

ANNALES DE PARASITOLOGIE

HUMAINE ET COMPARÉE

Tome 56

1981

N° 1

© Masson, Paris, 1981.

Annales de Parasitologie (Paris)
1981, t. 56, n° 1, pp. 1-8

MÉMOIRES ORIGINAUX

Enquête épidémiologique dans un foyer naturel de Rickettsies à *Ixodes ricinus* du plateau suisse (1)

par O. PETER *, W. BURGDORFER ** et A. AESCHLIMANN *

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

** Epidemiology Branch, Rocky Mountain Laboratories, Hamilton, Montana 59840, U.S.A.

RESUME. Dans une forêt de plaine humide du Plateau suisse, une Rickettsie du groupe de la fièvre pourprée, appelée par commodité « Rickettsie suisse », a été trouvée dans 8,5 % des tiques de l'espèce *Ixodes ricinus*.

L'évolution de ce microorganisme dans les tiques a été étudiée. Quatre cent trente-trois descendants de la première génération, provenant de 17 ♀♀ infectées, ont été testés. Tous les descendants, quel que soit leur stade évolutif (larve, nymphe, adulte), se sont révélés être infectés. La transmission transovarienne et transstadiale a donc eu lieu dans le 100 % des cas.

Cent-soixante-huit micromammifères ont été capturés dans cette même forêt, soit 127 *Clethrionomys glareolus*, 29 *Apodemus sylvaticus* et *flavicolis*, 7 *Microtus agrestis* et 5 *Sorex araneus*. Tous étaient lourdement infestés par les larves d'*I. ricinus* (3 612 larves récoltées). Un échantillonnage de 143 sera, provenant des 5 espèces de micromammifères capturés, ont été testés par microagglutination avec un antigène spécifique anti-« Rickettsie suisse » : 114 d'entre eux (82 %) présentaient des anticorps contre cette Rickettsie.

Epidemiological survey in a natural focus of Rickettsia transmitted by Ixodes ricinus in Switzerland.

SUMMARY. A spotted fever group Rickettsia referred to as « Swiss agent » was detected in 8.5 % of *Ixodes ricinus* collected in a marshy forest of the Swiss plateau.

(1) Ce travail, réalisé avec l'aide du Fonds National Suisse de la Recherche Scientifique (Requête n° 3.305.78), présente des résultats qui feront partie de la thèse du premier des auteurs.

Accepté le 21 juillet 1980.

This organism, in its tick vector, was found to be transmitted stadially as well as ovarially; of 433 larval, nymphal or adult ticks from 17 parental tick females, all were infected.

A total of 3,612 larval I. ricinus were collected from 168 small mammals including 127 Clethrionomys glareolus, 29 Apodemus sylvaticus and flavicolis, 7 Microtus agrestis, and 5 Sorex araneus from the same forest. 143 sera were obtained from these rodents: 114 (82 %) had microagglutinating antibodies to the « Swiss agent ».

I - Introduction

Récemment, à l'instar d'auteurs allemands, autrichiens, tchécoslovaques et français, travaillant chacun dans leur pays respectif (Liebisch, 1976; Liebisch *et al.*, 1978; Kaaserer *et al.*, 1976; Bazlikova *et al.*, 1977; Rehacek *et al.*, 1971, 1977; Gilot, 1975), nous avons pu mettre en évidence la présence en Suisse d'une rickettsie dans la tique *Ixodes ricinus* (Aeschlimann *et al.*, 1979; Burgdorfer *et al.*, 1979). Les premiers essais d'identification montrent que cette « Rickettsie suisse » (= Rs) (2) s'apparente au groupe de la fièvre pourprée. Elle est cependant différente des autres espèces décrites jusqu'à présent en Europe, soit *R. conorii*, *R. sibirica* et *R. slovaca*. Des recherches plus approfondies sont actuellement en cours pour préciser son statut systématique définitif.

La Rs a été isolée pour la première fois au lieu-dit « Staatswald » (coordonnées : 575-576/203-204, carte de Suisse au 1/25 000, feuille Murten n° 1165), une forêt de plaine humide, à sous-bois broussailleux, située dans la région du Grand Marais à environ 15 km au sud-est de Neuchâtel (alt. 433 m). Après avoir contrôlé le taux de tiques infectées, nous avons effectué une étude sérologique pour connaître l'importance de la circulation de cette rickettsie parmi les populations de micromammifères. Ce sont les résultats de cette enquête que nous publions ici.

II - Matériel et méthodes

I - Récolte du matériel.

