

Contribution à la connaissance de la biologie des Ixodides:

I. Relations immunologiques entre
Bovins et Tiques

II. *Ixodes ricinus*, vecteur expérimental
de trois espèces de Babésies

THÈSE

PRÉSENTÉE A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE NEUCHÂTEL POUR OBTENIR LE GRADE
DE DOCTEUR ÈS SCIENCES

par

Michel BROSSARD

licencié ès sciences

La Faculté des sciences de l'Université de Neuchâtel, sur le rapport des membres du jury, Messieurs A. Aeschlimann, B. Hörning (Berne) et C. Lambert autorise l'impression de la présente thèse sans exprimer d'opinion sur les propositions qui y sont contenues.

Neuchâtel, le 7 janvier 1976.

Le doyen : Prof. P. Huguenin

Extraits d'*Acta tropica*, fasc. 1, Vol. 33, 1976 et de la *Revue Suisse de Zoologie*, fasc. 2, Tome 83, 1976.

Institut de Zoologie de Neuchâtel

Relations immunologiques entre Bovins et Tiques, plus particulièrement entre Bovins et *Boophilus microplus*¹

M. BROSSARD

Abstract

In the present investigation, it has been demonstrated that cattle become resistant to ticks after several heavy infestations, particularly with *B. microplus*. During development of the infestations, antibodies against salivary glands of *B. microplus* were detected using 2 techniques: indirect immunofluorescence and immunoelectrophoresis. There is a positive causal relationship between antibody titer and resistance development.

Two precipitating systems against *B. microplus* in infested cattle and 7 systems in immunized rabbits were studied. The systems 1 and 2 are similar in cattle and rabbits, but system 2 does not show any specificity, as it has been detected in cattle completely lacking tick infestations.

Two one-day-old calves were treated with the antigen of *B. microplus* by injection of salivary glands and repeated infestations with a small number of larvae. They developed a pronounced resistance to the usual subsequent infestations by the ticks of the same species. Specific antibodies were found before the first usual infestation. This suggests that they might be responsible for resistance.

Introduction

La tique du bétail, *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887), provoque d'importantes pertes dans les cheptels d'Australie, d'Amérique du Sud et d'Afrique du Sud. En effet, cet Ixodide transmet par sa salive des toxines et des agents pathogènes (BARNETT, 1962). Dans ces contrées, on lutte contre cet ectoparasite par des acaricides. Ces substances sont parfois toxiques et instables. En outre, elles entraînent l'apparition rapide de souches de tiques résistantes. Il est donc nécessaire de rechercher d'autres méthodes de lutte. Une prophylaxie par immunisation des hôtes pourrait être envisagée. En effet, une résistance acquise se développe chez des animaux de laboratoire expérimentalement infestés par les tiques *Dermacentor variabilis* (TRAGER, 1939). Travaillant avec *Rhipicephalus bursa*, GFELLER (1971) a montré que cette résistance semble associée à la présence d'anticorps formés contre la salive des ectoparasites. Une protection de ce type a été également observée chez des bovins parasités par *B. microplus* (RIEK, 1962; HEWETSON, 1968; HEWETSON & NOLAN, 1968; ROBERTS, 1968a). Elle serait due à un état d'hyper-sensibilité de la peau, engendré par la fixation, dans ce tissu, d'anticorps «sensibilisants» (RIEK, 1962). En accord avec cette hypothèse, BOESE (1974) décèle des anticorps homocytotropes chez des lapins résistants à la piqûre d'*Haemaphysalis*

¹ Ce travail constitue un extrait de la première partie d'une thèse de la Faculté des Sciences de l'Université de Neuchâtel, réalisée sous la direction du Prof. Aeschlimann à qui va toute notre gratitude.

leporispalustris. Cependant, d'après ROBERTS (1968 a), tous les bovins réfractaires à *B. microplus* ne montrent pas une telle sensibilité cutanée.

Ainsi, le phénomène de résistance acquise des hôtes contre la piqûre des tiques paraît complexe. Il est encore mal compris. Dans le présent travail, nous étudierons quelques aspects des relations immunologiques entre les bovins et leurs tiques. Pour ce faire, nous avons pu bénéficier du matériel Ciba-Geigy SA, en nous pliant aux conditions exigées par l'organisation des tests acaricides. Ainsi, nos études immunologiques ont-elles portées sur des animaux ayant subi 3 types différents d'infestations expérimentales:

1) Les infestations de type I sont établies en particulier pour l'examen *in vivo* de nouveaux acaricides². Les animaux sont massivement parasités par *B. microplus* (10 × 20.000 larves environ par bovin) et, pour les besoins du laboratoire et en vue d'économiser les hôtes, plus faiblement par les espèces *R. bursa* et *Amblyomma hebraeum*.

2) Les infestations de type II, moins massives (14 × 8000 larves environ par bovin), sont spécialement conçues pour l'étude de l'évolution de la résistance acquise. Dans ce cas, les animaux ne sont infestés que par *B. microplus*.

3) Les infestations de type III sont destinées à l'étude de l'influence de la résistance acquise contre *B. microplus* sur des infestations ultérieures.

Matériel et méthodes

1. Elevage et cycle des tiques

Tous les stades de *B. microplus* (espèce monophasique), *R. bursa* (espèce diphasique) et *A. hebraeum* (espèce tripbasique) sont nourris sur bovins uniquement, dans des étables climatisées (25 à 27 °C et 70 à 80% d'humidité relative). Les hôtes appartiennent à la race Simenthal, à la race Brune Suisse ou à la race Aberdeen Angus-Simenthal. De sexe mâle ou femelle, ils sont généralement âgés de 6 à 9 mois (150 à 200 kg).

Aux côtés de *B. microplus*, répandus sur tout le corps des animaux, les 2 autres espèces sont nourries sur la queue seulement. Elles sont enfermées dans un sac de nylon, maintenu à ses 2 extrémités par une bande adhésive Tesa.

Les durées des différentes phases des cycles des 3 espèces, ainsi que les conditions optimales de leur élevage (humidité et température) sont portées dans le tableau 1.

2. Infestations de type I (Fig. 1)

Les tests acaricides *in vivo* sont conçus en fonction de la biologie de *B. microplus*. L'action des acaricides doit être connue sur chaque stade parasitaire de cette espèce. Le cycle de *B. microplus* dure 21 jours. Ainsi, 20 bovins (numérotés de 1 à 20) sont-ils infestés 10 fois durant 21 jours. Les dernières récoltes seront donc obtenues 21 jours plus tard, soit 42 jours après la première infestation. Les larves actives, environ 20.000 par bovin et par infestation, sont placées à 3 endroits différents sur leur dos: en avant, au milieu et en arrière de la colonne vertébrale. Elles se répartissent ensuite sur toute la surface du corps.

² Nous remercions la maison Ciba-Geigy SA, qui nous a permis d'utiliser ce matériel et qui nous procura une aide financière. Nous remercions plus particulièrement le Dr. Cl. Lambert qui nous a sans cesse soutenu de ces précieux conseils.

Tableau 1. Elevages et cycles

(J = Jours; T °C = Température en °C; HR% = Humidité relative en %)

	<i>B. microplus</i>			<i>R. bursa</i>			<i>A. hebraeum</i>		
	J	T °C	HR%	J	T °C	HR%	J	T °C	HR%
Préoviposition	2-3	26	75-80	3-5	26	90-95	12 env.	26	90-95
Embryogénèse	21-28	26	90-95	30 env.	26	90-95	30 env.	26	90-95
Prénutrition larvaire	21-28	26	90-95	21-28	26	90-95	7	26	90-95
Repas larvaire	↑			↑			4-7		
Postnutrition larvaire (mue)				16-25			14 env.	26	75-80
Prénutrition nymphale				↓			7-21	26	75-80
Repas nymphal	20-30						4-8		
Postnutrition nymphale (mue)				42-56	26	75-80	21	26	75-80
Prénutrition de la femelle				28-42	26	75-80	21	26	75-80
Repas de la femelle	↓			7-12			9-12		

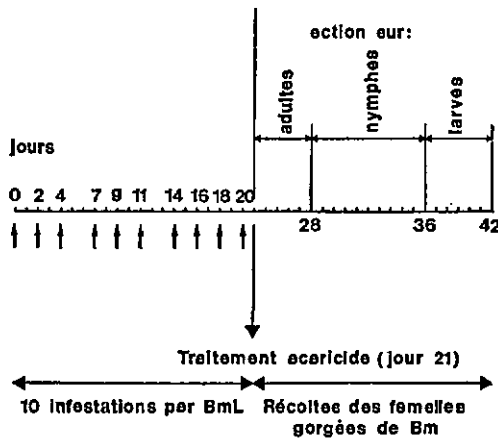


Fig. 1. Infestations de type I et tests acaricides contre *B. microplus*. Les infestations sont répétées 10 fois (†) durant 21 jours, durée du cycle de cette espèce monophasique. Après le traitement, la quantité de femelles gorgées récoltées durant les 21 jours suivants permet de mesurer l'action de l'acaricide sur les divers stades évolutifs. Bm = *B. microplus*; BmL = larves de *B. microplus*.

Les bovins infestés sont traités au moyen d'un spray, une seule fois 21 jours après la première infestation, à raison de 2 animaux par substance. A ce moment, les 3 stades évolutifs (larvaire, nymphal et imaginal) sont présents sur les hôtes. Après le traitement, chaque groupe de 2 bovins est isolé dans un box afin d'empêcher l'interaction de substances volatiles ou des mélanges dans les récoltes de tiques. Pour chaque essai, nous disposons d'animaux «contrôles» non traités, ayant subi des infestations identiques.

A la fin de leur nutrition, les femelles gorgées de *B. microplus* se détachent de l'hôte. Elles sont retenues dans 2 tiroirs métalliques de type tamis, placés sous chaque animal. Chaque matin, nous lavons les tiroirs au jet, afin d'éliminer les déchets. Seules les femelles gorgées sont ramassées à la main par groupe de 2 bovins.

Les quantités de tiques récoltées pendant les 21 jours suivant le traitement (Fig. 1) montrent donc l'action de l'acaricide sur chaque stade. Selon nos observations, les durées des stades évolutifs sont les suivantes: larves, 6 jours; nymphes, 10 jours; femelles adultes, 5 jours, soit un total de 21 jours.

Conjointement aux tests sur les tiques monophasiques, l'action des substances est observée sur les adultes de *R. bursa* et d'*A. hebraeum* mis à nourrir sur la queue des hôtes.

On étudie chez ces bovins l'évolution des protéines sériques et l'évolution des anticorps circulants anti-salive de *B. microplus* par rapport aux infestations. Ce sont surtout les animaux «contrôles» et les animaux avant l'application du traitement acaricide qui servent à nos observations. Après le traitement, la diminution du nombre des tiques permet également d'observer le comportement du titre des anticorps.

3. Infestations de type II

Deux bovins (Nos 21 et 22) sont parasités exclusivement par *B. microplus* et ne sont pas traités par acaricides. Dès l'âge de 7 mois (jour 0 de l'essai) et une fois par semaine, nous infestons chaque veau par environ 8000 larves. Nous répétons ces infestations hebdomadaires pendant 14 semaines. Pendant les infestations, nous récoltons chaque jour et pour chaque bovin, les femelles gorgées de *B. microplus*. Ces animaux nous permettent de suivre l'évolution du phénomène de résistance.

4. Infestations de type III

Les veaux Nos 23 et 24 ont subi un traitement préalable particulier avant d'être infestés, à l'âge de 7 mois, comme les animaux Nos 21 et 22:

- à la naissance, ils reçoivent chacun une injection sous-cutanée de 100 glandes salivaires de femelles de *B. microplus*, disséquées les 19 et 20^e jours de leur cycle parasitaire. Ce même jour, ils furent également chacun infestés par quelques centaines de larves de cette espèce;

- à l'âge de 2 et 5 mois, ils furent à nouveau infestés chacun par quelques centaines de larves.

Le but de cette dernière expérience est de déceler si un traitement précoce par les tiques chez de jeunes animaux peut leur conférer une protection ultérieure efficace contre de nouvelles infestations.

5. Dosage des protéines sériques

Les protéines sériques (albumines et globulines) sont séparées électrophorétiquement dans une membrane de cellulose par un courant de 6 à 10 mA, pen-

dant 20 minutes. Chaque fraction est mesurée photométriquement. Le dosage des protéines totales du sérum est réalisé par la méthode de Biuret et par mesure photométrique à 546 nm.

6. Immunofluorescence indirecte

Nous tentons de mettre en évidence des anticorps formés contre la salive des tiques par la technique d'AMBROISE-THOMAS (1969). L'antigène est constitué de coupes histologiques de glandes salivaires préparées au cryostat. Au moment du prélèvement de ces organes, 19 à 20 jours après la fixation des larves, les tiques commencent leur phase d'engorgement rapide. On admet que les glandes salivaires sont très actives à ce moment³. Les coupes (5 μ d'épaisseur) sont conservées à -20 °C. Le seuil de spécificité de la réaction est fixé expérimentalement à la dilution de 1:20 des sérums à étudier. En effet, à cette dilution, les sérums de 13 bovins indemnes de tout contact avec les tiques, ne provoquent pas de fluorescence de l'antigène *B. microplus*. Le sérum fluorescent anti-globulines de bœuf (Institut Pasteur de Paris) est dilué à 5% dans du Bleu d'Evans (1:10.000).

7. Immunoélectrophorèse

La détection des anticorps est aussi tentée par immunoélectrophorèse, selon une microméthode dérivée des techniques classiques de GRABAR et WILLIAMS (1953) et SCHEIDGOER (1955). L'électrophorèse est pratiquée pendant 2 h 30 sous une tension de 3 V/cm dans le gel d'agarose. L'antigène est préparé selon la méthode utilisée pour les antigènes vermineux par BIGUET et al. (1965). Il est employé à la concentration de 40 mg/ml. Les sérums à tester sont concentrés 3 fois.

8. Immunisation expérimentale de lapins

Des glandes salivaires fraîches de *B. microplus* sont broyées à raison de 60 mg pour 0,2 ml d'eau distillée et de 2 ml de vaseline pour analyse. De l'huile de paraffine est ajoutée par petites quantités jusqu'à 8 ml. Le mélange est émulsionné. L'antigène est ensuite congelé et conservé à -20 °C. Chaque semaine, 0,2 ml d'antigène, mélangé extemporanément avec 0,2 ml d'adjuvant complet de Freund (Difco), sont injectés aux lapins par voie sous-cutanée. Les prélèvements de sang sont effectués 6, 7 et 8 semaines après la première injection.

Resultats

1. Récoltes après des infestations de type I

Les observations portent sur 20 bovins infestés et répartis en 10 groupes (Tableau 2). Les récoltes de femelles gorgées de *B. microplus* sont exprimées en % du nombre total de larves femelles, mises à

³ Pour les techniques d'immunoélectrophorèse et d'immunisation expérimentale des lapins, les glandes salivaires (antigène) sont aussi prélevées à ce stade d'engorgement.

