



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Saad Dahleb, Blida
Faculté des Sciences Agronomiques, Vétérinaires et Biologiques
Département de Biologie



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Science de la nature et de la vie

Filière : Biologie

Spécialité : Entomologie médicale

Sous le Thème :

Contribution à l'étude de la sensibilité et de la
résistance des puces *Archaeopsylla erinacei* et
Xenopsylla cheopis aux pyréthriinoïdes de synthèse
(Perméthrine et Deltaméthrine)

Présenté par :

Date de soutenance : 25/12 /2013.

◆ **BENKACIMI Linda.**

Devant le jury :

- Mme. INAL D.

M.A.A. Université de Blida.

Présidente

- Mme. TAIL G.

M.C.A. Université de Blida.

Examinatrice

- Mr. MOHAMED SAID R.

M.A.A. Université de Blida.

Examineur

- Dr. BITAM I.

M.C.A. à l'université de Boumerdes

Promoteur

- Mme. SAIGHI H.

M.A.A. Université de Blida.

Co-Promotrice

- Dr. KERNIF T.

Maitre de recherche à l'IPA

Co-Promoteur

Promotion 2012 / 2013.

Remerciements

A l'issue de ce mémoire je tiens à exprimer mes vifs remerciements tout d'abord à mon promoteur le **Dr. BITAM Idir**, qui m'a accordé sa confiance et grâce à qui j'ai appris énormément de choses. Un scientifique brillant et généreux, des pages entières de remerciements ne suffiraient pas à lui exprimer ma reconnaissance.

Mes sincères remerciements:

A **Mme. SAIGHI H.**, ma co-promotrice, je connaissais l'enseignante sérieuse, professionnelle, compétente et organisée, j'ai découvert une femme au grand cœur d'une immense gentillesse.

A mon co-promoteur **Dr. KERNIF Tahar**, pour tout le mal qu'il s'est donné pour m'aider et m'encourager dans mon travail. Ses conseils et ses directives m'ont beaucoup aidée, que ce soit au laboratoire ou pour la rédaction de ce mémoire. J'ai beaucoup appris à son contact. Je lui exprime ici mon immense reconnaissance.

Je remercie également :

Mme. INAL D. pour m'avoir fait l'honneur de présider le jury de ma soutenance. Une enseignante brillante et d'une grand gentillesse.

Mme. TAIL G. notre chef d'option, pour avoir accepté d'examiner mon travail. Sans son initiative ce Master n'existerait probablement pas.

Mr. MOHAMED SAID R. qui après avoir été mon promoteur pour mon premier mémoire il y a déjà 5 ans, me fait l'honneur d'examiner mon travail aujourd'hui.

Avant d'être des membres de jury ce sont tout d'abord mes enseignants, j'ai énormément de respect pour chacun d'eux.

Je tiens également à remercier **Mme. DJAZOULI Z.** d'avoir accepté mon invitation à rejoindre les membres du jury autant qu'invité d'honneur.

Mes sincères remerciements vont également :

À **Mr. HARRAT Z.** qui m'a accueilli dans son laboratoire pour la réalisation de ce travail. Tous les moyens ont été mis à ma disposition pour réaliser cette étude dans de bonnes conditions.

Mr. DJAZOULI Z. du département d'Agronomie, pour son aide précieuse dans la partie statistique qui a donné une valeur supplémentaire à mon travail. Et qui malgré son emploi

du temps très chargé, a accepté de m'aider et a pris le temps de bien m'expliquer les choses.

Mr. AROUN du département d'Agronomie, pour son aide dans l'interprétation des résultats et la réalisation de la discussion, sa connaissance des insectes m'a beaucoup servie.

Mr. BOUREZGUE Tarik, Directeur-CNS de l'Office National des Statistiques (ONS) pour son aide et ses conseils dans la réalisation de l'étude statistique.

Dr. DRALI Rezak, pour ses conseils, notamment sur la réalisation des tests insecticide, qui m'ont permis de débiter cette étude sur de bonnes bases.

Je remercie également toute l'équipe de l'institut Pasteur d'Alger Annexe d'El Hamma, en particulier le technicien animalier **Mr. AOULMI**, et bien sûr **Mme. NEKHILI Sophie**.