Les travaux ont été menés durant l'année 1979. D'avril à septembre, les tiques ont été récoltées au « drapeau » dans la forêt du Staatswald, puis placées jusqu'à leur examen dans un bac à température ambiante où l'humidité relative est maintenue à environ 95 %.

De mi-mars à fin septembre, dans cette même forêt, nous avons capturé des micromammifères que nous avons transférés dans de petites cages grillagées, elles-

(2) Dans la littérature anglaise, la Rs est désignée sous le nom de « Swiss agent ».

mêmes enfermées dans des sacs de toile. Les micromammifères sont ainsi gardés pendant 5 à 7 jours. Deux fois par jour, les tiques gorgées sont récoltées au fond des sacs. Toutes les tiques d'un animal sont maintenues séparées dans des tubes jusqu'à la mue. La détermination de l'Arthropode est ainsi plus aisée, de même que la confection des tests pour la présence de rickettsies. D'autre part, des échantillons de sang de chaque micromammifère sont prélevés du sinus orbital.

2 - Travaux de laboratoire.

Toutes les tiques adultes récoltées sur la végétation ont subi le test de l'hémo-lympe (Burgdorfer, 1970). Les frottis sont colorés par la technique de Giménez (1964). Chaque femelle trouvée infectée est nourrie sur un cobaye ou un lapin. Les tiques des deux sexes — les femelles après la ponte seulement — sont ensuite disséquées et des frottis d'hypoderme et de tubes de Malpighi colorés au Giménez ou préparés pour une étude en immunofluorescence (IF). Les nymphes sont écrasées individuellement sur des lames et les frottis colorés au Giménez.

La transmission transovarienne et transstadiale des rickettsies a également été étudiée. Une partie des larves (F₁) provenant de plusieurs femelles positives ont été écrasées individuellement sur des lames et les tissus préparés pour les réactions en IF. Les larves restantes ont été nourries sur des souris blanches.

Pour la transmission transstadiale, on a recherché les rickettsies dans les frottis de tissus de nymphes et d'adultes descendant de femelles infectées. Les lots de nymphes et d'adultes ont été nourris sur le lapin.

Toutes les réactions d'IF directe ont été réalisées avec un conjugué spécifique [immun-sérum de *Microtus pennsylvanicus* anti Rs marqué à l'isothiocyanate de fluoresceine (3)], selon la technique décrite par Burgdorfer et Lackman (1960).

Pour la sérologie, nous avons utilisé le test de microagglutination (Fiset *et al.*, 1969), avec un antigène préparé à partir d'une souche de Rs (3) et un antigène de *Coxiella burnetii* (souche Ohio) (3). Les titres égaux à 1/8, ou plus grands, ont été considérés comme spécifiques.

III - Résultats

Infection des tiques.

Sur un total de 2 217 *Ixodes ricinus* récoltés au « Staatswald » (1 673 adultes et 544 nymphes), 188 présentaient des rickettsies (147 adultes et 41 nymphes), soit 8,5 % (Tableau I). Les transmissions transovarienne et transstadiale ont réussi dans le 100 % des cas. En effet, 433 descendants de 17 femelles infestées ont été testés, soit 191 larves (transmission transovarienne), 113 nymphes et 129 adultes (transmission transstadiale). Tous les descendants examinés étaient infectés (Tableau II).

(3) Préparé au Rocky Mountain Laboratory, Hamilton, U.S.A.

Tableau I. *Présence de la « Rickettsie suisse » dans les tiques I. ricinus capturées sur la végétation*

Adultes : résultats basés sur l'étude des tests d'hémolymphe
Nymphes : résultats basés sur l'étude de frottis de tissus de nymphes

année	Nombre de tiques examinées	Nombre de tiques infestées	%
1978	1324 adultes 520 nymphes	115 adultes 38 nymphes	8,3
1979	349 adultes 24 nymphes	32 adultes 3 nymphes	9,4
Total	2217	188	8,5

Tableau II. *Transmissions transovarienne et transstadiale de la « Rickettsie suisse » par Ixodes ricinus*

Descendance de 17 ♀ ♀ (groupée par lots)	Nombre de descendants examinés et trouvés infestés				
	Transmission transovarienne	Transmission transstadiale (larves → nymphes)	Transmission transstadiale (nymphes → adultes) ♂ ♀		Transmission transovarienne totaux
Lot 1: 4 ♀ ♀ 134 descendants	80/80	54/54	pas étudié		134/134
Lot 2: 5 ♀ ♀ 130 descendants	111/111	19/19	pas étudié		130/130
Lot 3: 2 ♀ ♀ 71 descendants	pas étudié	9/9	21/21	41/41	71/71
Lot 4: 4 ♀ ♀ 41 descendants	pas étudié	27/27	8/8	6/6	41/41
Lot 5: 2 ♀ ♀ 57 descendants	pas étudié	4/4	14/14	39/39	57/57
Totaux : 433 descendants	191/191	113/113	43/43	86/86	433/433

Les micromammifères.