Tableau 2. Récoltes de femelles gorgées de *B. microplus* après des infestations de type I.

Groupe	Nos des bovins	Traitement	Récoltes
1	1 et 2	Contrôles; sans traitement	6%
2	3 et 4	Contrôles; sans traitement	15%
3	5 et 6	Contrôles; sans traitement	18%
4	7 et 8	Contrôle; sans traitement Traitement	-
5	9 et 10	Traitement	0,2%
6	11 et 12	Traitement	1%
7	13 et 14	Traitement	3%
8	15 et 16	Traitement	5%
9	17 et 18	Traitement	5%
10	19 et 20	Traitement	7%

se nourrir pour chaque groupe de 2 bovins. Nous supposons une sexeratio de 1/1, la moitié des larves étant considérée de sexe femelle, l'autre de sexe mâle.

Dans tous les groupes de «contrôles», nous récoltons un nombre relativement faible de femelles gorgées de *B. microplus* (6 à 18%). Cependant dans les groupes de «traités», les récoltes sont généralement encore plus faibles (0,2 à 7%). Cette diminution est sans doute principalement due à l'action des acaricides.

Remarque: La récolte des tiques sur les bovins Nos 7 et 8 (groupe 4) n'est pas indiquée. En effet, l'animal No 8 devint très malade. On dut le traiter par un acaricide d'efficacité connue au jour 34 de l'essai. L'infestation fut ainsi supprimée. Cependant par souci de clarté, ces bovins sont aussi mentionnés dans le Tableau 2, car ils ont servi, avec les animaux des autres groupes, soit à l'étude de l'évolution du taux des protéines sériques, soit à celle du titre des anticorps formés contre la salive des tiques (voir chapitres 2 et 3).

2. Evolution des protéines sériques après des infestations de type I

Les infestations des bovins et les récoltes journalières de femelles gorgées de *B. microplus*, les infestations par d'autres espèces et le moment des traitements par acaricides sont représentés dans la Fig. 2.

Nous comparons le taux moyen des protéines sériques chez 10 bovins (Nos 3 et 4; Nos 13 à 20) 7 jours avant la première infestation, au taux observé 20 jours après, c'est-à-dire juste avant les différents traitements par acaricides (Tableau 3).

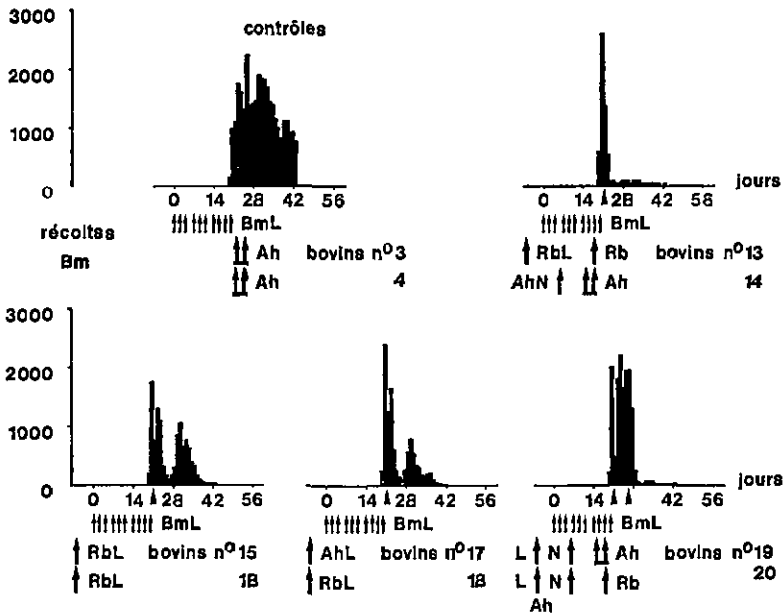


Fig. 2. Récoltes des femelles gorgées de *D. microplus* après des infestations de type I (Groupe 2-contrôles; groupes 7 à 10, avec traitement; voir Tableau 2).

Bm = femelles gorgées de *B. microplus*.

† = infestation par les larves de *B. microplus* (BmL).

▲ = infestation par d'autres espèces: RbL = larves de *R. bursa*; Rb = adultes de *R. bursa*; AhL = larves d'*A. hebraeum*; AhN = nymphes d'*A. hebraeum*; Ah = adultes d'*A. hebraeum*.

▲ = traitement acaricide.

Lors de l'infestation par les adultes d'*A. hebraeum*, les mâles se gorgent 3 jours avant les femelles. En effet, pour cette espèce, la copulation intervient seulement après un court repas des mâles. Deux flèches placées côte à côte (▲▲) symbolisent ce fait (voir aussi les Figs. 4, 8 et 9). La substance utilisée pour traiter le groupe 10 s'est montrée inactive, ce qui explique le traitement du jour 26 par un acaricide d'efficacité connue.

Tableau 3. Modification des protéines sériques par les infestations (***) $p < 0,001$; ** $0,001 < p < 0,01$; $n = 10$)

	Prot. tot.	Albumines	Globulines		γ g%
	g%	g%	α g%	β g%	
Jour -7	5,93 ± 0,07	2,44 ± 0,05	1,24 ± 0,03	0,82 ± 0,02	1,41 ± 0,06
Jour 20	6,23 ± 0,06 **	2,48 ± 0,02	1,19 ± 0,03	0,77 ± 0,02	1,79 ± 0,06 ***

Le taux des albumines, α - et β -globulines n'est pas modifié par l'infestation⁴. Par contre, le taux des γ -globulines est augmenté de 0,38 g/100 ml ($p < 0,001$). Les protéines totales sont augmentées d'autant, leur taux s'élève de 0,30 g/100 ml ($0,001 < p < 0,01$).

3. Evolution des anticorps circulants anti-salive de *B. microplus* après des infestations de type I

Nous étudions l'évolution des anticorps circulants chez 9 bovins infestés: 5 contrôles sans traitement acaricide (Nos 1, 2, 5, 6 et 7) et 4 traités par acaricide (Nos 8, 9, 11 et 12).

3.1. Evolution du titre des anticorps révélés par la technique d'immunofluorescence indirecte

a) Bovins «contrôles» des essais acaricides

Les infestations et les récoltes journalières de femelles gorgées de *B. microplus*, les infestations par d'autres espèces et les évolutions du titre des anticorps circulants des bovins Nos 1 et 2, 5 et 6, et 7 sont représentées dans les Figs 3, 4 et 5 respectivement.

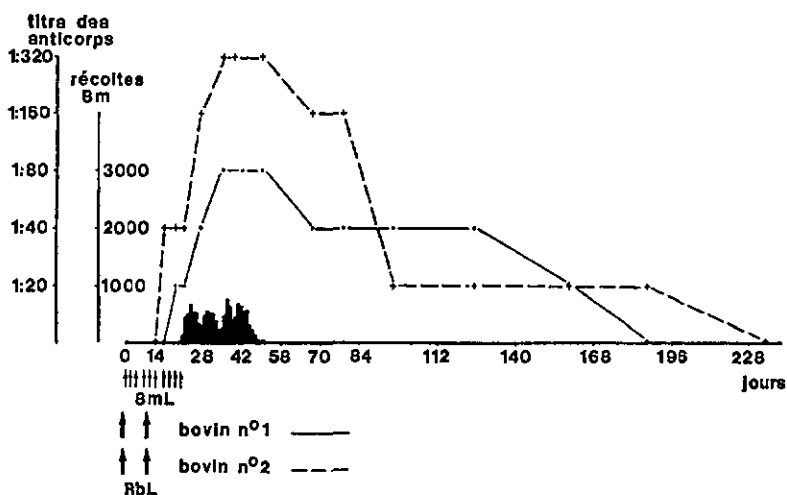


Fig. 3. Récoltes des femelles gorgées de *B. microplus* et évolution des anticorps circulants révélés par la technique d'immunofluorescence indirecte (bovins Nos 1 et 2).

⁴ Les évaluations statistiques sont effectuées selon le test de Student.

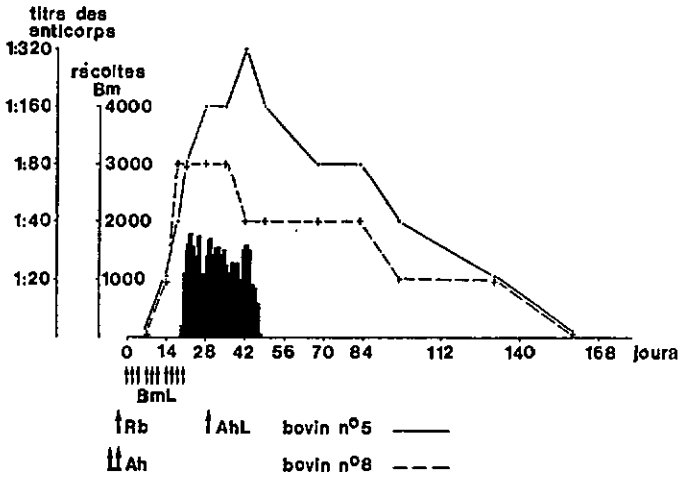


Fig. 4. Récoltes des femelles gorgées de *B. microplus* et évolution des anticorps circulants révélés par la technique d'immunofluorescence indirecte (bovins Nos 5 et 6).

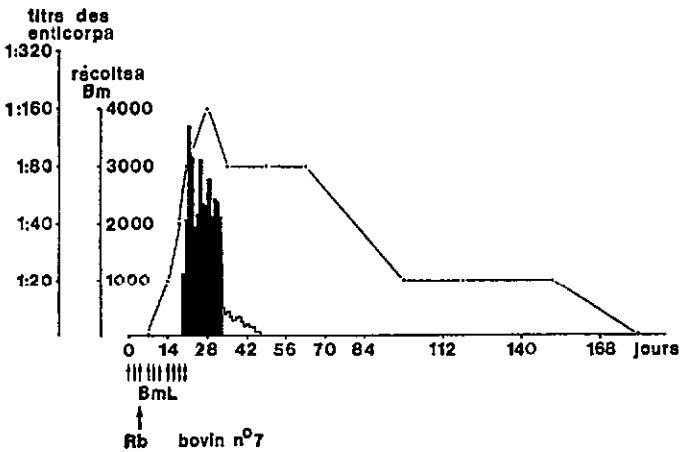


Fig. 5. Récoltes des femelles gorgées de *B. microplus* sur les bovins Nos 7 et 8 et évolution des anticorps circulants révélés par la technique d'immunofluorescence indirecte (bovin No 7). Pour les raisons indiquées à la page 5, l'évolution du titre des anticorps du bovin No 8 sera représentée séparément sur la Fig. 9. En outre, dès le jour 34 de l'essai, seules les récoltes effectuées sur le bovin No 7 sont représentées.

Bm = femelles gorgées de *B. microplus*.

↓ = infestation par les larves de *B. microplus* (BmL).

▲ = infestation par d'autres espèces: RbL = larves de *R. bursa*; Rb = adultes de *R. bursa*; AhL = larves d'*A. hebraeum*; Ah = adultes d'*A. hebraeum*.

Tous les animaux ont un titre d'anticorps nul avant d'être infestés. Nous décelons les premiers anticorps 14 jours après le début de l'infestation par les larves de *B. microplus* chez 4 bovins, 18 jours après chez le cinquième. En 4 et 7 jours, ces anticorps atteignent un titre maximal chez les animaux 6 et 7, en 2 à 3 semaines chez les autres. Le début de l'augmentation du titre des anticorps coïncide avec la nutrition des premières femelles. Les réinfestations successives maintiennent un titre élevé des anticorps. Ce titre baisse à la fin de l'infestation de chaque animal et disparaît 3 à 5 mois plus tard.

Sur la Fig. 6, nous représentons l'évolution moyenne du titre des anticorps circulants anti-salive de *B. microplus* des 5 bovins sus-mentionnés. Nous reconnaissons sur la courbe les différentes phases suivantes:

- 1) Période de latence.
- 2) Elévation du titre des anticorps.
- 3) Palier maximal du titre des anticorps.
- 4) Baisse du titre des anticorps.

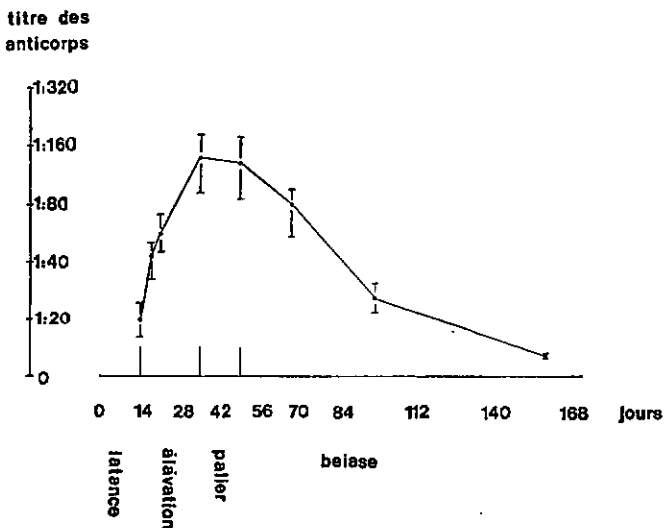


Fig. 6. Evolution moyenne du titre des anticorps circulants chez 5 bovins.

Jusqu'au point du jour 49, les saogs ont été prélevés strictement au jour donné. Pour les 3 derniers points, nous avons calculé les moyennes avec les saogs récoltés aux jours 63 à 68, respectivement 92 à 98 et 151 à 159 (voir Figs. 3 à 5).

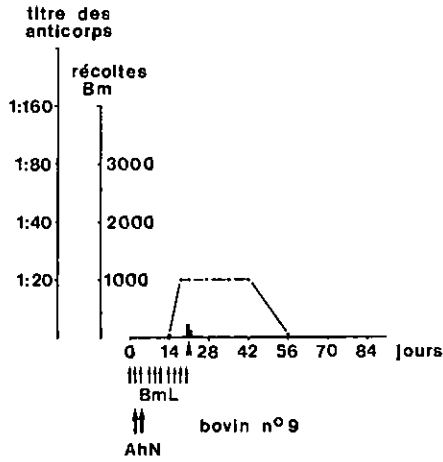


Fig. 7. Récoltes des femelles gorgées de *B. microplus* et évolution des anticorps circulants révélés par la technique d'immunofluorescence indirecte (bovin No 9). Comme décrit en détail dans le texte, les récoltes Bm ont été faites sur 2 bovins tandis que la courbe des anticorps ne résulte que du bovin No 9.

b) Bovins traités par acaricides

Les infestations et les récoltes journalières de femelles gorgées de *B. microplus*, les infestations par d'autres espèces et les évolutions du titre des anticorps des bovins Nos 9 et 10, 11 et 12, et 8 sont représentées dans les Figs 7, 8 et 9 respectivement.

