ovatus* ticks in Japan. Am. J. Trop. Med. Hyg. 47 (4): 505-511.
- Nuttall, G.H.F. (1911): On the adaptation of ticks to the habits of their hosts. Parasitology 4: 46-67
- Nuttall, G.H.F. (1913): Observations on the biology of the Ixodidae. Parasitology. 6 (2): 68-118.

- Oliver, J.H., Owsley, M.R., Hutcheson, H.J., James, A.M., Chen, C., Irby, W.S., Dotson, E.M. & McLain, D.K. (1993): Cospecificity of the ticks *Ixodes scapularis* and *I. dammini* (Acari: Ixodidae). *J. Med. Entomol.* **30**: 54-63.
- Olsén, B., Jaenson, T.G.T., Noppa, L., Bunikis, J. & Bergström, S. (1993): A Lyme borreliosis cycle in seabirds and *Ixodes uriae* ticks (Letter). *Nature.* **362**: 340.
- Pandazis, G.P. (1947): The tick fauna of Greece. *Epistem. Epet. Athens.* **68**: 1-182.
- Pappas, P. & Oliver, J.H. (1972): Reproduction in ticks (Acari: Ixodidea). 2. Analysis of the stimulus for rapid and complete feeding of female *Dermacentor variabilis* (say). *J. Med. Ent.* **9** (1): 47-50.
- Peacock, M., Burgdorfer, W. & Ormsbee, R.S. (1971): Rapid fluorescent-antibody conjugation procedure. *Infec. Immun.* **263**: 14-20.
- Pfister, K., Bigler, B., Neswabda, J., Gern, L. & Aeschlimann, A. (1989): *Borrelia burgdorferi* infections of dogs in Switzerland. *Zblt. Bakt. Hyg.* **263**: 26-31.
- Piesman, J., Donahue, J.G., Mather, T.N., & Spielman, A. (1986): Transovarially acquired Lyme disease spirochetes (*Borrelia burgdorferi*) in field-collected larval *Ixodes dammini* (Acari: Ixodidae). *J. Med. Entomol.* **23**: 219.
- Piesman J. & Sinsky, R.J. (1988): Ability of *Ixodes scapularis*, *Dermacentor variabilis*, and *Amblyomma americanum* (Acari: Ixodidae) to acquire, maintain, and transmit Lyme disease spirochetes (*Borrelia burgdorferi*). *J. Med. Entomol.* **25**: (5): 336-339.
- Radda, A. (1969): Virämie bei einigen heimlichen Karnivoren nach Infektion mit Frühsommer- Meningo-Enzephalitis (FSME)- Virus durch Zecken. *Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig.* **209** (4): 464-469.
- Rageau, J. (1972): Répartition géographique et rôle pathogène des tiques (*Acariens*: Argasidae et Ixodidae) en France. *Wiad. Parazitol.* **18** (4, 5, 6): 707-719.
- Randolph, S.E. (1980): Population regulation in ticks: The effect of delayed mating on fertility in *Ixodes trianguliceps*. *J. Parasitol.* **66** (2): 287-292.
- Randolph, S.E. (1994): The relative contributions of transovarial and transstadial transmission to the maintenance of tick-borne diseases. In: Lyme Borreliosis, Ed. J.S. Axford and D.H.E. Rees, Plenum Press, New York. 131-134.
- Rawling, J.A. (1986): Lyme disease in Texas. *Zbl. Bakt. Hyg. A.* **263**: 483-7.
- Rechav, Y. & Knight, M.M. (1981): Life cycle in the laboratory and seasonal activity of the tick *Rhipicephalus glabroscutatum* (Acarina: Ixodidae). *J. Parasitol.* **67** (1): 85-89.
- Roman, E., Lu, H.T. & Pichtot, J. (1973): Étude biogéographique et écologique sur les tiques (Acariens, Ixodoidea) de la région lyonnaise. *Bull. Soc. Linn. Lyon.* n° spécial: 63-398.
- Rosell-Davis, R. & Coons, L.B. (1989): Relationship between feeding, mating vitellogenin production and vitellogenesis in the tick *Dermacentor variabilis*. *Exp. Appl. Acarol.* **7**: 95-105.