Mr. LAFRI Ismail, pour son aide tout au long de mon Master, notamment pour la documentation.

Mme. ABDICHE H. de m'avoir honorée par sa présence ainsi que pour ses conseils.

Mr. BENDJOUDI D. pour son aide et ses conseils.

Tous mes enseignants en Master, et tous les enseignants de mon cursus, je leur exprime toute mon estime.

Ma profonde reconnaissance :

A **Mlle. BENELDJOUZI Assia**, pour son aide, son amitié sincère et ses précieux conseils non seulement pour le mémoire mais aussi pour tout le reste. Ton aide, tes conseils et ton soutien moral ont toujours été pour moi d'un grand réconfort dans les moments les plus difficiles. Tu resteras toujours pour moi le symbole du courage, de la volonté et de la compréhension. Les mots ne suffisent pas à refléter l'étendue de ma reconnaissance envers toi.

Mes remerciements également :

A ma mère et ma sœur pour toute l'aide qu'elles m'ont apportée.

A tous ceux qui m'ont aidée à faire les captures de rongeurs en premier lieu mon père.

Tous ceux qui ont participé de près ou de loin à l'avancement de ce travail. Sans la contribution de chacun d'eux, ce travail n'aurait pas pu être mené à bien. Soyez-en tous remerciés du fond du cœur.



Dédicaces

*Je dédie ce travail tout d'abord
À mes parents qui m'ont soutenue tout
au long de mes études
À mes sœurs Lamia et Kenga
À toute ma famille
Particulièrement mon adorable Grand-Mère
Mes tantes et mon oncle
Mon adorable petit Culex Tanya et ma petite princesse Anaïs*

*À mon promoteur Dr. Idir Bitam
Ma co-promotrice Mme Saighi H.
Mon co-promoteur Dr. Tahar Kernif.*

À mes amies Djamila, Hassiba, Sihem et Imen.

*À toute la promotion d'Entomologie Médicale
Et tout particulièrement Assia, Amina et Sara
avec lesquelles j'ai tissé des liens d'amitié forts et sincères.*

*À tous ceux et toutes celles qui ont contribué de près
ou de loin à l'avancement de ce travail
ne serait-ce que par des encouragements
ou par des paroles réconfortantes.*

Linda.

Résumé

Les puces sont des insectes aptérygotes. Les adultes ont la faculté de sauter et sont hématophages. Elles sont des parasites obligatoires de mammifères, plus rarement, d'oiseaux, dont certaines espèces peuvent piquer l'homme. La lutte chimique contre les puces est incontournable dans les stratégies de contrôle des maladies animales et humaines qu'elles transmettent. Dans cette étude nous nous sommes focalisés sur deux espèces de puces : *Xenopsylla cheopis* considérée comme le vecteur principal de la peste et *Archaeopsylla erinacei* vecteur de *Rickettsia felis*, agent responsable de la fièvre boutonneuse à puces. Par une série d'expériences en laboratoire nous avons testé sur ces deux espèces en élevage, les effets de deux molécules insecticides, déjà largement utilisées contre les puces et d'autres arthropodes : la Perméthrine et la Deltaméthrine. Les expériences ont consisté dans un premier temps à mettre en contact les puces avec des bandelettes imprégnées de différentes dilutions de Perméthrine (0,2%, 0,4%, 0,8%, 1,6%, 3,2%) ou de Deltaméthrine (0,05%, 0,1%, 0,2%, 0,4%, 0,8%, 1,6%). Les effets de ces molécules (mortalité et effet Knock down) ont été analysés en comparaison avec des lots témoins et en faisant varier différents paramètres : le temps de contact (5 minutes à 1heure), la concentration de l'insecticide, et l'espèce de puces. Dans un deuxième temps ces mêmes puces ont été éloignées des insecticides et mises en observation pendant 24h dans des tubes propres.