Bovins Nos 9 et 10 (Fig. 7)

Les récoltes de femelles gorgées de *B. microplus* pour les 2 bovins Nos 9 et 10 sont représentées sur la Fig. 7. Cependant, l'évolution du titre des anticorps n'est étudiée que pour le bovin No 9. Les faibles récoltes de tiques s'accompagnent de titres d'anticorps faibles (1:20) chez ce bovin. Ceux-ci sont identifiés 18 jours après le début de l'infestation et ne sont plus mis en évidence 1 mois plus tard.

Bovins Nos 11 et 12 (Fig. 8)

Chez les bovins Nos 11 et 12, les anticorps sont démontrés au plus tôt 14 jours après la première infestation par les larves de *B. microplus*. Leur titre s'élève rapidement, alors que les premières femelles sont récoltées. Par le traitement acaricide, l'infestation des bovins baisse sensiblement. Parallèlement, le titre des anticorps diminue immédiatement (bovin No 12) ou après un palier d'une semaine (bovin No 11). Les anticorps ne sont plus décelés 3 mois et demi (bovin No 11) et 4 mois et demi (bovin No 12) après leur apparition.

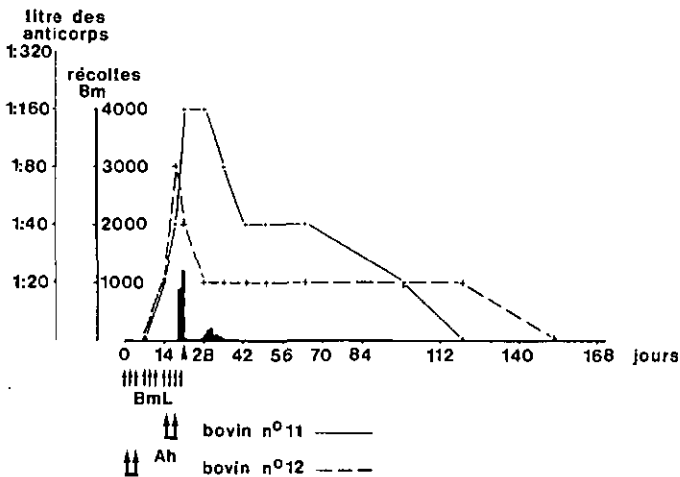


Fig. 8. Récoltes des femelles gorgées de *B. microplus* et évolution des anticorps circulants révélés par la technique d'immunofluorescence indirecte (bovins Nos 11 et 12).

Conclusions: On observe un parallélisme entre les infestations et l'évolution des anticorps anti-salive de *B. microplus*. L'interruption des infestations par l'emploi d'acaricides provoque d'une part une baisse du titre des anticorps, d'autre part leur disparition plus rapide.

Bovin No 8 (Fig. 9)

Remarque préliminaire: Pour les raisons évoquées à la page 20, les récoltes de femelles gorgées de *B. microplus* effectuées sur les bovins Nos 7 et 8 sont représentées jusqu'au jour 34 de l'essai (Fig. 9).

Chez le bovin No 8, nous relevons les premiers anticorps 21 jours après le début des infestations par *B. microplus*. Ensuite, le titre s'élève. Cette augmentation se poursuit pendant les 8 jours suivant le traitement. Après un palier de 3 semaines, le titre des anticorps baisse. Ils ne sont plus révélés 4 mois après leur apparition. Dans ce cas particulier, la suppression des ectoparasites par traitement acaricide se double d'une augmentation du titre des anticorps. Le traitement provoque-t-il chez les tiques fixées une sécrétion massive de salive, ou les nombreux anticorps, formés avant le traitement tardif (jour 34 de l'essai), ne sont-ils plus utilisés dans la réaction antigène-anticorps, par défaut d'antigène? Il est impossible pour l'instant de donner une explication définitive au phénomène observé.

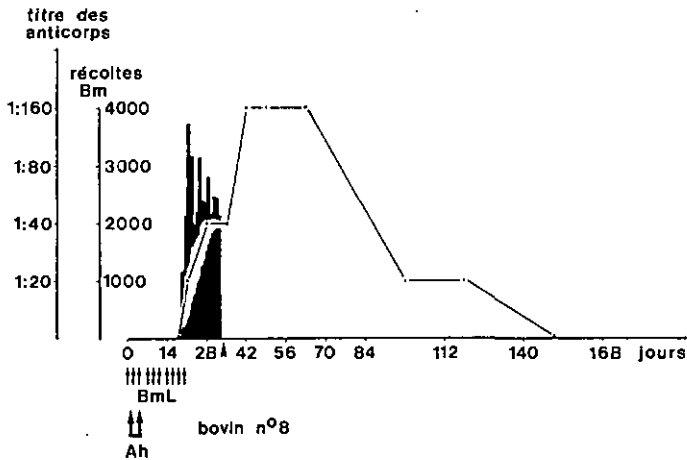


Fig. 9. Récoltes des femelles gorgées de *B. microplus* et évolution des anticorps circulants révélés par la technique d'immunofluorescence indirecte (bovin No 8). Les récoltes de Bm ont été effectuées sur les bovins Nos 7 et 8 jusqu'au jour 34 de l'essai. A ce jour, l'animal No 8 fut traité par un acaricide d'efficacité connue pour les raisons déjà indiquées à la page 20.

Bm = femelles gorgées de *B. microplus*.

↑ = infestation par les larves de *B. microplus* (BmL).

▲ = infestation par d'autres espèces: AhN = nymphes d'*A. hebraeum*;

Ah = adultes d'*A. hebraeum*.

▲ = traitement acaricide.

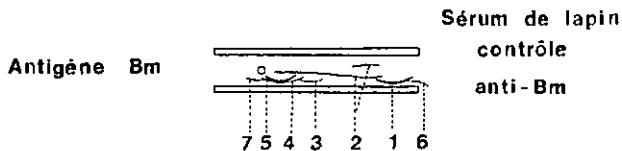


Fig. 10. Illustration de l'essai immunoelectrophorétique utilisé. Anti-Bm = expérimentalement immunisé contre les glandes salivaires des femelles de *B. microplus*.

3.2. Evolution des anticorps révélés par la technique d'immunoelectrophorèse

Remarque préliminaire: Un immunosérum expérimental de lapin anti-*B. microplus*, prélevé à la 7e semaine d'immunisation, contient le plus grand nombre de précipitines, c'est-à-dire 7 (Fig. 10). Un lapin «contrôle» présente le système précipitant No 2. Dans les sérums de bovins infestés par les tiques, nous décelons au maximum 2 systèmes précipitants, comparables aux systèmes 1 et 2 du lapin. Le système précipitant

Tableau 4. Evolution des précipitines 1 et 2 lors d'infestations de type I.
Le chiffre 0 signifie qu'aucune précipitine ne fut observée (Inf. = Infestations;
Trait. = Traitement)

Jours	Nos. des bovins									
	a) Contrôles					b) Traités				
-3			0	2						
-1	2	0						2		
0 (Inf.)						2	0		2	
7			2	2		2	0		2	2
11	2	2						2		
14	2	2	2	2		2	2	2	2	2
18	2	0	2	2		2	2	2	2	2
21	2	0	2	2		2	2	Trait. 2	2	2
27	1; 2	1; 2						2		
23			1; 2	2			2		2	2
						(Trait.)				
35	1; 2	1; 2	1; 2	2	1; 2	1; 2	2	2		
39		1; 2								
42	1; 2		1; 2	1; 2	1; 2	1; 2	2	2	2	2
49	1; 2	1; 2	0	1; 2	1; 2	2			2	
56							2			
63					1; 2	2			2	2
67	1; 2	1; 2								
68			2	1; 2						
78	1; 2	1; 2						2		
83			2	2						
92								2		
96	1; 2	1; 2								
98						2	2		2	2
119						2	2		2	2
125	1; 2	2								
127								2		
131			2	2						
151						2	2			
152										2
159	2	2	2	2						
181									2	2
182						2	0			
187	2	2						2		

No 2 est sans doute non spécifique. En effet, il est aussi mis en évidence chez certains bovins avant toute infestation par les tiques (voir ci-dessous). Ce n'est cependant pas un précipité du type substance C, protéine anti-C. En effet, l'épreuve à la solution basique 5% s'est révélée négative.

Les évolutions des anticorps précipitants sont portées dans le Tableau 4.

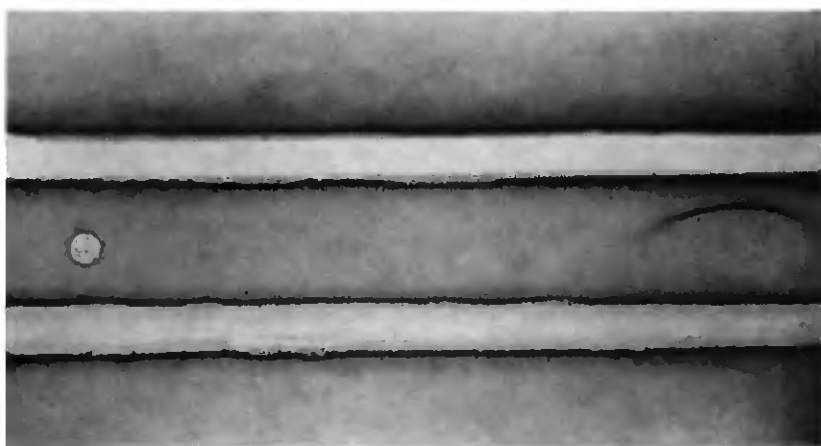


Fig. 11. Précipitine No 1 de bovin. Le principe de la méthode est celui décrit par GRABAR et WILLIAMS (1953): voir la description exacte dans le texte.

a) Bovins «contrôles» des essais acaricides

La précipitine No 1 (Fig. 11) n'est pas détectée chez les 5 bovins examinés, avant toute infestation par les tiques. A ce moment, le système précipitant No 2 est présent chez 3 des 5 animaux. Nous décelons la précipitine No 1, 27 ou 28 jours après le début de l'infestation par les larves de *B. microplus* des bovins Nos 1, 2 et 5, 35 et 42 jours après chez les bovins Nos 7 et 6 respectivement. La persistance de cet anticorps est variable de cas en cas. Chez le bovin No 1, nous le détectons encore 125 jours après la première infestation, soit plus de 2 mois après que la dernière tique se soit nourrie. Au contraire, chez l'animal No 5, nous ne le mettons plus en évidence déjà quelques jours avant la fin de l'infestation. Le système précipitant No 2 est présent dans la quasi totalité des sérums, sans rapport évident avec l'infestation des animaux par les tiques.

b) Bovins traités par acaricides

La précipitine No 1 n'est pas mise en évidence chez les bovins traités par des acaricides. Le bovin No 8, traité tardivement (voir page 20), fait pourtant exception. Cinq et 6 semaines après le début de l'infestation, cette précipitine est détectée. Le système précipitant No 2 est par contre généralement présent.

4. Evolution du phénomène de résistance après des infestations de type II

Les évolutions des récoltes de femelles gorgées de *B. microplus* sont représentées dans la Fig. 12 a et b. Les bovins Nos 21 et 22 sont infestés selon la méthode décrite à la page 18. Ainsi, chaque animal est parasité chaque semaine par les larves provenant de 4 pontes de *B. microplus* (environ 8000 larves). Pour atténuer les erreurs, découlant des différences probables du nombre de larves entre chaque infestation, les récoltes de femelles gorgées sont représentées par période de 2 semaines. Elles sont exprimées en % du nombre de larves femelles, mises à se gorger pour chaque période. Nous supposons une sexe-ratio de 1/1. Le groupe n'étant constitué que de 2 bovins, nous ne procéderons pas à l'évaluation statistique des résultats.

a) Bovin No 21 (Fig. 12 a)

Durant le premier mois de récolte, ce veau devient plus susceptible aux tiques. En effet, le nombre de femelles gorgées augmente de 22 % de la première à la deuxième récolte, puis diminue de 50% au cours de la troisième. Après une augmentation des récoltes de 12% durant les 2 périodes suivantes, celles-ci baissent à nouveau à 28% durant les 2 dernières.

b) Bovin No 22 (Fig. 12 b)

Durant les 2 premières périodes, l'importance des récoltes augmente de 12%. A la troisième récolte, le nombre de femelles gorgées est diminué de 26%. Après une nouvelle augmentation de 12% à la quatrième, les récoltes ultérieures baissent régulièrement. La dernière récolte est inférieure de 38% par rapport à la plus importante (64%).

Malgré une courbe des récoltes en dents de scie, on observe chez ces 2 bovins une diminution régulière du nombre des femelles gorgées au fur et à mesure qu'augmente le nombre des infestations.

5. Récoltes chez 2 bovins immunisés préalablement aux infestations selon la méthode décrite page 18 (infestations de type III)

Les évolutions des récoltes de femelles gorgées de *B. microplus* sont aussi représentées par période de 2 semaines pour les bovins Nos 23 et 24 (Fig. 12 c et d), comme pour les bovins Nos 21 et 22.

a) Bovin No 23 (Fig. 12 c)

Remarque: Les 3 infestations préalables par quelques centaines de larves de *B. microplus* ont produit respectivement 66, 347 et 91 femelles gorgées.

Tableau 5. Résistance, infestations de type II et III

	A. Infestations de type II		B. Infestations de type III	
Bovins No	21	22	23	24
Récoltes en % durant 8 semaines	50	51	19	8
Moyenne	50,5		13,5	
Gain de résistance			37%	

Pour les 5 premières réinfestations, les récoltes sont comprises entre 25 et 12%. Ce veau meurt pendant la sixième récolte d'un œdème pulmonaire suraigu.

b) Bovin No 24 (Fig. 12 d)

Remarque: Les 3 infestations préalables par quelques centaines de larves de *B. microplus* ont produit respectivement: 530, 277 et 39 femelles gorgées.

Pour les 4 premières réinfestations, les récoltes sont faibles sur ce bovin (11 à 5%). Ce veau meurt durant la cinquième récolte d'hépatite avec bronchopneumonie.

Par suite de la mort prématurée des bovins Nos 23 et 24, nous ne tiendrons compte dans nos conclusions comparatives des infestations de type II et III, que des résultats enregistrés au cours des 4 premières récoltes (Tableau 5).

Chez les bovins Nos 21 et 22, nous récoltons 50,5% de femelles gorgées et 13,5% seulement sur les bovins Nos 23 et 24. Ainsi par l'injection de glandes salivaires à la naissance des veaux et par les 3 petites infestations préalables, nous augmentons la résistance de ces animaux de 37% contre les femelles de *B. microplus*.

6. Evolution des anticorps circulants anti-salive de *B. microplus* après des infestations de type II et III

Nous étudions l'évolution des anticorps chez les 4 bovins Nos 21 à 24 (Fig. 12 a à d).

a) Bovins Nos 21 et 22

Avant le début de l'infestation des bovins, nous ne détectons aucun anticorps. Chez le bovin No 21, les anticorps «fluorescents» sont décelés lorsque les premières femelles de *B. microplus* finissent leur cycle parasitaire. Le titre augmente à 1:160 au début de la récolte maximale.