L'ensemble des animaux capturés (168 individus) ont produit 3 612 larves et 77 nymphes gorgées de l'espèce *Ixodes ricinus* (Tableau III) et quelques rares *I. trianguliceps* dont nous ne tiendrons pas compte dans ce travail. Quelques *Sorex araneus*, trouvés morts dans les pièges, ont subi un déparasitage manuel sous la loupe binoculaire. Quant aux autres micromammifères, ils ont libéré naturellement leurs tiques.

Tableau III. Nombre d'immatures d'*I. ricinus* fixés sur différentes espèces de micromammifères

Nombre de micromammifères	Nombre de larves fixées	Nombre de nymphes fixées	Nombre moyen de larves / animal
<i>Clethrionomys glareolus</i> : 127	2792	58	22.0
<i>Apodemus</i> sp. : 29	635	14	22.0
<i>Microtus agrestis</i> : 7	113	5	16.1
<i>Sorex araneus</i> : 5	72	0	14.4
Totaux : 168	3612	77	21.5

Nous avons étudié, dans le détail, le nombre de tiques qui s'étaient nourries sur les campagnols roussâtres (*Clethrionomys glareolus*), en classant les hôtes selon l'âge et le sexe après chaque récolte mensuelle. Les animaux juvéniles ont été séparés des adultes par le critère du poids, la limite ayant été fixée par l'observation à 19 g (Tableau IV).

La technique de microagglutination a révélé que 77 *Cl. glareolus* sur 102 testés (75,5 %))présentaient des anticorps spécifiques contre la *Rs* avec des titres variant de 1/8 à 1/1 024 (Tableau V). Si l'on ne tient compte que des adultes, 52 animaux sur 57 (91,2 %) ont été en contact avec la *Rs*.

Sur 34 *Apodemus sylvaticus* et *flavicolis* récoltés, 30 présentaient des anticorps (88,2 %), avec des titres variant de 1/8 à 1/1 024.

Des anticorps ont également été trouvés dans 6 *Microtus agrestis* et 1 *Sorex araneus*.

Soulignons que sur l'ensemble des micromammifères examinés, seul un *Apodemus sylvaticus* présentait un titre d'anticorps de 1/8 contre *Coxiella burnetii*.

IV - Discussion

Dans la forêt du « Staatswald », le taux d'infection d'*I. ricinus* par la *Rs* varie de 7 à 11 %. Ce chiffre est nettement inférieur à celui trouvé en Bulgarie (Georgieva *et al.*, 1976) où 42 % d'*I. ricinus* étaient infectés par une rickettsie du groupe de la fièvre pourprée. La présence de rickettsies de ce groupe chez *I. ricinus* a par ailleurs été mise en évidence dans plusieurs autres pays d'Europe : France, Allemagne, Autriche, Tchécoslovaquie. La Suisse ne fait donc pas exception.

Burgdorfer et Brinton (1975) ont montré que les transmissions transovarienne et transstadiale ont lieu dans 100 % des cas avec *Dermacentor andersoni* infecté de *R. rickettsii*. Nous avons obtenu les mêmes résultats avec la Rickettsie suisse.

Tableau IV. Nombre d'*I. ricinus* trouvés gorgés sur *Clethrionomys glareolus* et représentation graphique des résultats

(LL : larves ; NN : nymphes ; Nr : nombre de rongeurs ; n : nombre moyen de larves gorgées par rongeur ; nt : nombre moyen d'immatures gorgées par rongeur)

Année 1979	Cl. glareolus ♂		n	Cl. glareolus ♀		n	Cl. glareolus juv.		n	nt
	Nr	LL		Nr	LL		Nr	LL		
mars	4	6	1.5	2	0	0	0	0	0	1
mai	4	48	2	2	68	0	34	0	0	14.5
juin	18	1078	60	19	382	15	20	3	19	32.8
juillet	10	328	32.8	5	129	4	26	2	7.3	18.2
septembre	5	38	7.5	2	56	2	28	1	7.7	10
total	46	1580	34.3	32	640	21	20	6	11.6	22

