**Zeitschrift:** Acta Tropica

**Herausgeber:** Schweizerisches Tropeninstitut (Basel)

**Band:** 33 (1976)

Heft: 1

**Artikel:** Relations immunologiques entre bovins et tiques, plus particulièrement

entre bovins et "Boophilus microplus"

**Autor:** Brossard, M.

**DOI:** https://doi.org/10.5169/seals-312217

#### Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

#### **Conditions d'utilisation**

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

#### Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

**Download PDF:** 09.12.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

#### Institut de Zoologie de Neuchâtel

# Relations immunologiques entre Bovins et Tiques, plus particulièrement entre Bovins et Boophilus microplus<sup>1</sup>

#### 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'hypersensibilité de la peau, engendré par la fixation, dans ce tissu, d'anticorps «sensibilisants» (RIEK, 1962). En accord avec cette hypothèse, Boese (1974) décela des anticorps homocytotropes chez des lapins résistants à la piqûre d'Haemaphysalis

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> 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 acaricides  $^2$ . Les animaux sont massivement parasités par B. microplus ( $10 \times 20.000$  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  $(14 \times 8000 \text{ larves environ par bovin})$ , 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 triphasique) 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. micro-plus. 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.

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> 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 %)

	B. microplus		R. bursa			A. hebraeum			
	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	<b>↑</b>			<b></b>			4–7		
Postnutrition larvaire (mue)				16–25			14 env.	26	75–80
Prénutrition nymphale							7–21	26	75–80
Repas nymphal	20-30			$\downarrow$			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	<b>\</b>			7–12			9–12		

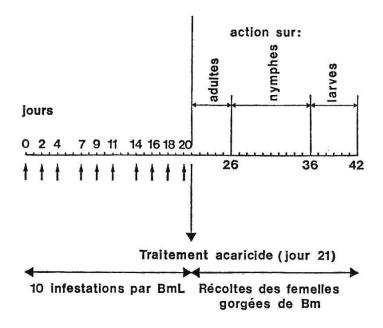


Fig. 1. Infestations de type I et tests acaricides contre B. microplus. Les infestations sont répétées 10 fois (\*) durant 21 jours, durée du cycle de cette espèce monophasique. Après le traitement, la quantité de femelles gorgées récoltées durant les 21 jours suivants permet de mesurer l'action de l'acaricide 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 reçurent chacun une injection sous-cutanée de 100 glandes salivaires de femelles de *B. microplus*, disséquées les 19 et 20e 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, pendant 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 moment<sup>3</sup>. 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 Scheideger (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. micro-plus* sont exprimées en % du nombre total de larves femelles, mises à

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup> Pour les techniques d'immunoélectrophorèse et d'immunisation expérimentale des lapins, les glandes salivaires (antigène) sont aussi prélevées à ce stade d'engorgement.

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%
	7	Contrôle; sans traitement	
4	et	etic or Michiganic III secondifica (contractionalistic) (contractionalistic) (contractionalistic)	_
	8	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%

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

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).

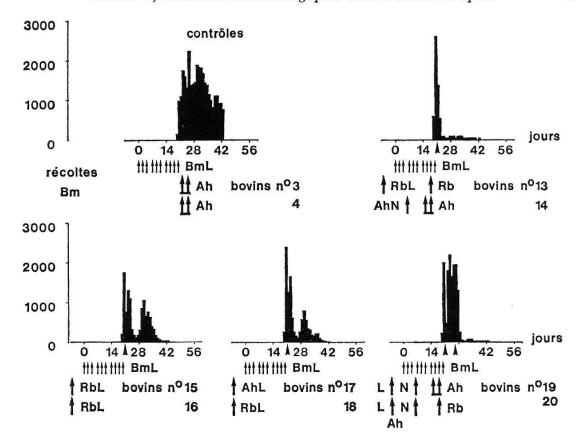


Fig. 2. Récoltes des femelles gorgées de B. microplus après des infestations de type I (Groupe 2-contrôles; groupes 7 à 10, avec traitement; voir Tableau 2). Bm = femelles gorgées de B. microplus.