L'interprétation des taux de mortalité réelle montre, après 1h d'exposition, une résistance des deux espèces de puces à toutes les dilutions des deux insecticides (avec des taux de mortalité < 7% pour la Perméthrine), excepté la dilution 1,6% de la Deltaméthrine à laquelle elles sont sensibles. L'analyse statistique des résultats a démontré d'une part, qu'il n'y a aucune différence de sensibilité entre les deux espèces testées, d'autre part que la Deltaméthrine semble nettement plus efficace que la Perméthrine mais seule la dilution 1,6% de la Deltaméthrine semble toxique avec des taux de P.R. < 30% à partir de 15min d'exposition. Et ce n'est qu'entre 1h et 24h que les dilutions 1,6% et 3,2% de Perméthrine deviennent toxiques avec des taux de P.R. < 29%. Toutefois, au terme de ces expériences, aucun des deux insecticides aux doses et formulations testées n'a montré d'efficacité satisfaisante qui pourrait être utile en cas d'épidémies. Ces résultats confirment également que l'effet Knock down pouvait être réversible principalement pour la Deltaméthrine.

Mots Clés : Puces adultes, insecticides, Pyréthrinoïdes de synthèse, *Archaeopsylla erinacei*, *Xenopsylla cheopis*, résistance.

Abstract

Fleas are wingless insects. Adults have the ability to jump and are hematophagous. They are obligate parasites of mammals, more rarely, of birds, and some species can bite humans. The chemical fight against fleas is essential in control strategies of animal and human diseases they transmit. In this study we focused on two flea species: *Xenopsylla cheopis* considered as the main vector of plague and *Archaeopsylla erinacei* vector of *Rickettsia felis*, causal agent of flea spotted fever. Through a series of laboratory experiments we tested on both breeding species, the effects of two insecticides molecules, already widely used against fleas and other arthropods: Permethrin and Deltaméthrin. The experiments consisted in the first instance to bringing into contact fleas with strips impregnated with different dilutions of Permethrin (0,2%, 0,4%, 0,8%, 1,6%, 3,2%) or Deltaméthrin (0,05%, 0,1%, 0,2%, 0,4%, 0,8%, 1,6%). The effects of these molecules (Knock down effect and mortality) were analyzed in comparison with control groups and varying different parameters: the contact time (5 minutes to 1 hour), the insecticide concentration, and the fleas' species. In a second instance these fleas were remote from insecticides and placed under observation for 24 hours in clean tubes.

The interpretation of the mortality rates shows after 1h exposure, a resistance of both species of fleas to all dilutions of the two insecticides (with mortality rates <7% permethrin), except the 1.6 % dilution of deltamethrin to which they are sensitive. Statistical analysis of the results showed on the one hand, that there is no difference in sensitivity between the two species tested, other than deltamethrin seems much more effective than perméthrine, but only 1,6% dilution of deltamethrin seems toxic with rates of R.P. <30% starting from 15min of exposure. And it is only between 1 hour and 24 hours that 1.6% and 3.2% dilutions of Permethrin become toxic with rates of PR <29%. However, at the end of these experiments, neither insecticide doses and formulations tested showed any satisfactory efficiency that could be useful in case of epidemics. These results also confirm that the Knock down effect could be reversible mainly for deltamethrin.

Keywords: Adults fleas, insecticides, synthetic pyrethroids, *Archaeopsylla erinacei*, *Xenopsylla cheopis*, resistance.

ملخص

البراغيث هي حشرات بدون أجنحة. البالغة منها لديها القدرة على القفز وهي مصاصة للدماء. هي طفيليات إلزامية تعيش على حساب الحيوانات الثديية، ونادرا الطيور، ويمكن حتى لبعض الأنواع منها لدغ البشر. المكافحة الكيميائية ضد البراغيث هي إستراتيجية أساسية في مكافحة الأمراض الحيوانية والبشرية التي تنقلها. في هذه الدراسة ركزنا على نوعين من البراغيث **كزينوبسيلا كيوبيس** التي تعتبر الناقل الرئيسي للطاعون و **اركايبوسيلا اوريناسي** ناقلات الريكتسية الهريية، التي هي العامل المسبب للحمى البرعمية للبراغيث. من خلال سلسلة من التجارب المعملية اختبرنا على براغيث من كلا النوعين و الفاتحة عن التربية، تأثيرات جريئتين من المبيدات الحشرية، التي استخدمت من قبل على نطاق واسع ضد البراغيث و المفصليات الأخرى: **البيرميثرين و الدلتاميثرين**. قامت التجارب في البداية على إجراء لمس بين البراغيث و الشرائط المشربة بمختلف التخفيفات من البيرميثرين (0.2، 0.4، 0.8، 1.6، 3.2%) أو من الدلتاميثرين (0.05، 0.1، 0.2، 0.4، 0.8، 1.6%). وقد تم تحليل مفعول هذه الجزيئات (مفعول الكنوك داون والوفيات) بالمقارنة مع مجموعات مراقبة، ومن خلال تغيير معايير مختلفة: وقت الاتصال (5 دقائق إلى 1 ساعة)، تركيز المبيدات الحشرية، و أنواع البراغيث. في الخطوة الثانية تم إبعاد هذه البراغيث عن المبيدات الحشرية ووضعها تحت المراقبة لمدة 24 ساعة في أنابيب نظيفة.