Ce titre élevé persiste jusqu'au commencement de la forte baisse des récoltes. Il coïncide avec la présence de la précipitine No 1. Il diminue ensuite au titre de 1:80, puis de 1:40. Celui-ci se maintient alors durant la fin de l'infestation. Chez le bovin No 22, les anticorps «fluorescents» sont déjà décelés 7 jours après la première infestation (1:20). Le titre augmente à 1:80 au début de la première récolte. Durant l'infestation, le titre varie entre 1:160 et 1:40. La précipitine No 1 est révélée tardivement, c'est-à-dire dès le 92^e jour après la première infestation. Nous vérifions encore sa présence le 114^e jour.

b) Bovins Nos 23 et 24

Les premiers anticorps «fluorescents» sont détectés environ 1 mois après la naissance des 2 veaux. Ils sont formés contre l'infestation initiale de larves et l'injection sous-cutanée de glandes salivaires de *B. microplus*, traitement effectué à la naissance des animaux. Chez le bovin No 23, le titre de 1:40 des anticorps «fluorescents» est maintenu par 2 autres infestations de rappel jusqu'au début des infestations hebdomadaires. La précipitine No 1 est décelée par 2 fois durant les 7 premiers mois de la vie de cet animal. Chez le bovin No 24, les 2 petites infestations de rappel stimulant également la synthèse des anticorps «fluorescents». Ceux-ci, moyennant quelques variations dans leur titre, sont toujours présents au début des infestations hebdomadaires et 7 jours avant la première, le titre de ces anticorps est de 1:80. Lors des 2 premiers mois de la vie de cet animal, la précipitine No 1 est déjà présente. Durant les infestations hebdomadaires, le titre des anticorps reste stable (1:80 ou 1:40) chez les 2 animaux. Dans les 2 cas, la précipitine No 1 est aussi présente 36 ou 49 jours après le début de ces infestations.

Discussion

1. Infestation de type I

Dans les contrôles des essais «acaricides», de nombreuses femelles de *B. microplus* ne terminent pas leur cycle parasitaire, lors de la première infestation des bovins déjà (voir Figs 2, 3 et 4). Pourtant, les animaux sont entravés par un harnais (SNOWBALL, 1956). Ils ne peuvent donc détruire les ectoparasites par frottement, lèchage et coups de queue. Les pertes observées sont sans doute dues à d'autres phénomènes. Ainsi avec RIEK (1962), on pourrait admettre l'existence d'une certaine résistance naturelle de l'hôte contre la piqûre des tiques. Cependant, nos travaux montrent que la durée assez longue du cycle parasitaire de *B. microplus* (environ 21 jours) engendre le développement d'une réponse immunologique protectrice contre les ectoparasites

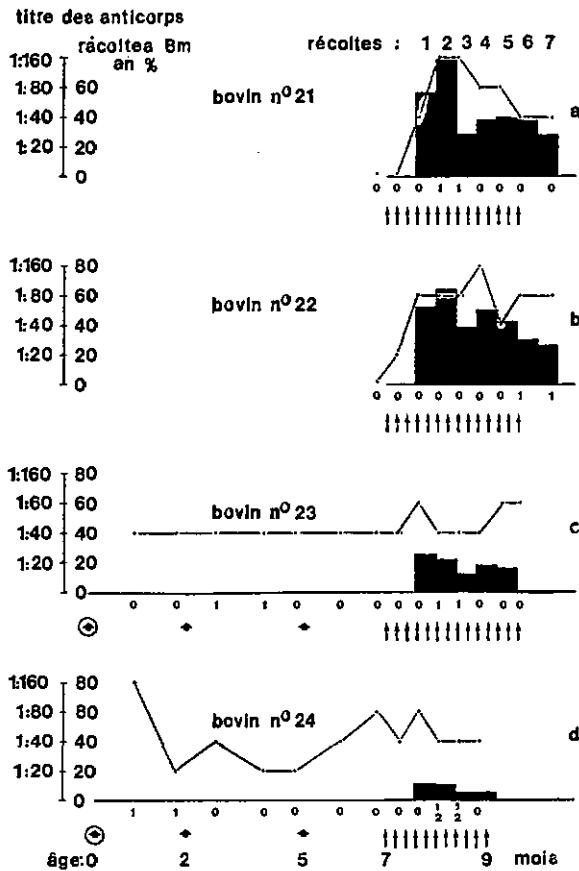


Fig. 12. Infestations de type II et III: Récollections des femelles gorgées de *B. microplus* et évolution des anticorps circulants.

Bm = femelles gorgées de *B. microplus*.

⊕ = injection de glandes salivaires + infestation par quelques centaines de larves de *B. microplus*.

↕ = infestation de rappel par quelques centaines de larves de *B. microplus*.

† = infestation hebdomadaire par les larves de *B. microplus*.

1 2 = présence des précipitines Nos 1 ou 2. 0 = absence de précipitine.

Les récoltes Bm en % se rapportent au nombre de larves femelles mises à se gorger par période de 2 semaines. La ligne continue représente l'évolution des anticorps circulants révélés par la technique d'immunofluorescence indirecte.

de la première infestation déjà. C'est d'ailleurs aussi l'avis de ROBERTS (1968a). Dans le cas des bovins traités par acaricides, la baisse des récoltes est évidemment due à l'action des substances mais à laquelle s'ajoute peut-être une réaction immunitaire des hôtes. Nous observons

en effet une élévation du taux moyen des γ -globulines sériques durant les 3 premières semaines d'infestations chez 10 bovins. Cette augmentation est sans doute due à la formation d'anticorps contre la salive des tiques. Par les techniques d'immunoélectrophorèse et d'immuno-fluorescence, la présence d'anticorps circulants est d'ailleurs démontrée chez les bovins infestés.

Comme dans le cas de certaines endoparasitoses (AMBROISE-THOMAS, 1969), le titre des anticorps «fluorescents» évolue selon différentes étapes: période de latence, élévation, palier et diminution. La durée du temps de latence peut être influencée par la quantité et la qualité antigénique de la salive injectée pendant le repas des ectoparasites. Ainsi GFELLER (1971) montra une activité antigénique maximale des glandes salivaires d'adultes de *R. bursa* le troisième jour de leur nutrition sur lapins. Quant à TATCHELL (1967 a), il préleva d'importantes quantités de salive juste avant le stade d'engorgement rapide des femelles de *B. microplus*. Cette augmentation d'activité des glandes salivaires provoque probablement l'élévation du titre des anticorps et ceux-ci protègent les bovins contre la piqure des tiques. Ils empêcheraient la nutrition, des larves surtout, par la neutralisation d'enzymes digestives (ROBERTS, 1968 a et b). D'autre part, une réaction d'hypersensibilité de la peau se développerait aussi et générerait la fixation des ectoparasites (RIEK, 1962). Dans nos expériences, les anticorps sont en général déjà détectés avant la fin du cycle parasitaire des tiques de la première infestation. Les faibles récoltes constatées d'emblée (voir ci-dessus) trouveraient ainsi une explication.

L'élévation du titre des anticorps au moment de la nutrition des premières femelles de *B. microplus* pourrait donc être due à leur salivation abondante à ce stade. Cette explication reste cependant hypothétique car les glandes salivaires éliminent surtout une forte quantité d'eau et de ions au cours de la phase finale du repas sanguin (TATCHELL, 1967 b). Il serait plus logique d'admettre dans notre système d'expériences, que les stimuli antigéniques sont constamment renouvelés par la nutrition des divers stades évolutifs des infestations ultérieures. Le titre des anticorps reste ainsi élevé.

Les bovins ne forment qu'une précipitine (No 1) contre la salive de *B. microplus*, le système précipitant No 2 étant sans doute non spécifique. On pourrait supposer l'existence de communautés antigéniques importantes entre l'antigène «tique» et le tissu «bovin». Cette parenté résulterait d'une longue adaptation de *B. microplus* à son hôte domestique, le bovin. Au contraire, le lapin, hôte expérimental réagirait plus fortement à la salive des tiques. En effet, l'immunsérum préparé avec *B. microplus* contient au minimum 7 systèmes précipitants. GFELLER (1971) a également mis en évidence 7 précipitines chez des lapins parasités par les adultes de *R. bursa*.

2. Infestations de type II

Dans ce type d'infestations, les bovins parasités par *B. microplus* seulement ne sont pas traités par acaricides. Chez les 2 animaux étudiés, l'acquisition de la résistance aux tiques est progressive. Les anticorps «fluorescents» peuvent apparaître rapidement après la première infestation. Ils sont alors formés contre les stimuli antigéniques des stades immatures, en particulier contre les larves de *B. microplus*. En effet, 7 jours après le début de l'infestation, plus du 50% des larves se sont déjà gorgées (HITCHCOCK, 1955).

3. Infestations de type III

Chez les bovins «immunisés», la présence d'anticorps circulants anti-salive de *B. microplus* provoque une diminution sensible du nombre de femelles gorgées dès la première infestation hebdomadaire. Ainsi, ces anticorps, ou du moins une partie d'entre eux, assureraient l'apparition d'une résistance précoce chez ces animaux. Cette observation confirme les expériences de TRAGER (1939). En effet, cet auteur protégea des animaux de laboratoire contre l'espèce *D. variabilis* par transfert passif d'immunsérum.

Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit zeigt der Autor, dass Rinder nach mehreren massiven Befallen mit Zecken, insbesondere mit *Boophilus microplus*-Larven, gegen diese Zecken resistent werden. Während des Befalls können beim Rind mit Hilfe zweier Methoden (der indirekten Immunofluoreszenz und der Immuno-elektrophorese) Antikörper gegen *B. microplus* Speicheldrüsen nachgewiesen werden. Zwischen der Entwicklung des Antikörpertiters beim Wirt und dem Eintreten des Resistenzphänomens herrscht also ein enger Zusammenhang.

Gegen *B. microplus* hat man 2 Präzipitationssysteme beim infizierten Rind und 7 beim experimentell immunisierten Kaninchen nachweisen können. Die Präzipitationssysteme Nr. 1 und 2 des Rindes sind mit dem entsprechenden des Kaninchens vergleichbar. System Nr. 2 ist nicht spezifisch, da es auch bei Rindern gefunden wird, die nie von Zecken befallen wurden.

Zwei Kälber, die bei ihrer Geburt mit dem Antigen von *B. microplus* behandelt werden (Einspritzungen von Speicheldrüsen und mehrmaliger Befall mit einer kleinen Anzahl Larven), weisen bei späterem Befall mit Zecken der gleichen Spezies eine deutliche Resistenz auf. Man hat festgestellt, dass diese Tiere bereits vor dem ersten Wiederbefall spezifische Antikörper besitzen. Das weist darauf hin, dass diese Antikörper für die Resistenzentwicklung verantwortlich waren.

Bibliographie

- AMBOISE-THOMAS, P. (1969). Etude séro-immunologique de dix parasitoses par les techniques d'immunofluorescence. — Thèse Doct. ès-sci. Lyon, 644 pp.
 BARNETT, S. F. (1962). La lutte contre les tiques du bétail. — FAO Agric. Stud. 54, 132 pp.

- BIGUET, J., ROSE, F., CAPRON, A. & TRAN VAN KY, P. (1965). Contribution de l'analyse immunoélectrophorétique à la connaissance des antigènes vermineux. Incidences pratiques sur leur standardisation, leur purification et le diagnostic des helminthiases par immunoélectrophorèse. – Rev. Immunol. 29, 5–30.
- BOESE, J. L. (1974). Rabbit immunity to the rabbit tick, *Haemaphysalis leporispalustris* (Acari: Ixodidae). I. The development of resistance. – J. med. Ent. 11, 503–512.
- GFELLER, W. (1971). Biologische, immunologische und histologische Untersuchungen als Beitrag zur Abklärung von Resistenzerscheinungen bei Kaninchen nach mehrmaliger Infestation mit der Zecke *Rhipicephalus bursa* (Canestrini und Fanzago, 1877. – Thèse Fac. Méd. vét. Berne, 77 pp.
- GRABAR, P. & WILLIAMS, C. A. (1953). Méthode permettant l'étude conjuguée des propriétés électrophorétiques et immunochimiques d'un mélange de protéines. Application au sérum sanguin. – Biochim. biophys. Acta, 10, 193–194.
- HEWETSON, R. W. (1968). Resistance of cattle to cattle tick, *Boophilus microplus*. II. The inheritance of resistance to experimental infestations. – Austral. J. agric. Res. 19, 497–505.
- HEWETSON, R. W. & NOLAN, J. (1968). Resistance of cattle to cattle tick, *Boophilus microplus*. I. The development of resistance to experimental infestation. – Austral. J. agric. Res. 19, 323–333.
- HITCHCOCK, L. F. (1955). Studies on the parasitic stages of the cattle tick, *Boophilus microplus* (Canestrini) (Acarina: Ixodidae). – Austral. J. Zool. 3, 145–155.
- RIEK, R. F. (1962). Studies on the reactions of animals to infestation with ticks. VI. Resistance of cattle to infestation with the tick *Boophilus microplus* (Canestrini). – Austral. J. agric. Res. 13, 532–550.
- ROBERTS, J. A. (1968a). Acquisition by the host of resistance to the cattle tick, *Boophilus microplus* (Canestrini). – J. Parasitol. 54, 657–662.
- ROBERTS, J. A. (1968b). Resistance of cattle to the tick *Boophilus microplus* (Canestrini). II. Stages of the life cycle of the parasite against which resistance is manifest. – I. Parasitol. 54, 667–673.
- SCHEIDEGGER, J. J. (1955). Une micro-méthode de l'immunoélectrophorèse. – Int. Arch. Allergy appl. Immunol. 7, 103–110.
- SNOWBALL, G. J. (1956). The effect of self-licking by cattle on infestations of cattle tick, *Boophilus microplus* (Canestrini). – Austral. J. agric. Res. 7, 227–232.
- TATCHELL, R. J. (1967a). A modified method for obtaining tick oral secretion. – J. Parasitol. 53, 1106–1107.
- TATCHELL, R. J. (1967b). Salivary secretion in the cattle-tick as a means of water elimination. – Nature (Lond.), 213, 940–941.
- TRAOER, W. (1939). Acquired immunity to ticks. – J. Parasitol. 25, 57–81.

Ixodes ricinus, vecteur expérimental
de trois espèces de babésies
(*B. bovis*, *B. berbera* et *B. argentina*)

par

M. BROSSARD ¹

Avec 7 figures et 4 tableaux

SUMMARY

1. In the Low Plain of the Rhône in Switzerland the incidence of bovine piroplasmiasis is rather frequent, on the one hand in spring or early summer, on the other, in autumn. Cases are localised especially in the region of the St. Maurice Gorge. Appearance of the disease coincides with the two annual peaks of activity for the tick, *I. ricinus*.
2. In this region, bovine piroplasmiasis is due to a small babesia morphologically comparable with *B. bovis* (Babes, 1888). The disease is rarely serious. Thus in this region from 1969-1973, we have not come across a single case of hemoglobinuria among 21 cases of babesiosis diagnosed from blood smears. An intramuscular injection of Berenil® or Imizol® are two excellent therapies.
3. *I. ricinus* is apparently the only species of *Ixodes* parasitizing cattle in the Low Plain of the Rhône. They colonise forests covering the mountainsides, the woods of the plain and the narrow strips of forest lining the banks of the river. The pastures of the plain—notably a farm in La Rasse—present biotops favourable to the survival of *I. ricinus*, i.e. groves and forests where cattle are infested with ticks. Serological evidence (indirect immunofluorescence) disclosed that cattle, of which some had suffered piroplasmiasis, produced circulating antibodies against the saliva of *I. ricinus*. In this country, *I. ricinus* transmits *B. bovis*. Only few ticks seem to be infected in nature. After 4 failures to isolate the piroplasm (cattle No. 101 to 104) this was finally realized (cattle No. 105) from specimens of *I. ricinus* coming from a pasture endemic to babesiosis.