♦ = 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 (AA) 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			
	g%	g%	α g%	$rac{eta}{f g}\%$	Υ g%	
Jour -7	5,93 ± 0,07	2,44 ± 0,05	1,24 ± 0,03	$0,82 \pm 0,02$	1,41 ± 0,06	
Jour 20	6,23 ± 0,06 **	2,48 ± 0,02	1,19 ± 0,03	$0,77 \pm 0,02$	1,79 ± 0,06 ***	

Le taux des albumines,  $\alpha$ - et  $\beta$ -globulines n'est pas modifié par l'infestation  $^4$ . Par contre, le taux des  $\gamma$ -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.

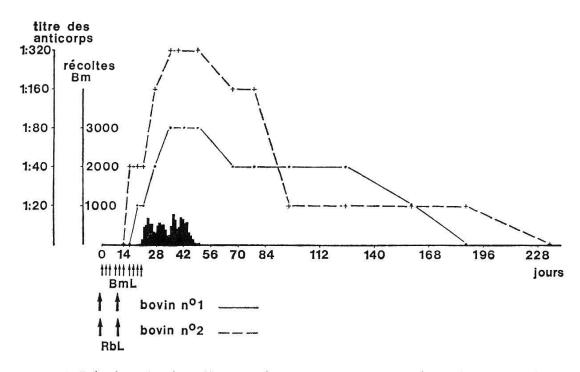


Fig. 3. Récoltes des femelles gorgées de B. microplus et évolution des anticorps circulants révélés par la technique d'immunofluorescence indirecte (bovins Nos 1 et 2).

<sup>&</sup>lt;sup>4</sup> Les évaluations statistiques sont effectuées selon le test de Student.

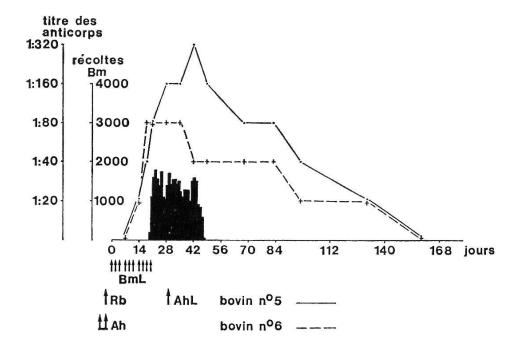


Fig. 4. Récoltes des femelles gorgées de B. microplus et évolution des anticorps circulants révélés par la technique d'immunofluorescence indirecte (bovins Nos 5 et 6).

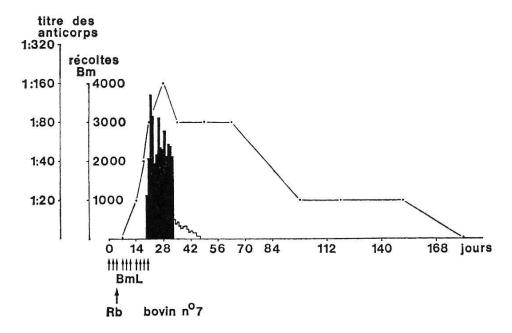


Fig. 5. Récoltes des femelles gorgées de B. microplus sur les bovins Nos 7 et 8 et évolution des anticorps circulants révélés par la technique d'immunofluorescence indirecte (bovin No 7). Pour les raisons indiquées à la page 5, l'évolution du titre des anticorps du bovin No 8 sera représentée séparément 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.