تفسير معدل الوفيات الفعلية يبين بعد 1 ساعة من التعرض، مقاومة من طرف هذين النوعين من البراغيث بالنسبة إلى كل التخفيفات للمبيدات الحشرية (مع معدل وفيات >7% بالنسبة إلى البيرميثرين)، باستثناء تخفيف 1.6% من الدلتاميثرين الذي يؤدي إلى حساسية.

و لقد أظهر التحليل الإحصائي للنتائج من جهة، أن ليس هناك أي فرق في الحساسية بين النوعين من البراغيث التي تم اختبارها، و من جهة أخرى أن الدلتاميثرين تبدو أكثر فعالية من البيرميثرين. و لكن، يظهر أن التخفيف 1.6% للدلتاميثرين هو الوحيد الذي يبدو سام مع معدل $PR < 30$ % بدءا من 15 د من التعرض. و لم تصبح التخفيفات 1.6% و 3.2% للبيرميثرين سامة الا بين 1 و 24 ساعة مع معدلات $PR < 29$ %. ومع ذلك، في نهاية هذه التجارب، لم يظهر أي واحد من المبيدات الحشريين، بالجرعات و المستحضرات المختبرة، فعالية مرضية قد تكون مفيدة في حالة الأوبئة. تؤكد أيضا هذه النتائج أن مفعول الكنوك داون يمكن أن يزول خاصة بالنسبة للدلتاميثرين.

الكلمات الرئيسية: البراغيث البالغة، المبيدات الحشرية، البيريثرويد الاصطناعية، **اركايبوسيلا اوريناسي**، **كزينوبسيلا كيوبيس**،

مقاومة

Liste des abréviations

µl : Microlitre.

ANOVA : **A**nalysis **O**f **V**ariance.

ATP : **A**dénosine **T**ri**P**hosphate.

Ca²⁺ : Calcium.

CO₂ : Dioxyde de Carbone.

DDT : **D**ichloro**D**iphényl**T**richloroéthane.

GABA : Acide γ -aminobutyrique (en anglais **G**amma-**A**mino**B**utyric **A**cid).

GLM : **G**eneralized **L**inear **M**odel (Modèle Linéaire Généralisé).

H : Heure.

IGR : **I**nsect **G**rowth **R**egulator (Régulateur de croissance des insects).

IPA : Institut Pasteur d'Algérie.

K.D. : **K**nock **D**own.

K : Potassium.

KDr : **K**nock **D**own **r**esistance.

KOH : Hydroxyde de Potassium.

L1 : Larve de stade 1.

L2 : Larve de stade 2.

L3 : Larve de stade 3.

Mg²⁺ : Magnesium.

mV : Millivolt.

Na : Sodium.

NaOH : Hydroxyde de Sodium.

Nb : Nombre.

NFM : Nombre de **F**ormes **M**obiles.

OMS : **O**rganisation **M**ondiale de la **S**anté.

P.R. : **P**opulation **R**ésiduelle.

PCR : **P**olymerase **C**hain **R**eaction.

R : **R**ésistante.

S : **S**ensible.

T : **T**olérante.

TC : **T**aux de mortalité corrigé.