¹ Ce travail est un extrait de la deuxième partie d'une thèse en Sciences naturelles présentée sous la direction du professeur A. Aeschlimann à l'Institut de Zoologie de Neuchâtel. Ces recherches ont été réalisées grâce à l'appui de la maison Ciba-Geigy et du Fonds national suisse de la recherche scientifique que nous remercions ici.

4. *B. berbera*, *B. argentina* and *B. bovis*, 3 small forms of babesias should probably be considered as races of the same species: *B. bovis*, the latter name having priority. Actually, the dimensions of *B. bovis* of the Low Valley of the Rhône are only slightly smaller than those of *B. berbera* (Israeli form) and of *B. argentina* (Australian form). Moreover, *I. ricinus*, the natural vector of *B. bovis*, can also be a vector for the two exotic babesias.

INTRODUCTION

GALLI-VALERIO (1901), le premier, soupçonna la présence d'un piroplasma du bétail dans la Basse Vallée du Rhône¹ lors d'une conférence qu'il donna à la Société vaudoise des sciences naturelles à Lausanne. Puis cet auteur observa des haemosporidies dans le sang d'un bovin hémoglobininurique de la région (GALLI-VALERIO, 1925 a et b). Récemment, *Babesia bovis*, la première des espèces de babésies décrites dans le monde par BABES (1888), fut signalée dans cette contrée. Selon MORISOD et al. (1972), elle serait transmise par *Ixodes ricinus* (Linné, 1758), l'Ixodide le plus répandu en Suisse.

Dans le présent travail, l'épidémiologie du protozoaire sera par conséquent précisée par rapport à la biologie de cette tique.

Depuis la description originale de *B. bovis*, d'autres petites formes de babésies des bovins furent observées. Nous pensons en particulier à 2 piroplasmes exotiques qui lui sont morphologiquement comparables. Ce sont:

— *Babesia herbera* (Sergent et al., 1924), dont les vecteurs sont *Boophilus annulatus* et *Rhipicephalus bursa* (SERGENT et al., 1945).

— *Babesia argentina* (Lignières, 1901) qui est transmis naturellement par *Boophilus microplus* (LIGNIÈRES, 1903).

Nous referons la description morphologique des 3 piroplasmes; puis nous introduirons un nouveau critère de classification, de nature biologique cette fois. En effet, nous tenterons la transmission expérimentale de *B. bovis*, de *B. berbera* et de *B. argentina* par *I. ricinus*. En réussissant cet essai, nous montrerions que les organes d'*I. ricinus* constituent un milieu de développement favorable pour les 3 espèces de parasites. Ainsi une communauté d'exigences biologiques des 3 babésies au niveau du vecteur, associée à une morphologie comparable, impliquerait sûrement leur très proche parenté systématique, peut-être même une origine identique.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Diagnostic clinique et microscopique de la piroplasmose de la Basse Plaine du Rhône

Les symptômes les plus frappants de la piroplasmose sont les suivants: le bovin malade montre une allure fatiguée, sa température est souvent élevée (jusqu'à 41° C). Il ne mange plus et ne rumine plus. L'animal souffre de polypnée. Chez la vache, la production laitière est fortement diminuée. Cependant, aucun des signes cliniques

¹ Dans ce travail, nous appelons « Basse Vallée du Rhône » la région située en Suisse en aval de Martigny et s'étendant jusqu'au lac Léman.

décrits n'est propre à cette affection (MORISOD et al., 1972). Considérés dans leur ensemble, ils constituent pourtant une bonne présomption. C'est surtout l'absence d'hémoglobinurie qui rend le diagnostic difficile.

La découverte de l'agent de la maladie, par examen microscopique de frottis sanguins colorés au Giemsa, est évidemment le seul diagnostic sûr. Les frottis sont examinés au microscope pendant 45 minutes au moins.

2. Diagnostic immunologique de l'infestation des bovins par *I. ricinus*

Des anticorps formés par les bovins contre la salive d'*I. ricinus* sont recherchés par immunofluorescence indirecte, selon la technique d'AMBROISE-THOMAS (1969). Comme antigène, nous employons des coupes histologiques de glandes salivaires de femelles d'*I. ricinus*, prélevées 4 à 5 jours après le début de leur nutrition sur bovin. Les coupes de 5 μ d'épaisseur sont réalisées au cryostat.

Le sérum fluorescent (Institut Pasteur de Paris) est dilué à 5% dans le Bleu d'Evans. Le colorant est dilué à 1: 10.000 dans du tampon phosphate (pH 7,2). Le seuil de spécificité de la réaction est déterminé expérimentalement. Il correspond à la dilution de 1: 20 des sérums à étudier.

3. Elevage d'*I. ricinus*

L'élevage d'*I. ricinus* est réalisé au laboratoire, en utilisant le bovin comme seule source de nourriture pour les larves, les nymphes et les adultes. Les tiques se gorgent sur la queue de l'animal, isolées dans un sac de nylon qu'on ferme à ses extrémités par une bande adhésive Tesa. Pour la récolte, on ouvre le sac à son extrémité inférieure.

Les durées des différentes phases du cycle sont portées dans le tableau 1.

TABLEAU 1
Elevage et cycle d'I. ricinus sur le bovin

	J	T°C	HR %
Préoviposition	8-17	22	90-95
Embryogénèse	31-47		
Prénutrition larvaire	21		
Repas larvaire	2-7 *		
Postnutrition larvaire (mue)	21-25	26	90-95
Prénutrition nymphale	21		
Repas nymphal	2-7 *		
Postnutrition nymphale (mue)	24-37	26	90-95
Prénutrition de la femelle	21		
Repas de la femelle	6-14 *		

J = Jours T°C = Température en °C HR % = Humidité relative en %

* Des observations récentes expliquent les légères modifications des durées des repas des larves, des nymphes et des femelles d'*I. ricinus* citées par AESCHLIMANN (1972).

Les 3 stades sont nourris dans des étables climatisées à la température de 25 à 27° C et à une humidité relative de 70 à 80%. Les conditions optimales de ponte et d'éclosion sont celles d'une atmosphère humide proche de la saturation (90 à 95%), à une température de 22° C. *I. ricinus* étant une espèce triphasique, ses deux mues libres se déroulent favorablement dans une humidité de 90 à 95% et à la température de 26° C.

4. Origine des souches de babésies exotiques

— *B. berbera* provient du « Veterinary Institute of Parasitology » d'Israël¹. Au laboratoire, nous avons infecté 2 veaux par injection intraveineuse de 50 ml de sang par animal.

— *B. argentina* provient de la région de Beaudésert, en Australie. La souche nous fut remise sur des femelles gorgées de *B. microplus*. Au laboratoire, les larves de la génération suivante, mises à gorger sur 2 bovins propres, ont infecté ces animaux, prouvant ainsi, s'il était encore nécessaire, la réalité de la transmission transovarienne.

RÉSULTATS

1. Distribution, fréquence et traitement des cas de piroplasmose bovine dans la Basse Plaine du Rhône

Nous avons répertorié les cas de piroplasmose observés dans cette région, du printemps 1969 à celui de 1973². Cette liste (tableau 2) est certainement incomplète. En effet, plusieurs cas n'ont sans doute pas nécessité l'intervention du praticien. Tous les bovins malades observés ont montré les signes cliniques résumés précédemment. Le piroplasma fut découvert par examen de frottis sanguins sur 21 bovins, de 1969 à 1972. D'autre part, 2 bovins de Chiètres et 3 de Choëx ont présenté les symptômes de la maladie mais les frottis de sang ne furent malheureusement pas réalisés. Sur le tableau 2, nous avons également indiqué le remède employé pour le traitement. Six bovins reçurent une injection intramusculaire d'Imizol®³ (2 mg/kg) et 13 de Bérénil®⁴ (3 à 4 mg/kg). Tous guérirent en 24 à 48 heures. Quelques animaux ne furent pas soignés, ou seulement de manière aspécifique (par antibiotiques, antiallergiques ou corticostéroïdes). Ils se rétablirent alors en 1 à 2 semaines; seule la production laitière ne redevint normale qu'après plusieurs semaines, voire après plusieurs mois.

2. Morphologie de *B. bovis*, piroplasma de la Basse Plaine du Rhône

Une parasitémie toujours faible (environ 1 ‰) caractérise la piroplasmose bovine de la Plaine du Rhône. On compte 1 à 2 formes de division (doubles poires) pour 10 à 15 fois plus d'autres formes par frottis (poires simples, formes amiboïdes ou en anneau). Les parasites, parfois situés dans l'aire centrale du globule, peuvent être aussi périphériques. Mais les formes de division ne coiffent jamais le pourtour des hématies

¹ Nous remercions le Dr P. E. Pipano pour l'envoi de cette souche.

² Nous remercions également M. Morisod, vétérinaire à Monthey, qui nous a signalé les animaux malades de piroplasmose.

³ Imizol® Cooper.

⁴ Bérénil® Hoechst.

TABLEAU 2
Piroplasmose bovine dans la Basse Plaine du Rhône

Date	Lieu Propriétaire	Numéro des Bovins	Diagnostic		Traitement spécifique
			clinique	microscopique	
1969 12.06	<i>Vionnaz</i> Dörig B.	51	+	+	Aucun
		52	+	+	Aucun
		53	+	+	Aucun
		54	+	+	Aucun
1970 12.09 14.09	<i>La Rasse</i> Jacquemoud A. Jacquemoud M.	55	+	+	Bérénil
		56	+	+	Bérénil
1971 13.05 18.05 25.05	<i>La Rasse</i> Jacquemoud M.	57	+	+	Imizol
		58	+	+	Imizol
		59	+	+	Imizol
		60	+	+	Imizol
		61	+	+	Imizol
		62	+	+	Imizol
juillet	<i>Chiètres</i> Abbaye de Saint-Maurice	63	+	+	Aucun
		64	+	+	Aucun
15.10	<i>Choëx</i> Marclay G.	65	+	+	Aucun
08.11 29.12	<i>La Rasse</i> Jacquemoud M.	66	+	+	Bérénil
		67	+	+	Bérénil
		68	+	+	Bérénil
		69	+	+	Bérénil
1972 29.09	<i>Bex</i> ?	70	+	+	Bérénil
		71	+	+	Bérénil
1973 avril	<i>Chiètres</i> Nicolet L.	72	+	pas fait	Bérénil
		73	+	pas fait	Bérénil
01.05 09.05 14.05	<i>Choëx</i> Marclay G.	74	+	pas fait	Bérénil
		75	+	pas fait	Bérénil
		76	+	pas fait	Bérénil

(fig. 1). Il ne s'agit donc pas de *B. divergens*, qui fut signalé dans notre pays en Suisse italienne (BROSSARD et AESCHLIMANN, 1975) et dans le Clos du Doubs (QUENET, thèse en préparation; voir aussi AESCHLIMANN et al., 1976).

Sur la figure 2, nous avons dessiné à l'échelle différentes formes de *B. bovis*. Nous avons observé des poires simples (fig. 2, a et b), des formes amiboïdes (fig. 2, c), des

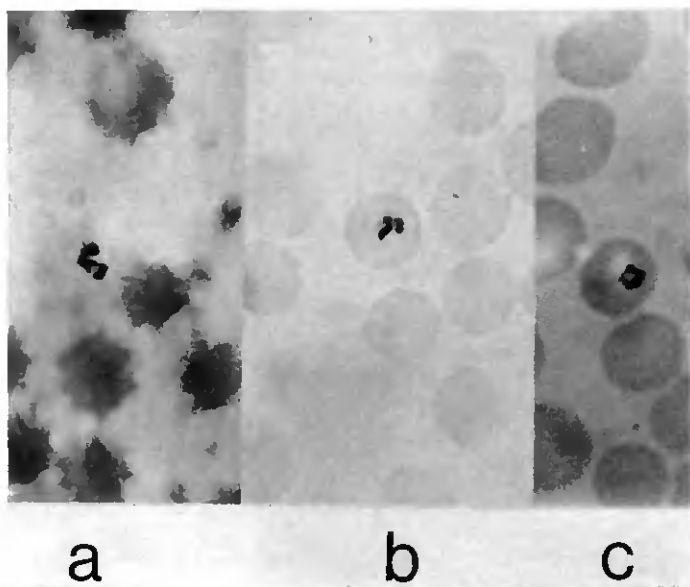


FIG. 1.

B. bovis de la Basse Plaine du Rhône.

a et b: formes en division.

c: forme en anneau.

formes en anneau ou ovales (fig. 2, d et e). Les dimensions de toutes ces formes peuvent être très variables, ce qui n'est pas le cas des formes de division. Ainsi chaque élément des doubles poires mesure 1,2 à 1,8 μ sur 0,6 à 0,9 μ . L'angle formé entre les éléments varie de l'aigu à l'obtus. Il semble dépendre du stade de la bipartition (fig. 2, f à i).

3. Rôle épidémiologique d'*I. ricinus* dans la Basse Plaine du Rhône

3.1. Distribution comparative d'*I. ricinus* avec celle de la maladie.

I. ricinus est essentiellement exophile. Les 3 stades (larves, nymphes et adultes) sont capturés dans cette région par la méthode dite du « drapeau » (AESCHLIMANN, 1972).