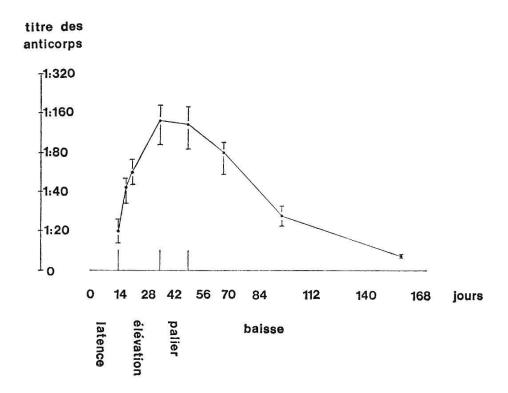


Fig. 6. Evolution moyenne du titre des anticorps circulants chez 5 bovins. Jusqu'au point du jour 49, les sangs ont été prélevés strictement au jour donné. Pour les 3 derniers points, nous avons calculé les moyennes avec les sangs récoltés aux jours 63 à 68, respectivement 92 à 98 et 151 à 159 (voir Figs. 3 à 5).

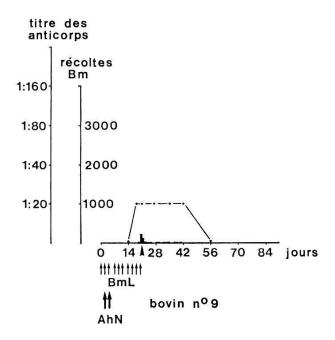


Fig. 7. Récoltes des femelles gorgées de B. microplus et évolution des anticorps circulants révélés par la technique d'immunofluorescence indirecte (bovin No 9). Comme décrit en détail dans le texte, les récoltes Bm ont été faites sur 2 bovins tandis que la courbe des anticorps ne résulte que du bovin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

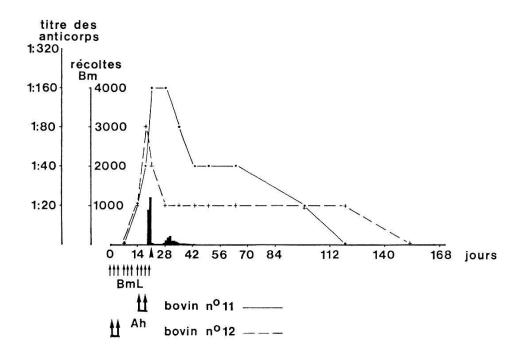


Fig. 8. Récoltes des femelles gorgées de B. microplus et évolution des anticorps circulants révélés par la technique d'immunofluorescence indirecte (bovins Nos 11 et 12).

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 obervé.

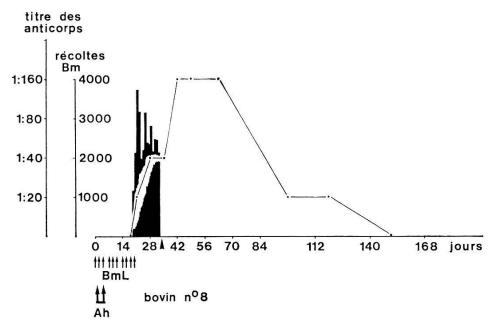


Fig. 9. Récoltes des femelles gorgées de B. microplus et évolution des anticorps circulants révélés par la technique d'immunofluorescence indirecte (bovin No 8). Les récoltes de Bm ont été effectuées sur les bovins Nos 7 et 8 jusqu'au jour 34 de l'essai. A ce jour, l'animal No 8 fut traité par un acaricide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

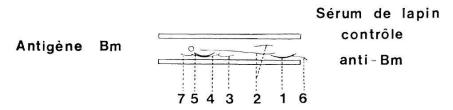


Fig. 10. Illustration de l'essai immunoélectrophorétique utilisé. Anti-Bm = expérimentalement immunisé contre les glandes salivaires des femelles de B. microplus.

# 3.2. Evolution des anticorps révélés par la technique d'immunoélectrophorèse

Remarque préliminaire: Un immunsérum 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)