Liste des figures

Figure 1 ▶ Schéma de la tête et de l'appareil buccal piqueur- suceur de <i>Ctenocephalides sp.</i>	4
Figure 2 ▶ Patte d'une puce.	5
Figure 3 ▶ Morphologie de la puce du chat <i>Ctenocephalides felis</i>	6
Figure 4 ▶ Cycle de développement de la puce <i>C. felis</i>	10
Figure 5 ▶ Expulsion de gouttelettes de sang par <i>C. felis</i>	11
Figure 6 ▶ Déjections de puces.....	11
Figure 7 ▶ Œuf de puce au microscope électronique (taille originale : 0,5 x 0,3 mm).....	12
Figure 8 ▶ Larve stade L3 de <i>C. felis</i>	12
Figure 9 ▶ pièces buccales d'une larve de puce de type broyeur.	12
Figure 10 ▶ Cocons de puce.	13
Figure 11 ▶ Nymphe de puce	14
Figure 12 ▶ Structure des pyréthrates (issus de l'acide pyréthrique).	18
Figure 13 ▶ structure des chrysanthémates (issus de l'acide chrysanthémique).	18
Figure 14 ▶ Structure moléculaire de la Perméthrine.....	20
Figure 15 ▶ Modélisation en trois dimensions de la molécule de Perméthrine.....	20
Figure 16 ▶ Structure de la molécule de Deltaméthrine.....	21
Figure 17 ▶ Modélisation en trois dimensions de la molécule de Deltaméthrine.....	21
Figure 18 ▶ Schéma de la membrane neuronale au repos.....	22
Figure 19 ▶ Schéma de la membrane neuronale : ouverture des canaux à sodium.....	22
Figure 20 ▶ Schéma de la membrane neuronale : ouverture des canaux à potassium.....	23
Figure 21 ▶ Schéma de la membrane neuronale : action des pompes Na/K/ATPases.....	23
Figure 22 ▶ Schéma de la membrane neuronale après rétablissement des concentrations ioniques.	24
Figure 23 ▶ Bocaux d'élevage de puces dans l'insectarium de l'IPA.....	34
Figure 24 ▶ Souris blanche de la souche BALB/c.....	35
Figure 25 ▶ Elevage de souris blanches à l'IPA.....	35
Figure 26 ▶ Lame étiquetée après identification.....	37
Figure 27 ▶ Insectarium (pièce d'élevage des puces) de l'IPA.....	38
Figure 28 ▶ Préparation de la litière.....	39
Figure 29 ▶ Souriceaux nouveaux nés dans un bocal d'élevage de puces.....	40
Figure 30 ▶ Des puces entrain de prendre leur repas sanguin sur des souriceaux.....	40
Figure 31 ▶ Bocal d'élevage de puces.....	41
Figure 32 ▶ Les œufs de puces sous microscope photonique Gr 4 x 10 (Elevage).....	42

Figure 33 ► Larve vermiforme observée au microscope photonique Gr 4 x 10 (Elevage).....	42
Figure 34 ► Cocons contenant des nymphes (Elevage).....	42
Figure 35 ► Puces adultes de la 1 ^{ère} et de la 2 ^{ème} génération (Elevage).....	42
Figure 36 ► Contenu d'un bocal d'élevage versé dans une bassine.....	43
Figure 37 ► Aspirateur à puces (modèle OMS).	43
Figure 38 ► Puces mortes (Elevage)	44
Figure 39 ► Bidon de Perméthrine à 8%.....	45
Figure 40 ► Flacon d'Alphythrine® à 2%.....	45
Figure 41 ► Préparation des dilutions de la perméthrine à 8%.....	46
Figure 42 ► Préparation des dilutions de la Deltaméthrine à 2% (Alphythrine®).....	46
Figure 43 ► Les différentes dilutions de la Perméthrine à 8%.....	47
Figure 44 ► Les différentes dilutions de Deltaméthrine à 2% (Alphythrine®).....	47
Figure 45 ► Préparation et imprégnation des bandelettes de Perméthrine.....	49
Figure 46 ► Préparation et imprégnation des bandelettes de Deltaméthrine.....	49
Figure 47 ► Préparation des spécimens d'épreuve.....	51
Figure 48 ► Récupération des puces pour tester la Perméthrine.....	52
Figure 49 ► Récupération des puces pour tester la Deltaméthrine.....	52
Figure 50 ► Test d'exposition à la perméthrine.....	54
Figure 51 ► Test d'exposition à la Deltaméthrine.....	54
Figure 52 ► Test d'exposition des puces aux insecticides.....	55
Figure 53 ► Test de récupération après exposition des puces aux insecticides.....	56
Figure 54 ► Observation d'une puce paralysée sous loupe Binoculaire Gr x 40.....	56
Figure 55 ► <i>Archaeopsylla erinacei</i> femelle observée sous loupe binoculaire Gr x 40.....	60
Figure 56 ► <i>Xenopsylla cheopis</i> mâle observée sous loupe binoculaire Gr x 40.....	60
Figure 57 ► Evaluation du taux de K.D. de <i>X. cheopis</i> et <i>A. erinacei</i> en fonction du temps d'exposition aux différentes dilutions de Perméthrine.....	61
Figure 58 ► Evaluation du taux de K.D. de <i>X. cheopis</i> et <i>A. erinacei</i> en fonction du temps d'exposition aux différentes dilutions de Deltaméthrine.....	62
Figure 59 ► Evaluation du taux de K.D. corrigé de <i>X. cheopis</i> et <i>A. erinacei</i> en fonction du temps d'exposition aux différentes dilutions de Perméthrine.....	63
Figure 60 ► Evaluation du taux de K.D. corrigé de <i>A. erinacei</i> en fonction du temps d'exposition aux différentes dilutions de Deltaméthrine.	64
Figure 61 ► Evaluation du taux de mortalité réelle de <i>X. cheopis</i> et <i>A. erinacei</i> en fonction du temps d'exposition aux différentes dilutions de Perméthrine.....	65
Figure 62 ► Evaluation du taux de mortalité réelle de <i>X. cheopis</i> et <i>A. erinacei</i> en fonction du temps d'exposition aux différentes dilutions de Deltaméthrine.....	66