I. ricinus trouve les conditions optimales de température et d'humidité nécessaires à sa survie dans de nombreux biotopes: broussailles, bosquets, lisières et intérieurs de forêts à sous-bois dense. Sous le couvert végétal, sous le tapis de feuilles sèches ou dans les anfractuosités du sol, cette espèce entreprend sa ponte et ses mues. Les 3 stades évolutifs à jeun attendront un hôte de passage favorable sur la végétation. Les larves

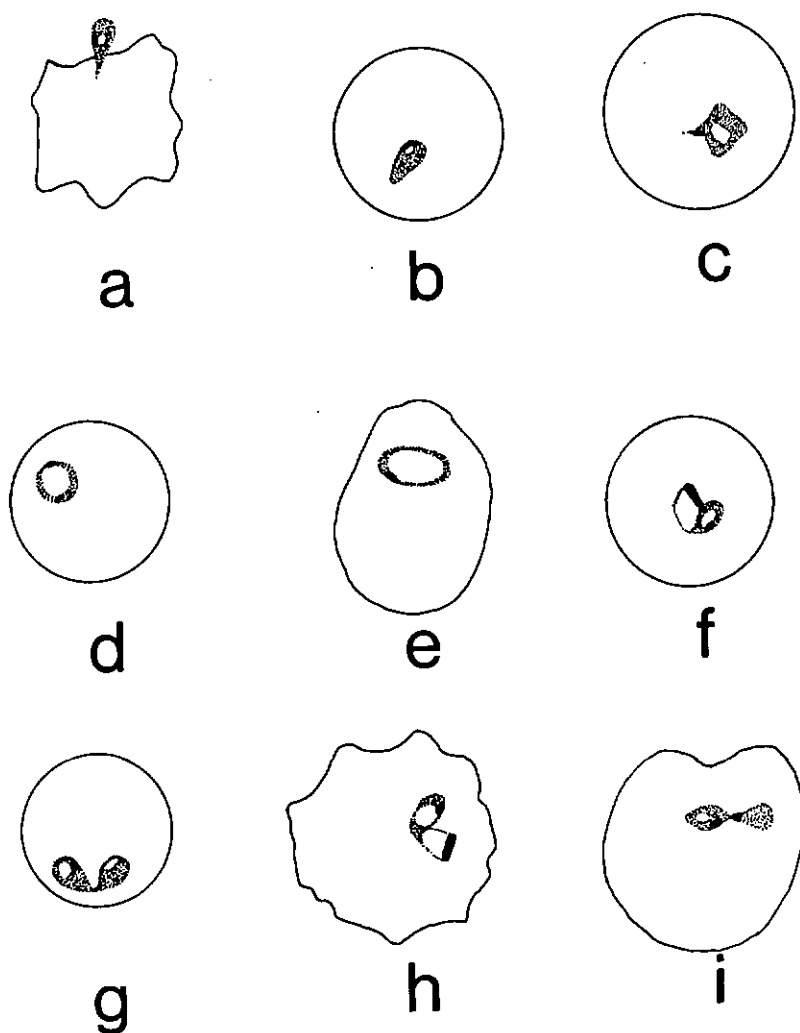


FIG. 2.

Divers stades de développement de *B. bovis* de la Basse Plaine du Rhône.

- a et b: formes en poire simple.
- c: forme amiboïde.
- d et e: formes en anneau.
- f à i: formes en division.

ne s'éloignent que fort peu du lieu de ponte. Les nymphes et les adultes à l'affût occupent une position plus élevée sur les herbes et les arbustes. Ainsi, *I. ricinus*, très répandu dans la région, fut-il capturé dans les 3 principaux types de biotopes suivants:

1) Les lisières et intérieurs des forêts de feuillus et des forêts mixtes (feuillus et conifères) couvrant le flanc des montagnes (fig. 3: ●₁).

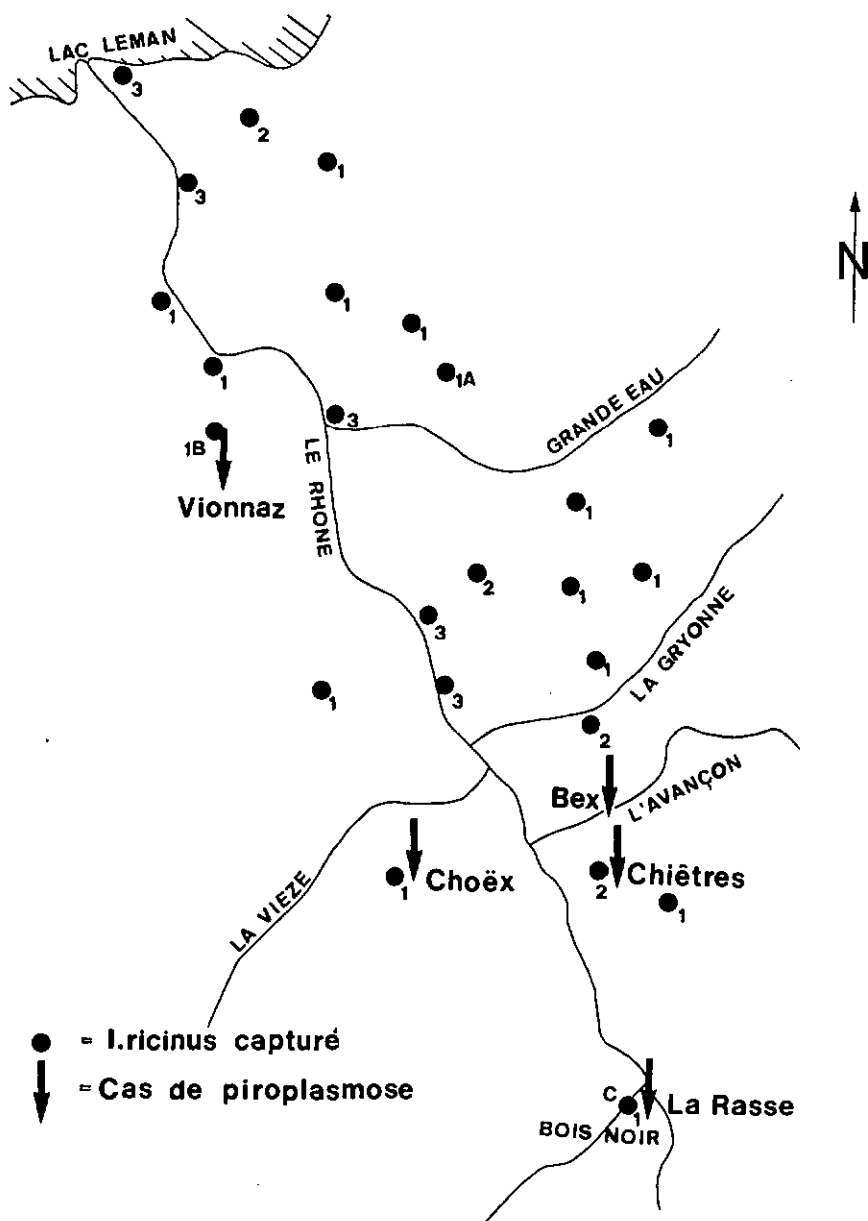


FIG. 3.

Piroplasmose bovine et *I. ricinus* dans la Basse Plaine du Rhône.

Les chiffres 1, 2 et 3 représentent 3 grands types de biotopes favorables à *I. ricinus* (voir les détails dans le texte).

Dans les endroits A, B et C, les tiques *I. ricinus* capturées ont servi dans les essais de transmission de *B. bovis* au laboratoire.

2) Les lisières et intérieurs de petites forêts de feuillus (reliquats de bois de bouleaux par exemple) dans la plaine (fig. 3: ●₂).

3) Les galeries forestières des rives du Rhône (fig. 3: ●₃).

De tels biotopes débordent dans les pâturages; ils sont alors les lieux probables d'infestation des bovins par les tiques. En fait, la distribution d'*I. ricinus* recouvre celle de la piroplasmose à Vionnaz, à Choëx, à la Rasse, à Chiètres et à Bex (fig. 3).

L'exemple du domaine de la Rasse, où de nombreux cas de piroplasmose furent observés, est particulièrement intéressant. Le pâturage de cette ferme est bordé sur ses côtés nord et nord-ouest par le Bois Noir. Il peut être divisé en 3 zones (fig. 4):

1) La prairie, libre de toute végétation arbustive, n'est pas propice aux tiques. Nous n'y avons fait aucune capture au « drapeau ». Par contre, *I. ricinus* fut capturé par cette méthode dans 2 biotopes très favorables:

2) Les forêts mixtes de feuillus et de conifères à sous-bois abondant.

3) Les haies et les bosquets avec prédominance de noisetiers.

Avant 1972, les bovins de la Rasse paissaient librement sur toute la surface du pâturage limitée par une clôture (trait épais continu de la fig. 4). Ils s'infestaient donc en longeant les haies, en traversant les bosquets ou en pénétrant dans les forêts. Soupçonnant le rôle d'*I. ricinus* dans la transmission de la maladie, le plus grand nombre de biotopes favorables furent alors clôturés au début de l'année 1972 (trait pointillé de la fig. 4). L'infestation des bovins par les tiques fut ainsi fortement diminuée. En conséquence, il ne fut plus constaté de piroplasmose pendant la durée d'observation, c'est-à-dire jusqu'à l'automne de l'année 1973.

3.2. Diagnostic immunologique d'une ancienne infestation des bovins par *I. ricinus*.

I. ricinus transmet probablement *B. bovis* dans la Basse Vallée du Rhône, car il est le seul Ixodide à parasiter les bovins de cette région (voir ci-dessus). Par conséquent, au moins les bovins malades devraient présenter des anticorps circulants anti-salive d'*I. ricinus*. Cette hypothèse a été vérifiée par la technique d'immunofluorescence indirecte.

TABLEAU 3
Infestation des bovins par I. ricinus, diagnostic immunologique

N° des bovins	Date de la piroplasmose observée	Diagnostic immunologique	
		Date	Titre des anticorps anti-tiques
77	Bovin sain	23.06.71	1:40
78	Bovin sain	23.06.71	1:40
57	13.05.71	23.06.71	0
58	18.05.71	23.06.71	1:40
59	18.05.71	23.06.71	1:20
60	24.05.71	23.06.71	1:20
61	24.05.71	23.06.71	1:20
62	24.05.71	23.06.71	1:40
66	08.11.71	29.12.71	1:20
67	08.11.71	29.12.71	1:20
68	08.11.71	29.12.71	1:20

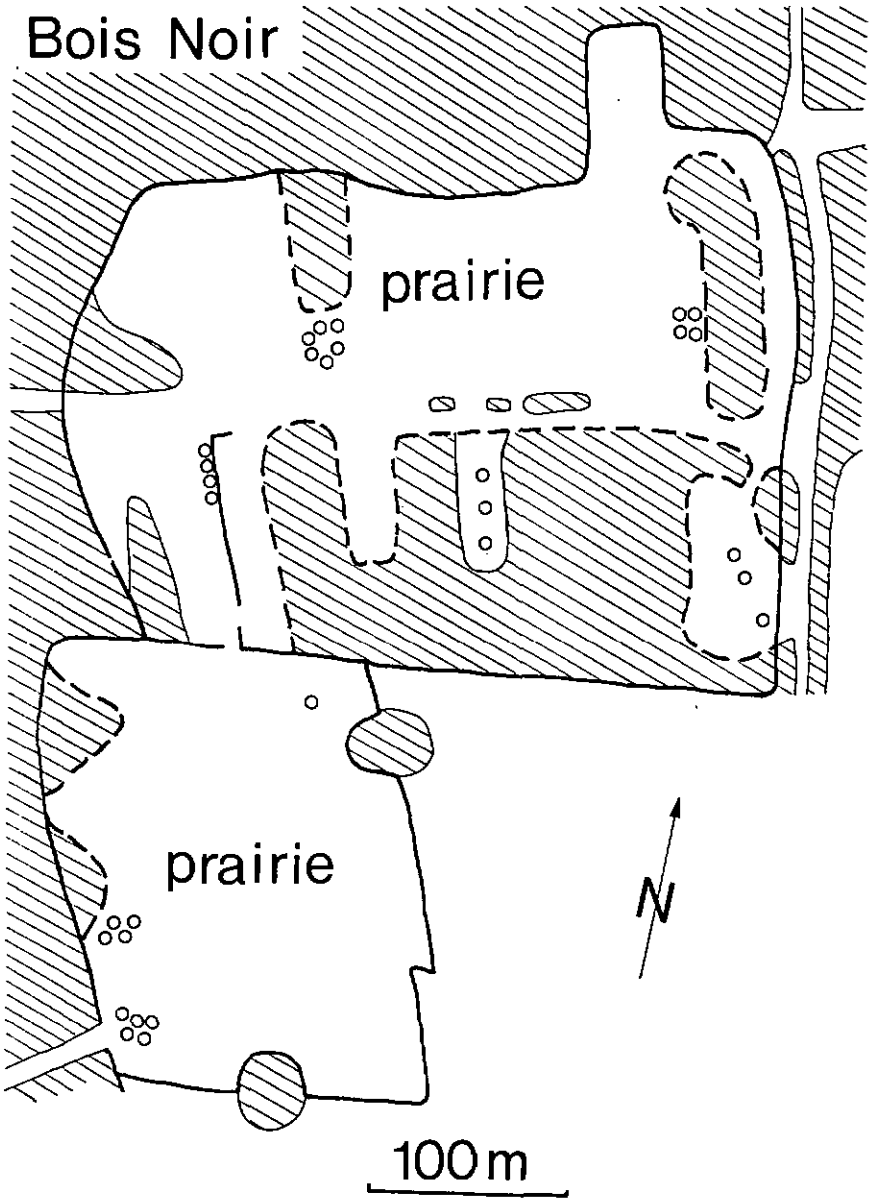


FIG. 4.

Pâturage à piroplasmose endémique d'une exploitation agricole de la Rasse (représentation schématique).



Forêts ou haies.



Bosquets.



Clôture avant la fin 1971.



Clôture supplémentaire dès 1972.

Sur 9 animaux atteints de piroplasmose, 6 montrèrent un titre d'anticorps anti-tiques de 1: 20 et 2 de 1: 40, cela 4 à 7 semaines après le début de la maladie. Un seul bovin ne possédait pas d'anticorps au moment de l'examen. Enfin, 2 animaux indemnes de babésiose montraient un titre d'anticorps de 1: 40 (tableau 3). Ces résultats montrent donc que ces animaux avaient été infestés de tiques, exception faite pour le bovin n° 57.

Dans le chapitre suivant, nous démontrerons définitivement qu'*I. ricinus* est le vecteur de *B. bovis* dans la Basse Vallée du Rhône.

3.3. Infection naturelle d'*I. ricinus* par *B. bovis*.

Les différents stades d'*I. ricinus*, capturés dans plusieurs biotopes de la région, sont mis à se nourrir sur des bovins propres. Ainsi, nous tentons au laboratoire la transmission de *B. bovis* (tableau 4).

TABLEAU 4
Essais d'isolement de B. bovis

Bovins N°	Infestation par <i>I. ricinus</i>	Lieu de capture	Récoltes d' <i>I. ricinus</i> gorgés	Isolement de <i>B. bovis</i>
101 et 102	N + A	Yvorne Vouvry	env. 200 N + 175 ♀	Echec
103	N + A	La Rasse	37 N + 6 ♀	Echec
104	A	La Rasse	6 ♀	Echec
105	L + A	La Rasse	env. 3500 L + 14 ♀	Réussite

A = adultes (♀ et ♂)

N = nymphes

L = larves

a) *I. ricinus* de biotopes non fréquentés par le bétail :

Des nymphes et des adultes sont capturés dans la forêt bordant les vignes d'Yvorne et dans la forêt couvrant le versant de la montagne près de Vouvry (fig. 3: biotope ● 1A et B).