	Nos. o	des bovin	IS								
	a) Co	ntrôles		b) Traités							
Jours	1	2	5	6	7	8	9	10	11		
-3			0	2							
-1	2	0					2				
0 (Inf.)					2	0		2			
7			2	2	2 2	0		2 2	2		
11	2	2					2				
14	2 2	2 2	2	2	2	2	2 2	2	2		
18	2	0	2	2	2	2	2	2	2		
21	2 2	0	2 2	2 2	2	2	Trait. 2		2 2		
27	1; 2	1; 2					2				
23	3 80		1; 2	2		2		2	2		
			,		(	Γrait.)					
35	1; 2	1; 2	1; 2	2	1; 2	1; 2	2	2			
39	,	1; 2	2	1000 T	-,-		_				
42	1; 2	-, -	1; 2	1; 2	1; 2	1; 2	2	2	2		
49	1; 2	1; 2	0	1; 2	1; 2	2	: <del>-</del>	2			
56	-, -	-, -		-1-	-, -		2	_			
63					1; 2	2	_	2	2		
67	1; 2	1; 2			-, -	-		_			
68	-, -	-, -	2	1; 2							
78	1; 2	1; 2	2	1, 2			2				
83	1, 2	1, 2	2	2			2				
92			2	2			2				
96	1; 2	1; 2					2				
98	1, 2	1, 2			2	2		2	2		
119					2 2	2 2		2 2	2 2		
125	1; 2	2			2	L		2	2		
127	1, 2	2					2				
131			2	2			2				
151			2	2	2	2					
152					2	L			2		
159	2	2	2	2					2		
181	2	2	2	L				2	2		
182					2	0		۷	L		
187	2	2			۷	U	2				
107	2	2					۷				

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.

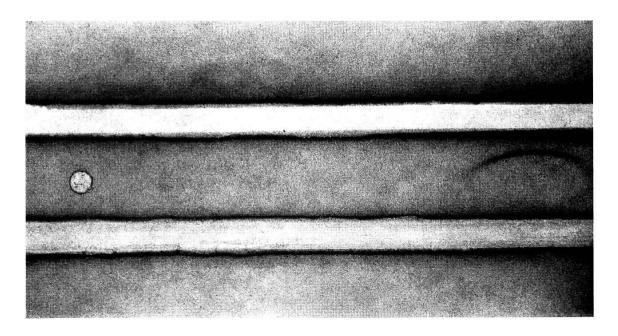


Fig. 11. Précipitine No 1 de bovin. Le principe de la méthode est celui décrit par Grabar et Williams (1953): voir la description exacte dans le texte.

#### 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. 12b)

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.

	A. Infesta type II	tions de	B. Infestations de type III		
Bovins No	21	22	23	24	
Récoltes en % durant 8 semaines	50	51	19	8	
Moyenne	50	),5	13	3,5	
Gain de résistance			37%		

Tableau 5. Résistance, infestations de type II et III

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 92e jour après la première infestation. Nous vérifions encore sa présence le 114e 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

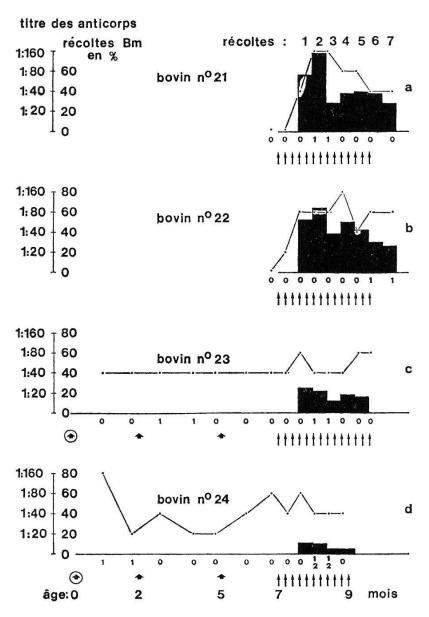


Fig. 12. Infestations de type II et III: Récoltes des femelles gorgées de B. microplus et évolution des anticorps circulants.

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.
- = 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 (1968 a). 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  $\gamma$ -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'immunofluorescence, 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 gênerait 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 cidessus) 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 Immunoelektrophorese) 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

Ambroise-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 leporis-* palustris (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 conjugée 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. J. Parasitol. 54, 667–673.
- Scheideger, 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.
- TRAGER, W. (1939). Acquired immunity to ticks. J. Parasitol. 25, 57-81.