Figure 63 ► Evaluation du taux de mortalité réelle corrigé de <i>X. cheopis</i> et <i>A. erinacei</i> en fonction du temps d'exposition aux différentes dilutions de Permethrine.....	68
Figure 64 ► Evaluation du taux de mortalité réelle corrigé de <i>A. erinacei</i> en fonction du temps d'exposition aux différentes dilutions de Deltaméthrine.....	69
Figure 65 ► Evaluation du taux de P.R. de <i>X. cheopis</i> et <i>A. erinacei</i> en fonction du temps d'exposition aux différentes dilutions de Permethrine.....	73
Figure 66 ► Evaluation du taux de P.R. de <i>X. cheopis</i> et <i>A. erinacei</i> en fonction du temps d'exposition aux différentes dilutions de Permethrine.....	74
Figure 67 ► Variabilité temporelle des populations résiduelles des puces après application des insecticides.....	75
Figure 68 ► Variabilité des populations résiduelles après application des insecticides en fonction de l'espèce.....	76
Figure 69 ► Variabilité des populations résiduelles en fonction de la molécule insecticide.....	76
Figure 70 ► Variabilité des P.R. en fonction des différentes dilutions des deux insecticides.....	77
Figure 71 ► Variabilité temporelle des populations résiduelles des puces après application des insecticides.....	78
Figure 72 ► Réactions des puces aux différentes dilutions de Permethrine appliquées dans le temps.....	79
Figure 73 ► Réactions des puces aux différentes dilutions de Deltaméthrine appliquées dans le temps.....	81

Liste des tableaux

<u>Tableau I</u> ► Les maladies humaines transmises par les puces.....	16
<u>Tableau II</u> ► Classement de quelques pyréthrine.....	19
<u>Tableau III</u> ► Interprétation des résultats liés au taux de K.D. après 1h d'exposition et 24h de récupération.....	70
<u>Tableau IV</u> ► Interprétation des résultats liés au taux de mortalité réelle après 1h d'exposition et 24h de récupération.....	71

Liste des annexes

- ▶ Identification des puces.....**Annexe 1**
- ▶ Les puces retrouvées en Algérie.....**Annexe 2**
- ▶ Cycle de la peste.....**Annexe 3**
- ▶ Répartition géographique de la peste dans le monde, 1989–2003.....**Annexe 4A**
- ▶ Distribution géographique de *Rickettsia felis* détectée dans des puces, et des cas rapportés de fièvre boutonneuse à puces.....**Annexe 4B**
- ▶ Répartition géographique du Typhus murin (*Rickettsia typhi*).....**Annexe 4C**
- ▶ Répartition géographique des cas de peste en 2003 dans la région sanitaire Ouest de l'Algérie.
.....**Annexe 5A**
- ▶ Répartition géographique des cas de peste dans la wilaya d'Oran en Algérie en 2003.
.....**Annexe 5B**
- ▶ Matériel non biologique.....**Annexe 6**
- ▶ Eclaircissement et montage des puces.....**Annexe 7A**
- ▶ Préparation des dilutions.....**Annexe 7B**
- ▶ Stérilisation des tubes.....**Annexe 7C**