- Rosicky, B. (1953): Bionomics-faunistic outline of ixodid ticks in Czechoslovakia. Zool. Ent. Listy. II (XVI), 2: 120-130.
- Rouvinez, E., Toutoungi, L.N. & Gern, L. (1994): Can the hedgehog, *Erinaceus europaeus*, be considered as an amplifying host for *Barrelia burgdorferi*? Rev. Suisse Zool. 101 (4): 863
- Ryder, J.W., Pinger, R.P., & Glancy, T. (1992): Inability of *Ixodes cookei* and *Amblyomma americanum* nymphs (Acari: Ixodidae) to transmit *Barrelia burgdorferi*. J. Med. Entomol. 29 (3): 525-672.
- Schoeler, G. B. & Lane, R. (1993): Efficiency of transovarial transmission of the Lyme disease spirochete, *Barrelia burgdorferi*, in the Western blacklegged tick, *Ixodes pacificus* (acari: Ixodidae). J. Med. Entomol. 30 (1): 80-86.
- Schulze, P. (1923): Ixodina. Zecken. Biol. Tiere Deutschlands, Berlin. 2 (21): 2-28.
- Schulze, P. & Schlottke, E. (1929): Kleinhohlenbewohnende deutsche Zecken mit Beschreibung drei neuer Baumhohlenbruter und einer Bestimmungstabelle der deutschen *Ixodes*. S.B. Naturf. Ges. Rostok. 2: 95-112.
- Schulze, P. (1930): Erster Beitrag zu einer Zeckenfauna Schwedens. Göteborgs Veterisk. Samh. Handl. 5, Folge. Ser. B1 (13): 1-18.
- Schulze, P. (1941): Das Geruchsorgan der Zecken. Untersuchungen über die Adwandlungen eines Sinnesorgans und seine Stammesgeschichtliche Bedeutung. Z. Morph. Okol. Tiere. 37 (3): 491-564.
- Schulze, T., Bowen, G.S., Bosler, E.M., Lakat, M.F., Parkin, W.E., Altman, R., Ormiston, B.G. & Shisler, J.K. (1984): *Amblyomma americanum* a potential vector of the Lyme disease in New Jersey. Science. 224: 601-603.
- Senevet, G. (1937): Ixodoidea. Faune de France. 32: 100 pp.
- Smith, M.W. (1972): The life history of *Ixodes canisuga* (Johnson 1849) under laboratory conditions. Ann. Trop. Med. Parasitol. 66 (2): 281-286.
- Snow, K.R. (1967): Egg maturation in *Hyalomma anatolicum* (Koch, 1844 (Ixodoidea, Ixodidae). Proc. 2. Int. Congr. Acarol. (Scutton Bonington). July 19-25: 349-356.
- Sonenshine, D.E. (1991): Biology of ticks. New York Oxford, Oxford University Press.: 477 pp.
- Stanek, G., Burger, I., Hirschl, A., Wewalka, G. & Radda, A. (1986): *Borrelia* transfer by ticks during their life cycle. Studies on laboratory animals. Zbl. Bakt. Hyg. 263: 29-33.
- Starkoff, O. (1958): Ixodoidea. Roma. "Il pensiero Scientifico" Editor. 383 pp.
- Steele, A.C., Malawista, S.E., Snyderman, D.R., Shope R.E., Andiman, W.A. Ross, M.R. & Steele, F.M. (1977): Lyme arthritis: an epidemic of oligoarticular arthritis in children and adults in three Connecticut communities. Arthr. Rheum. 20 (1): 7-17.

- Steere, A.C., Broderick, T.F. & Malawista, S.E. (1978): Erythema chronicum migrans and Lyme arthritis: epidemiologic evidence for a tick vector. *Am. J. Epidemiol.* **108** (4): 312-321.
- Stoenner, H.G., Dodd, T. & Larson, C. (1982): Antigenic variation of *Borrelia*. *J. Exp. Med.* **156**: 1297-1311
- Streissle, G. (1960): Untersuchungen zur Übertragung des Virus der Frühsommer-Meningo-Encephalitis durch die Zecke *Ixodes hexagonus* Leach. *Zent. Bakt. Parasit. Infek. Hyg.* **197** (3): 289-297.
- Telford III, S.R. & Spielman A. (1989): Competence of a rabbit-feeding *Ixodes dentatus* (Acari: Ixodidae) as a vector of the Lyme disease spirochete. *J. Med. Entomol.* **26** (2): 118-121.
- Thompson, G. & Knowles, R.J. (1968): Records of Ixodoidea (ticks) from Essex. *Essex Nat.* **32** (2): 193-196.
- Van Engelen, C.J.M. & Jansen, J. (1990): Een geval van een infectie bij het paard met *Ixodes hexagonus* (Acarina: Ixodoidea). *Tijdschr. Diergeneeskd.* **115** (10): 463-464.
- Wandeler, A. (1988): *Vulpes vulpes* L., 1758. In: Atlas des Mammifères de Suisse. Répartition de douze espèces de Mammifères en Suisse. Société suisse pour l'étude de la faune sauvage, Lausanne: 61-65.
- Wilske, B., Anderson, J. F., Baranton, G., Barbour, A. G., Hovind-Hougen, K., Johnson, R. C. & Preac-Mursic, V. (1991): Taxonomy of *Borrelia* spp. *Scand. J. Infect. Dis. Suppl.* **77**: 108-129.
- Zhioua, E., Monin, R., Gern, L. & Aeschlimann, A. (1988): Infection of free-living life stages of *Ixodes ricinus* with *Borrelia burgdorferi* in Switzerland. *Zbl. Bakt.* **306**: 293.
- Zhioua, E., Aeschlimann, A. & Gern, L. (1994): Infection of field-collected *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) larvae with *Borrelia burgdorferi* in Switzerland. *J. Med. Entomol.* **31** (5): 763-766.
- Zimmerli, J. (1982): Etude des parasites de la fouine (*Martes foina*) dans le canton de Vaud durant la période 1980-1981. Thèse de doctorat non publiée. Univ. de Berne: 101 pp.