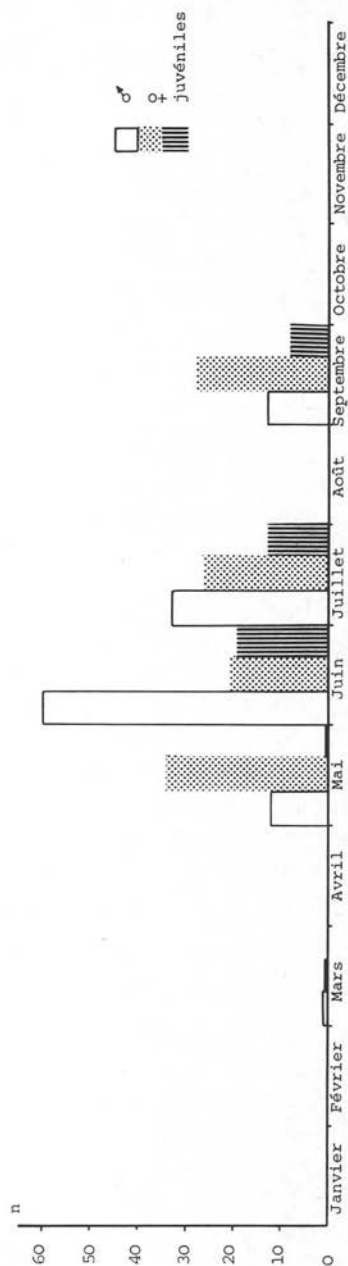


Tableau V. Sérologie des micromammifères (test de microagglutination)

ESPECES	sera testés / sera positifs	%	TITRES				
			1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
<i>Cl. glareolus</i> ♂	34/31	91,2	3	3	1	8	16
	23/21 ¹⁾		0	0	1	2	18
	juv.	45/25	55,5	5	6	4	2
Totaux	102/77	75,5	8	9	6	12	42
<i>Apodemus</i> Sp.	34/30	88,2	1	1	8	7	13
<i>M. agrestis</i>	6/6		0	0	1	0	5
<i>S. araneus</i>	1/1		0	0	0	0	1
Totaux	143/114	79,7	9	10	15	19	61

C'est un fait bien connu que les micromammifères sont, au printemps, lourdement infestés par les larves d'*I. ricinus*. Cette infestation varie au cours de la saison et nos résultats récents avec le campagnol roussâtre (*Cl. glareolus*) coïncident avec ceux obtenus dans la même forêt par Mermod *et al.* (1973). Nous apportons cependant des précisions nouvelles quant au taux d'infestation des divers individus au sein d'une même population. Ainsi, au mois de juin, les campagnols mâles sont 3 fois plus parasités par les larves que les femelles ou les juvéniles. On pourrait supposer que les déplacements des mâles sont plus fréquents et plus étendus que ceux des femelles, par conséquent leurs possibilités d'infestation par les tiques seraient également plus nombreuses. Cette différence de comportement des hôtes pourrait se refléter dans les résultats sérologiques, en ce sens que le nombre de mâles positifs devrait être plus élevé que celui des femelles. Or ce n'est pas le cas. En effet, l'enquête sérologique révèle que 7 semaines après leur naissance, soit après avoir atteint le poids de 19 g, 91,2 % des campagnols des deux sexes ont déjà été en contact avec un nombre suffisant de tiques infectées pour qu'ils présentent des anticorps décelables par microagglutination. Par contre, le 55,5 % seulement des animaux juvéniles présente une sérologie positive. Ces résultats sérologiques n'ont rien d'étonnant si l'on tient compte de l'importance de la population de tiques au « Staatswald », du pourcentage de tiques infectées et du taux d'infestation des micromammifères par les larves. Il est cependant remarquable de constater que les enquêtes sérologiques effectuées sur les populations de micromammifères en Allemagne (Krauss *et al.*, 1977), en Tchécoslovaquie (Rehacek *et al.*, 1972, 1976, 1977) et en Autriche (Kaaserer *et al.*, 1976) révèlent des pourcentages nettement inférieurs (maximum 33 %). Certes la nature du biotope choisi,

mais peut-être aussi l'utilisation par ces auteurs d'un antigène non spécifique (p. ex. préparé avec une autre espèce de rickettsie du groupe de la fièvre pourprée), pourraient expliquer cette différence.