Glossaire

- **Anthropozoonose** : C'est une maladie ou infection qui se transmet naturellement des animaux vertébrés à l'être humain.
- **Apodes** : Décrit un organisme qui n'a pas de pieds ou de pattes.
- **Aptérygotes (Aptère)** : Ce sont les insectes qui ne possèdent pas d'ailes.
- **Blocage proventriculaire** : Présence de sang frais en amont du proventricule, à distance d'un repas de sang chez les puces.
- **Décubitus latéral** : Décrit un corps allongé et tourné sur le côté.
- **Détritivore** : Se nourrit de détritus.
- **Ectoparasite** : C'est un parasite externe, c'est-à-dire un parasite qui vit sur la surface corporelle d'un être vivant.
- **Endocardite** : C'est une inflammation de l'endocarde (structures et enveloppe interne du cœur, incluant les valves cardiaques).
- **Exanthème fébrile** : Il est défini par une éruption cutanée érythémateuse diffuse survenant en climat fébrile.
- **Sporadique** : Qui se produit rarement et plus ou moins isolément.
- **Géotropisme positif** : Se dit d'un organisme qui s'enfonce dans le sol,
- **Hématophage** : Qui se nourrit de sang.
- **Holométaboles** : À métamorphose complète, la morphologie, la physiologie et le mode de vie des larves diffèrent fortement de ceux des adultes.
- **Hygrophile** : Ce dit des organismes qui ont besoin d'une forte humidité pour leur développement.
- **Larvicide** : Qui tue les larves.
- **Ovicide** : Qui détruit les œufs.
- **Phototactisme négatif** : Décrit un organisme qui fuit la lumière.
- **Sclérites** : Ce sont les plaques de chitine formant l'exosquelette des arthropodes.
- **Solénophages** : Arthropodes qui puisent le sang directement dans un capillaire sanguin grâce à leurs pièces buccales en forme de stylet.
- **Sternite** : Élément (arceau) ventral des segments abdominaux des insectes.
- **Synanthropique** : Qui vit en étroite association avec les humains.
- **Tergite** : Élément (arceau) dorsal des segments abdominaux des insectes.
- **Transmission transovarienne** : Qui se transmet de la mère à sa descendance.
- **Ubiquitaire** : Présent dans toutes les parties du monde.
- **Vecteur** : C'est un organisme qui ne provoque pas lui-même une maladie mais qui disperse l'infection en transportant les agents pathogènes d'un hôte à l'autre.

Sommaire

Introduction.....	1
-------------------	---

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I-1. Généralités sur les puces et les maladies transmises à l'homme.....	3
I-1-1. Morphologie des puces.....	3
I-1-1-1. Morphologie externe	3
I-1-1-2. Morphologie interne.....	6
I-1-2. Systématique.....	8
I-1-2-1. Les principales espèces synanthropiques.....	8
I-1-3. Biologie et conditions environnementales des puces.....	9
I-1-3-1. Conditions climatiques et environnementales.....	9
I-1-3-2. Cycle de développement.....	10
I-1-3-3. Les puces en Algérie.....	14
I-1-4. Les maladies humaines transmises par les puces.....	15
I-1-4-1. Rôle pathogène direct.....	15
I-1-4-2. Rôle pathogène indirect.....	15
I-2. Stratégies de lutte contre les puces et l'utilisation des insecticides...17	
I-2-1. La lutte chimique.....	17
I-2-1-1. Les pyréthrinés et les pyréthrinoïdes.....	17
I-2-1-2. Les autres insecticides utilisés dans la lutte contre les puces	26
I-2-1-3. Formes galéniques	27
I-2-1-4. Modes d'action des insecticides	28
I-2-2. Autres moyens de lutte contre les puces.....	29
I-2-2-1. Lutte mécanique	29
I-2-2-2. La lutte écologique	29
I-3. Les phénomènes de résistance aux insecticides.....	30
I-3-1. Définition	30
I-3-2. Les différents types de résistance.....	30
I-3-2-1. La résistance simple	30
I-3-2-2. La résistance de famille	30