Nous infestons 2 bovins splénectomisés (n° 101 et 102). Nous récoltons 175 femelles et environ 200 nymphes gorgées sur ces animaux. Nous n'observons pas d'accès parasitaire. Cet essai d'isolement de *B. bovis* a donc échoué.

b) *I. ricinus* du pâturage de La Rasse :

Considérant le nombre élevé de cas de piroplasmose bovine observés dans cette ferme, nous capturons des nymphes et des adultes d'*I. ricinus* dans le pâturage avoisinant (fig. 3: biotope ● 1C).

Bovins n° 103 et 104 : 37 nymphes et 6 femelles se gorgent sur le bovin n° 103 et 6 femelles sur le bovin n° 104. Aucun accès thermique ni parasitaire n'est constaté. Cet essai de transmission de *B. bovis* à partir de tiques (nymphes et adultes) capturées dans un pâturage endémique à piroplasmose se solde également par un échec.

Bovin n° 105: Ce bovin propre est infesté par des larves d'*I. ricinus*, progéniture de 3 femelles trouvées gorgées sur 2 bovins malades de piroplasmose dans la ferme de la Rasse. Il reçoit encore des femelles et des mâles d'*I. ricinus*, capturés dans le pâturage de cette ferme.

Nous récoltons sur cet animal environ 3500 larves et 14 femelles gorgées. Nous constatons une faible parasitémie à *B. bovis* (environ 1 ‰). Ainsi l'infectiosité d'*I. ricinus* récolté dans la nature se trouve démontrée. Les larves, infectées par transmission transovarienne, ou les adultes ont transmis le piroplasma.

4. Comparaison de *B. bovis* avec des petites formes de babésies exotiques :

B. berbera et *B. argentina*. Morphologie et transmission

4.1. Morphologie

Au sein d'une même espèce de babésies, nous l'avons déjà dit, les différentes formes endoglobulaires sont de dimensions très variables. Seules les formes de division (les doubles poires) sont moyennant de minimes variations, fixées dans leur grandeur. C'est pourquoi nous ne comparerons que les formes de division de *B. bovis* avec celles de *B. berbera* et de *B. argentina* (fig. 5). Dans les 3 espèces, nous observons :

— des formes centrales ou périphériques (absence totale de doubles poires en calotte sur le pourtour de l'hématie).

— la variabilité de l'angle formé entre les éléments des formes de division (aigu à obtus). Son ouverture dépendrait du stade de la bipartition.

Comme dans le cas de *B. bovis*, les 2 babésioses exotiques se caractérisent par de faibles parasitémies, de l'ordre de 1 ‰.

B. berbera et *B. argentina* sont de dimensions très voisines. Un des éléments d'une double poire mesure :

— chez *B. berbera*, de 1,8 à 2,4 μ sur 1,2 μ (moyenne 2,0 sur 1,2 μ)¹.

— chez *B. argentina*, de 1,8 à 2,1 μ sur 1,2 μ (moyenne 1,9 sur 1,2 μ)¹.

Comme décrit précédemment, *B. bovis* possède des dimensions légèrement inférieures, c'est-à-dire 1,2 à 1,8 μ sur 0,6 à 0,9 μ (moyenne 1,6 sur 0,8 μ)¹.

4.2. *I. ricinus*, vecteur potentiel de *B. berbera* (fig. 6).

a) Infection expérimentale d'*I. ricinus* par *B. berbera* :

Les bovins n° 106 et 107 sont chacun expérimentalement infectés par voie intra-veineuse au jour 1 de l'essai par 50 ml de sang contenant *B. berbera*.

Le jour de l'injection et 4 jours plus tard, les 2 animaux sont infestés par des adultes propres d'*I. ricinus*. Cinq et 6 jours après l'injection, ils le sont encore par des larves et des nymphes de cette même espèce.

Nous récoltons les premières larves, nymphes et femelles gorgées d'*I. ricinus* alors que le parasite circule dans le sang périphérique. Chez les deux bovins, nous constatons un accès thermique et une parasitémie faible.

¹ Les mesures ont porté sur 10 babésies dans chaque cas.

b) *Transmission de B. berbera par les larves d'I. ricinus:*

Environ 2000 larves d'*I. ricinus*, progéniture de femelles gorgées sur les bovins n° 106 et 107 expérimentalement parasités de *B. berbera*, sont nourries sur le bovin propre n° 108. Nous observons alors une faible parasitémie à *B. berbera* 7 à 11 jours

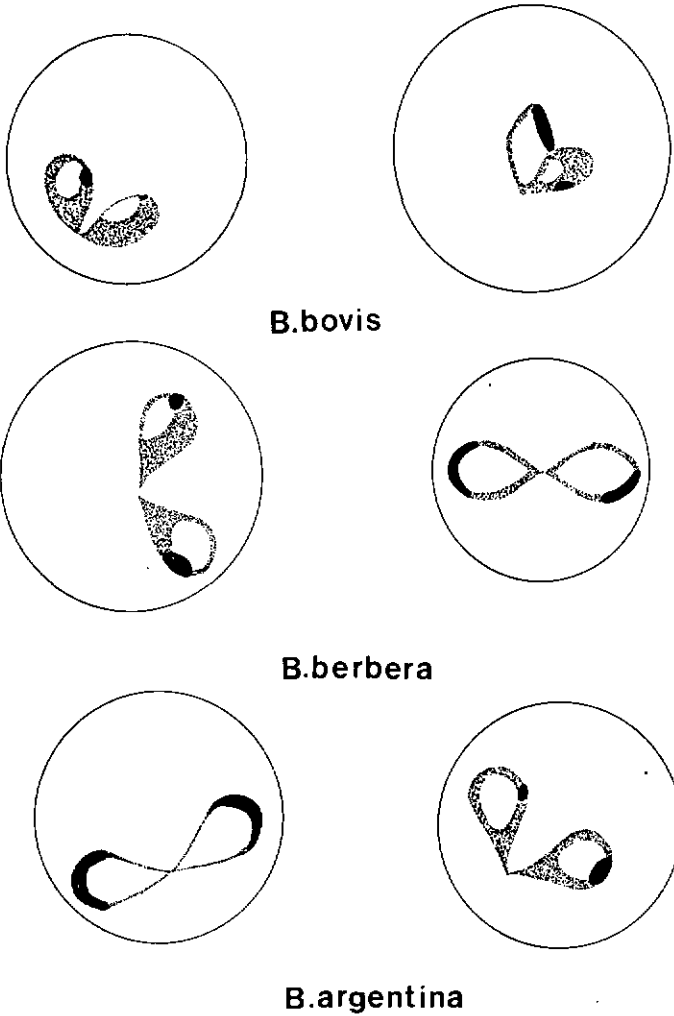


FIG. 5.

Morphologie comparée de *B. bovis* avec *B. berbera* et *B. argentina*.

Les formes en division ont été représentées parce que seules fixées dans leur dimension.

après le début de la nutrition des tiques et un accès thermique chez cet animal. Ainsi, les larves d'*I. ricinus* transmettent *B. berbera* aux bovins, après avoir été elles-mêmes infectées par la voie transovarienne.

c) *Transmission de B. berbera par les nymphes d'I. ricinus*:

Des nymphes d'*I. ricinus* sont mises à se nourrir sur le bovin n° 109. Celles-ci proviennent de larves qui se sont également gorgées sur les bovins n° 106 et 107. Nous récoltons 941 nymphes gorgées.

Nous ne constatons pas d'accès parasitaire ni thermique chez cet animal. Les nymphes ne transmettent pas le piroplasme lors de cette expérience.

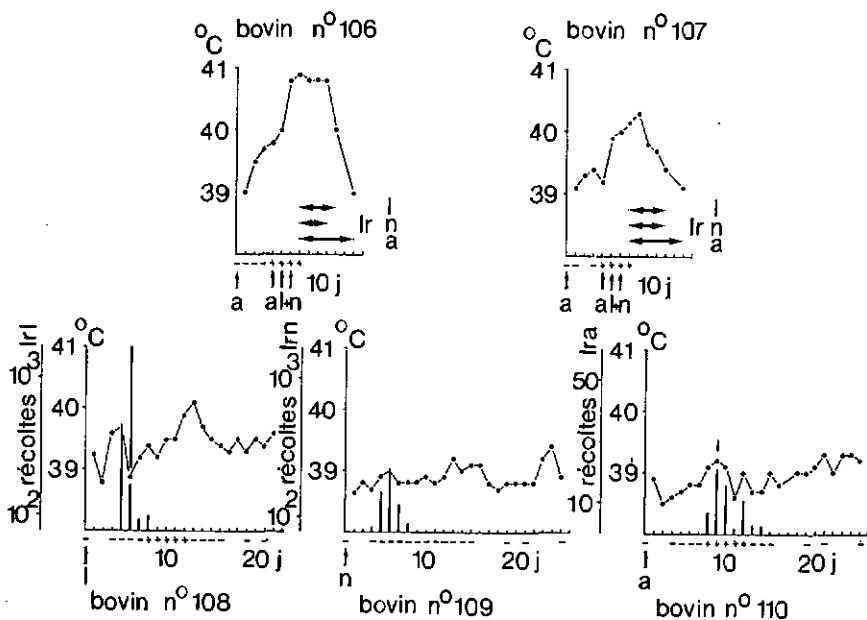


FIG. 6.

I. ricinus, vecteur potentiel de *B. berbera*.

Ir = *I. ricinus* (l = larves, n = nymphes, a = adultes)

↑ = infestation par *I. ricinus*

↔ = période de récolte d'*I. ricinus* gorgées

+ = présence de babesies

- = absence de babesies

d) *Transmission de B. berbera par les adultes d'I. ricinus*:

Nous infestons le bovin n° 110 par des adultes d'*I. ricinus*, issus de nymphes gorgées sur les bovins malades n° 106 et 107. Nous récoltons 74 femelles gorgées. L'essai de transmission de *B. berbera* est réussi car une faible parasitémie est décelée chez ce bovin 7 à 11 jours après le début de la nutrition des adultes.

4.3. *I. ricinus*, vecteur potentiel de *B. argentina* (fig. 7).

a) *Infection expérimentale d'I. ricinus par B. argentina* :

Les veaux n°s 111 et 112 sont infestés par des larves de *B. microplus*, porteuses de *B. argentina*. Les 2 bovins contractent la maladie. En effet, nous observons un accès

thermique et parasitaire à *B. argentina*. Dès la détection du parasite, c'est-à-dire 11 ou 13 jours après l'infection des bovins, les 3 stades d'*I. ricinus* propres sont mis à gorgier sur les 2 animaux. Pour une raison inconnue, les larves de cette tique ne se gorgent pas normalement lors de cet essai. Ainsi la tentative de transmission de *B. argentina* ne sera pas possible avec les nymphes de l'Ixodide.

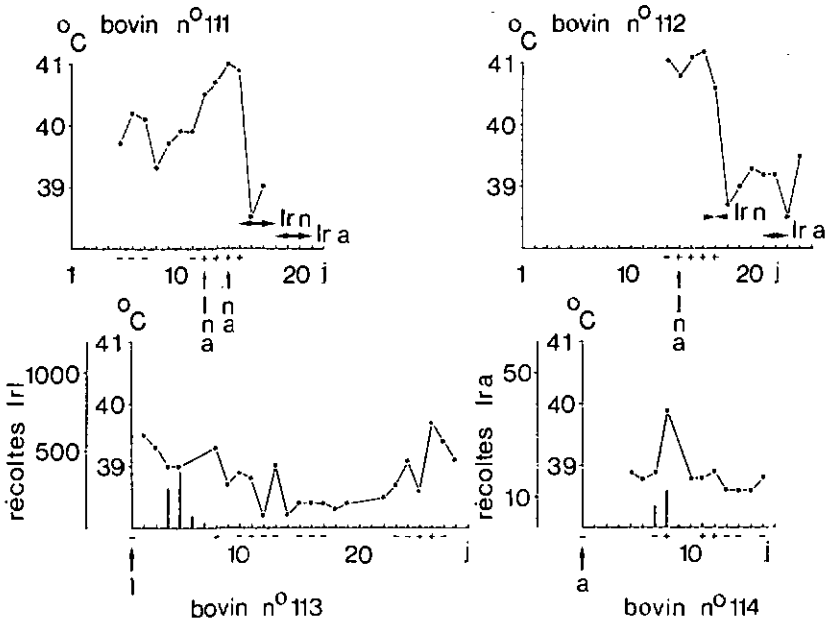


FIG. 7.

I. ricinus, vecteur potentiel de *B. argentina*.

L'état de santé alarmant des 2 bovins n°s 111 et 112

nécessita à chacun une injection IM de Bérénil (3 à 4 mg/kg) aux jours 15 et 17 respectivement.

La guérison intervint très rapidement.

Ir = *I. ricinus* (l = larves, n = nymphes, a = adultes)

↑ = infestation par *I. ricinus*

↔ = période de récolte d'*I. ricinus* gorgés

+ = présence de babesies

- = absence de babesies

b) *Transmission de B. argentina par les larves d'I. ricinus* :

Le bovin n° 113 est infesté par des larves d'*I. ricinus*, progéniture de femelles gorgées sur les bovins n°s 111 et 112 expérimentalement parasités de *B. argentina*. Nous observons un accès parasitaire faible et de courte durée, accompagné d'un accès thermique. La babesie a donc été transmise par voie transovarienne et les larves se sont révélées infectieuses.

c) *Transmission de B. argentina par les adultes d'I. ricinus* :

Le bovin n° 114 est infesté par les adultes d'*I. ricinus*. Ceux-ci proviennent de nymphes nourries sur les bovins n°s 111 et 112. Nous récoltons 20 femelles gorgées.

Une faible parasitémie et un accès thermique se déclarent chez le bovin n° 114, 7 jours après le début de la nutrition des tiques. L'essai de transmission par les adultes est donc également réussi.

DISCUSSION

1. La piroplasmose dans la Basse Vallée du Rhône

B. bovis est l'agent de la piroplasmose bovine de la Plaine du Rhône, où la maladie évolue en général sans hémoglobinurie. Ce petit piroplasma fut découvert pour la première fois par BABES en 1888. Les parasites endoérythrocytaires (voir les illustrations de BABES, 1889 et de SIMITCH et al., 1955) sont rares dans le sang cardiaque et nombreux dans le rein et la rate. Le parasite décrit par ces auteurs est comparable, notamment par ses dimensions et par sa situation endoglobulaire, à celui de la Plaine du Rhône.

B. divergens, dépisté dans le Jura (AESCHLIMANN et al., 1976; QUENET, thèse en préparation), au Tessin et dans le Val Mesolcina (BROSSARD et AESCHLIMANN, 1975) se différencie surtout de *B. bovis* par la présence de formes en division coiffant le pourtour des hématies. La parasitémie — parfois élevée — s'accompagne alors de troubles organiques plus graves que ceux observés dans la Plaine du Rhône; l'hémoglobinurie s'observe dans plusieurs cas.

B. major, observé au Tessin, se distingue facilement des petites formes rencontrées dans notre pays par ses grandes dimensions (AESCHLIMANN et al., 1976). Ni *B. divergens*, ni *B. major* n'ont été constatés dans la Vallée du Rhône ces dernières années.