Bibliographie

- Aeschlimann A., Burgdorfer W., Matile H., Péter O., Wyler R.: Aspects nouveaux du rôle de vecteur joué par *Ixodes ricinus* L. en Suisse. *Acta Tropica*, 1979, 36, 181-191.
- Bazlikova M., Kaaserer B., Brezina R., Kovacova E., Kaaserer G.: Isolierungen von Rickettsien der Spotted-Fever-Gruppe (SF-Gruppe) aus *Dermacentor marginatus*-Zecken aus Tirol, Österreich. *Immunität Infektion*, 1977, 5, 167.
- Burgdorfer W.: Hemolymph test. A technique for detection of rickettsia in ticks. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1970, 19, 1010-1014.
- Burgdorfer W., Brinton L. P.: Mechanisms of transovarial infection of Spotted Fever Rickettsiae in ticks. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1975, 266, 61-72.
- Burgdorfer W., Lackman D.: Identification of *Rickettsia rickettsii* in the wood tick, *Dermacentor andersoni*, by means of fluorescent antibody. *J. Inf. Dis.*, 1960, 107, 241-244.
- Burgdorfer W., Aeschlimann A., Péter O., Hayes S. F., Philip R. N.: *Ixodes ricinus*: vector of a hitherto undescribed spotted fever group agent in Switzerland. *Acta Tropica*, 1979, 36, 357-367.
- Fiset P., Ormsbee R. A., Silberman R., Peacock M., Spielman S. H.: A microagglutination technique of detection and measurement of rickettsial antibodies. *Acta virol.*, 1969, 13, 60-66.
- Georgieva G., Serbezov, Alexandrov E.: Investigation on some ixodic ticks for infestation with rickettsiae by means of immunofluorescent hemocytic test. 2. Int. Arbeitskolloquium über « Naturherde von Infektionskrankheiten in Zentraleuropa », ed. W. Sixl und H. Troger, Graz, 1976, 317-322.
- Giménez D. F.: Staining rickettsiae in yolk-sack cultures. *Stain Technol.*, 1964, 39, 135-140.
- Gilot B.: Recherches des rickettsies hébergées par les tiques (Acarie: *Ixodoidea*) du Sud-Est de la France. Premier bilan. Contexte écologique de rencontre avec l'homme. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, 1975, 68, 529-538.
- Kaaserer B., Kaaserer G., Sixl W., Withalm H., Stünzer D.: Serologische Untersuchungen von Wildtieren in der Alpenen Region in Tirol. 2. Int. Arbeitskolloquium über « Naturherde von Infektionskrankheiten in Zentraleuropa », ed. W. Sixl und H. Troger, Graz, 1976, 331-334 ; 399-402.
- Krauss H., Weber A., Schmatz H. D.: Untersuchungen zum Vorkommen von Komplementbindenden Antikörpern gegen Rickettsien bei Haus- und Wildtieren in der Bundesrepublik Deutschland. *Berl. Münch Tierärztl. Wschr.*, 1977, 90, 143-146.
- Liebisch A.: Die Rolle einheimischer Zecken (*Ixodidae*) in der Epidemiologie des Q-Fiebers in Deutschland. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.*, 1976, 83, 274-276.
- Liebisch A., Burgdorfer W., Rahman M. S.: Epidemiologische Untersuchungen an Schafzecken (*Dermacentor marginatus*). *Dtsch. Tierärztl. Wschr.*, 1978, 85, 121-126.
- Mermod Cl., Aeschlimann A., Graf J. F.: Ecologie et éthologie d'*Ixodes ricinus* Linné 1758, en Suisse (*Acarina, Ixodoidea*). I. Fluctuations numériques. *Acarologia*, 1973, 15, 197-205.
- Rehacek J., Brezina R., Zupancicova M., Kovacova E.: Relationship between ticks and rickettsiae of the RMSF group isolated in Slovakia. *Proc. 3rd Int. Cong. Acar.*, 1971, 627-630.
- Rehacek J., Brezina R., Ac P., Zupancicova M., Kovacova E.: Contribution to the natural locality of rickettsiae belonging to the Rocky Mountain spotted fever (RMSF) group in Slovakia. *Folia parasitol.*, 1972, 19, 41-51.
- Rehacek J., Kovacova E., Kovac P.: Rickettsiae belonging to the spotted fever group from ticks in the Tribec mountains. *Folia parasitol.*, 1976, 23, 69-73.
- Rehacek J., Vosta J., Tarasevic I. V., Brezina R., Jablonskaja V. A., Plotnikova L. F., Fetisova N. F., Hanak P.: Rickettsioses studies. 3. Natural foci of rickettsioses in South Bohemia. *Bull. Wild. Hlth. Org.*, 1977, 55, 455-461.