La piroplasmose bovine sévit périodiquement dans cette région. De 1969 à 1973, nous avons dénombré 12 cas au printemps avec diagnostics parasitologiques certains. Chez 5 autres animaux malades, l'affection fut soupçonnée, mais sans examen de frottis sanguins. Durant l'automne des années 1969 à 1972, nous avons observé un regain de la maladie: 8 cas furent diagnostiqués cliniquement et microscopiquement. La périodicité bisannuelle de cette maladie coïncide avec les 2 pics d'activité des tiques *I. ricinus* (MERMEO et al., 1973). En effet, l'exophilie de cette espèce est particulièrement marquée au printemps et en automne. En plein été et en hiver, les conditions extérieures d'humidité et de température ne lui convenant plus, *I. ricinus* devient plutôt endophile et vit alors sous les feuilles, dans la couche d'humus ou dans les anfractuosités du sol (AESCHLIMANN, 1972). Pourtant, durant l'hiver, un cas de piroplasmose fut constaté à l'étable chez un bovin de La Rasse. En fait, il s'agirait plutôt de la rechute d'un animal « prémuni ». La « prémunition », due à la persistance dans l'organisme de babésies résultant d'un accès passé, aurait été interrompue pour une raison inconnue favorisant ainsi la multiplication des protozoaires.

Seuls les Ixodidae sont connus comme vecteurs des piroplasmes (NEITZ, 1956). Nous avons démontré qu'*I. ricinus*, la tique la plus répandue en Suisse, est le vecteur de *B. bovis* dans la Vallée du Rhône. Dans cette contrée, la survie de cette tique est possible dans de nombreux biotopes. Cependant les foyers de piroplasmose semblent très localisés. Ainsi, les divers stades évolutifs d'*I. ricinus* capturés dans des biotopes non fréquentés par le bétail, n'ont pas transmis le piroplasma. Même dans le pâturage à piroplasmose endémique de La Rasse, toutes les tiques ne sont pas porteuses de *B. bovis*. Seul 1 bovin sur 3, expérimentalement infesté par divers lots d'*I. ricinus* capturés dans ce pâturage, montra des parasites endoérythrocytaires. SUOACHENKOV (1941) fit une observation analogue en URSS. Selon cet auteur, toutes les tiques ne s'infectent pas au cours de leur nutrition sur les hôtes porteurs de babésies. D'autre part, les

tiques de tous stades se déplacent peu, ce qui rend aussi compte de l'extrême localisation des foyers de piroplasmose.

La maladie est inexistante en montagne, sur les alpages en dessus de la Vallée (en-dessus de 1000 m environ). *I. ricinus* y est d'ailleurs rare, voire absent. En effet, les populations de cet Ixodide s'amenuisent avec l'altitude (AESCHLIMANN, 1972).

AESCHLIMANN et al. (en préparation) ont capturé 2 autres espèces de tiques exophiles, vecteurs potentiels de babésies, au sud du Bois Noir, soit: *Dermacentor marginatus* (Sulzer, 1776) et *Haemaphysalis punctata* (Koch, 1844). Jusqu'à présent, leur établissement dans la région semble exceptionnel; ces espèces ne furent découvertes que dans 2 biotopes très particuliers. Il s'agit de 2 carrières désaffectées, très ensoleillées et envahies par la végétation. L'isolement extrême de ces espèces exclut leur contact avec les bovins. Ainsi ne peuvent-elles vraisemblablement pas transmettre le piroplasma au bétail de cette région.

Le vecteur de *B. bavis* étant défini avec certitude, nous proposons maintenant quelques mesures prophylactiques simples contre la babésiose:

1) La clôture des haies, bosquets et forêts inclus dans les pâturages diminuera l'infestation des bovins par *I. ricinus* et, par conséquent, la transmission de la maladie.

2) Dans le même ordre d'idées, le débroussaillage des pâturages détruira des biotopes favorables à *I. ricinus*.

3) L'infestation des bovins pourra être amenuee et régulièrement contrôlée par des traitements répétés avec des acaricides (spray). Ce procédé s'est montré efficace au Tessin sur un alpage de la Cima di Medeglia, réputé endémique à piroplasmose (BROSARD et AESCHLIMANN, 1975).

4) Les bovins élevés dès leur naissance dans une zone endémique paraissent plus résistants à la piroplasmose que les animaux adultes importés de régions indemnes de la maladie. Par conséquent, de tels importations sont à déconseiller.

2. Comparaison de *B. bovis*, *B. berbera* et *B. argentina*

I. ricinus, espèce très répandue dans le nord de la zone paléarctique, est vecteur de plusieurs piroplasmes. Elle transmet *B. bovis*, notamment dans la Basse Vallée du Rhône. En Grande-Bretagne, JODYNER et al. (1963) démontrèrent la transmission expérimentale de *B. divergens* par cette espèce.

I. ricinus est aussi signalé dans les régions circuméditerranéennes, en Algérie et en Tunisie par exemple (POMERANTZEV, 1950). La piroplasmose à *B. berbera* est connue dans ces contrées où les vecteurs habituels sont *B. annulatus* et *R. bursa* (SERGENT et al., 1945). Dans nos expériences, *I. ricinus* a transmis *B. berbera* et, par conséquent, cette espèce pourrait aussi être vecteur naturel de la babésiose dans le sud de la zone paléarctique. Nous observons le passage transovarien du protozoaire aux larves de cette tique. Les nymphes peuvent également s'infecter et les femelles issues de leur mue transmettent alors le piroplasma.

Au laboratoire, *I. ricinus* transmet également *B. argentina*. Les larves, infectées par voie transovarienne, et les adultes, issus des nymphes nourries sur des bovins atteints de cette babésiose, infectent des ruminants indemnes de la maladie. Ce résultat peut paraître étonnant. En effet, l'aire de répartition d'*I. ricinus* et celle de *B. argentinu* ne coïncident pas. En Australie et en Argentine, le parasite hématozoaire est naturellement transmis par *B. microplus*. Ainsi cette espèce monophasique assure obligatoirement

la propagation de la maladie par le biais de la transmission transovarienne (LIGNIÈRES, 1903).

Nous avons rappelé la très proche parenté morphologique de *B. berbera* et de *B. argentina*, comme l'ont fait d'ailleurs SERGENT et al. (1945), puis ARTHUR (1962). D'autre part, ces 2 petites formes montrent une parenté antigénique (RIEK, 1963). En effet, par le test de fixation du complément, les sérums de bovins parasités par *B. berbera* réagissent fortement avec l'antigène *B. argentina*¹.

B. bovis de la Basse Vallée du Rhône possède des dimensions à peine plus petites que celles de *B. berbera* et de *B. argentina*. SMITICH et NEVENITCH (1953) plaçaient d'ailleurs *B. bovis* et *B. berbera* en synonymie. En outre, RIEK (1967) suggérait de considérer la petite forme australienne de piroplasmose, *B. argentina*, comme une race de *B. bovis*. Quant à WENYON (1926), il classait déjà les 3 petites formes de babésies étudiées dans une même espèce. La réussite des transmissions expérimentales de *B. bovis*, *B. berbera* et *B. argentina* par *I. ricinus* montre une communauté d'exigences biologiques des 3 babésies au niveau du vecteur. Cette observation confirme encore la très proche parenté systématique de ces 3 espèces de babésies.

RÉSUMÉ

1. Dans la Basse Plaine du Rhône en Suisse, les cas de piroplasmose bovine sont assez fréquents, d'une part au printemps ou au début de l'été et, d'autre part en automne. Ils sont surtout localisés dans les environs du défilé de St-Maurice. L'apparition de la maladie coïncide avec les 2 pics d'activité annuelle de la tique *I. ricinus*.
2. Dans cette région, la piroplasmose bovine est due à une petite babésie morphologiquement comparable à *B. bovis* (Babès, 1888). L'évolution de la maladie est rarement grave. Ainsi de 1969 à 1973, nous n'avons pas observé d'hémoglobinurie dans cette région chez aucun des 21 cas de babésiose diagnostiqués sur frottis de sang. Une injection intramusculaire de Bérénil® ou d'Imizol® constituent deux excellentes thérapies.
3. *I. ricinus* est apparemment la seule espèce d'Ixodides parasitant les bovins dans la Basse Plaine du Rhône. Elle colonise les forêts couvrant le flanc des montagnes, les bois de la plaine et les galeries forestières des bords du Rhône. Les pâturages de la plaine — notamment celui d'une exploitation agricole de La Rasse — présentent des biotopes favorables à la survie d'*I. ricinus*. Ce sont des bosquets ou des forêts où s'infestent les bovins. Une épreuve sérologique (immunofluorescence indirecte) a permis de déceler l'infestation passée de ces animaux par les tiques. En effet, des bovins, dont certains avaient souffert de piroplasmose, ont formé des anticorps circulants contre la salive d'*I. ricinus*. Dans cette contrée, *I. ricinus* transmet *B. bovis*. Peu de tiques semblent infectées dans la nature. Après 4 échecs d'isolement du piroplasmose (bovins n^{os} 101 à 104), celui-ci fut réalisé (bovin n^o 105) à partir d'*I. ricinus* originaires d'un pâturage à babésiose endémique.

¹ En comparaison, les antigènes de *B. argentina* (petite babésie) et de *B. bigemina* (grande babésie) sont très différents. En effet, chez des bovins exclusivement parasités par *B. argentina* ou par *B. bigemina*, les anticorps « fixant le complément » réagissent avec l'antigène homologue et très faiblement avec l'antigène hétérologue (MAHONEY, 1962).

4. *B. berbera*, *B. argentina* et *B. bovis*, 3 petites formes de babésies, doivent être considérées comme des races probables d'une même espèce: *B. bovis*, selon la loi de priorité. En effet, les dimensions de *B. bovis* de la Basse Vallée du Rhône ne sont que légèrement inférieures à celles de *B. berbera* (souche israélienne) et de *B. argentina* (souche australienne). De plus, *I. ricinus*, vecteur naturel de *B. bovis*, est un vecteur expérimental des 2 babésies exotiques.

BIBLIOGRAPHIE

- AESCHLIMANN, A. 1972. *Ixodes ricinus*, Linné, 1758 (Ixodoidea; Ixodidae). Essai préliminaire de synthèse sur la biologie de cette espèce en Suisse. *Acta trop.* 29: 321-340.
- AESCHLIMANN, A., M. BROSSARD & G. QUENET. 1976. Contribution à la connaissance des piroplasmés de Suisse. *Acta trop.* 32: 281-289.
- AMBROISE-THOMAS, P. 1969. Etude séro-immunologique de dix parasitoses par les techniques d'immunofluorescence. *Thèse*.
- ARTHUR, D. R. 1962. Ticks and diseases. *Pergamon Press, Oxford, London, New York and Paris*. 445 pp.
- BABES, V. 1888. Sur l'hémoglobinurie bactérienne du bœuf. *C. r. hebd. Séanc. Acad. Sci. Paris*. 107: 692.
- BABES, V. 1889. Die Aetiologie der seuchenhaften Hämoglobinurie des Rindes. *Virchows Arch. path. Anat. Physiol.* 115: 81-108.
- BROSSARO, M. & A. AESCHLIMANN. 1975. Piroplasmoses bovines en Suisse italienne (Remarques sur les infections latentes). *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 117: 287-292.
- GALLI-VALERIO, B. 1901. Über den gegenwärtigen Stand unserer Kenntnisse der Malaria. *Ther. Mh. Vet. Med.* 15: 55-64.
- GALLI-VALERIO, B. 1925a. La piroplasmiose des bovidés dans la plaine du Rhône. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 67: 397-398.
- GALLI-VALERIO, B. 1925b. Piroplasmiose. *Terre vaud.* 17: 356.
- JOYNER, L. P., S. F. M. DAVIES & S. B. KENDALL. 1963. The experimental transmission of *Babesia divergens* by *Ixodes ricinus*. *Expl. Parasit.* 14: 367-373.
- LIGNIÈRES, J. 1903. La piroplasmose bovine. Nouvelles recherches et observations sur la multiplicité des parasites, leur évolution, la transmission naturelle de la maladie et vaccination. *Archs. Parasit.* 7: 398-407.
- MAHONEY, D. F. 1962. Bovine babesiosis: diagnosis of infection by a complement-fixation test. *Aust. vet. J.* 38: 48-52.
- MERMOD, C., A. AESCHLIMANN & J.-F. GRAF. 1973. Ecologie et éthologie d'*Ixodes ricinus* Linné 1758, en Suisse (Acarina, Ixodoidea). Première note: Fluctuations numériques. *Acarologia* 15: 197-205.
- MORISOD, A., M. BROSSARD, C. LAMBERT, H. SUTER & A. AESCHLIMANN. 1972. *Babesia hovis*: transmission par *Ixodes ricinus* (Ixodoidea) dans la plaine du Rhône. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 114: 387-391.¹
- NEITZ, W. O. 1956. Classification, transmission, and biology of piroplasmids of domestic animals. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 64: 56-111.
- POMERANTZEV, B. I. 1950. Ixodid ticks (Ixodidae). *Fauna SSSR, Paukoobraznye*, n.s. (41) 4 (2). 224 pp. (English translation by ELBL, A., edited by ANASTOS, G., *The American Institute of Biological Sciences, Washington, D.C.* 199 pp).
- RIEK, R. F. 1963. Immunity to babesiosis. Immunity to protozoa. *Blackwell Scientific Publications, Oxford*.
- RIEK, R. F. 1967. In general discussion of "Epidemiology of bovine babesiosis in northern Queensland". *Aust. vet. J.* 43: 431.

¹ Une erreur s'étant glissée dans ce travail — forme de division de *B. bovis* de la figure 1 —, une correction fut faite sous forme d'erratum dans le même journal.

- SERGENT, Edm., A. DONATIEN, L. PARROT & F. LESTOQUARD. 1945. Etudes sur les piroplasmoses bovines. *Institut Pasteur d'Algérie, Alger*, 816 pp.
- SIMITCH, T. & V. NEVENITCH. 1953. *Babesiella bovis* (Babès, 1888) et *Babesiella berbera* Sergent, Donatien, Parrot, Plantureux et Rougebief, 1924 sont-ils synonymes? *Archs. Inst. Pasteur Algér.* 31: 91-101.
- SIMITCH, T., Z. PETROVITCH & R. RAKOVEC. 1955. Les espèces de *Babesiella* du bœuf d'Europe. *Archs. Inst. Pasteur Algér.* 33: 310-314.
- SUDACHENKOV, V. V. 1941. Expériences de transmission de la babesiellose bovine, les tiques *I. ricinus* L. et *I. persulcatus*. *P. Sch. Vestn. Sel. Khoz. Nauki. Moskva*, s.g. 2: 75-85. (Abstract *Vet. Bull. Weybridge*. 13: 50.)
- WENYON, C. M. 1926. Protozoology. *William Wood & Co., New York*. 2 vols., 1563 pp.

Adresse de l'auteur :

Institut de Zoologie de l'Université
11, rue Emile-Argand
CH-2000 Neuchâtel
Suisse