I-3-2-3. La résistance croisée	31
I-3-2-4. La résistance multiple	31
I-3-3. Nature de la résistance	31
I-3-3-1. Résistance comportementale	31
I-3-3-2. La résistance morphologique	31
I-3-3-3. Résistance physiologique ou métabolique	31

Chapitre II : Matériel et méthodes.

II-1. MATERIEL.....	33
II-1-1. Matériel biologique.....	33
II-1-2. Matériel non biologique.....	35
II-2. METHODES.....	35
II-2-1. Identification des puces et réalisation de lames de références.....	35
II-2-1-1. Principe	35
II-2-1-2. Eclaircissement.....	36
II-2-1-3. Montage au baume de Canada.....	36
II-2-1-4. Observation et identification morphologique des puces.....	36
II-2-2. Elevage et entretien des puces	37
II-2-2-1. Les locaux d'élevage	38
II-2-2-2. Mise en place de l'élevage.....	39
II-2-2-3. Entretien de l'élevage	41
II-2-3. Réalisation des tests insecticides.....	44
II-2-3-1. Principe	44
II-2-3-2. Préparation des dilutions	45
II-2-3-3. Imprégnation des bandelettes	47
II-2-3-4. Récupération des puces	50
II-2-3-5. Les tests insecticides	53
II-2-4. Exploitation des résultats	57
II-2-4-1. Estimation de la mortalité corrigée.....	57
II-2-4-2. Estimation de la toxicité des traitements.....	57
II-2-4-3. Analyse statistique des résultats (SYSTAT vers.7, SPSS 2009)	58

Chapitre III : Résultats et discussion

III-1. Résultats.....	59
-----------------------	----

III-1-1. Identification des puces.....	59
III-1-2. Effet Knock Down «K.D.».....	60
III-1-2-1. Effet Knock Down « K.D. » sur les puces en fonction du temps d'exposition aux différentes dilutions des insecticides testés.....	60
III-1-2-2. Effet Knock Down « K.D. » corrigé sur les puces en fonction du temps d'exposition aux différentes dilutions des insecticides testés.....	63
III-1-3. Taux de mortalité réelle.....	65
III-1-3-1. Taux de mortalité réelle des puces en fonction du temps d'exposition aux différentes dilutions d'insecticides testés.....	65
III-1-3-2. Taux de mortalité réelle corrigé des puces en fonction du temps d'exposition aux différentes dilutions d'insecticides testés.....	67
III-1-4. Estimation de la sensibilité des puces aux insecticides testés.....	69
III-1-5. Toxicité des insecticides.....	73
III-1-5-1. Le test de DUNNETT.....	73
III-1-5-2. Analyses de variance (SYSTAT vers.7, SPSS 2009).....	75
III-2. Discussion.....	82
III-2-1. Choix de la gamme de dilution et des manipulations des puces.....	82
III-2-2. Exposition des puces aux insecticides.....	83
III-2-2-1. Comportement des puces exposées aux insecticides.....	83
III-2-2-2. Taux de mortalité.....	83
III-2-2-3. Dissipation de l'effet K.D.....	85
III-2-3. Estimation de la sensibilité des puces aux différentes dilutions des insecticides testés.....	86
III-2-4. Effet toxique des insecticides.....	87
III-2-4-1. L'estimation du taux de population résiduelle (P.R.).....	87
III-2-4-2. L'analyse de variance.....	88
Perspectives.....	90
Conclusion.....	91
Références bibliographiques	
Annexes	

Introduction

Les puces sont des insectes hématophages, ectoparasites de mammifères, plus rarement d'oiseaux, et dont certaines espèces peuvent piquer l'homme. L'importance des puces en santé publique humaine est surtout liée à leur capacité de transmission d'agents de maladies infectieuses au cours du repas sanguin. La peste est la plus connue et la plus redoutée, mais les puces sont également associées à d'autres maladies comme le typhus murin, la rickettsiose boutonneuse à puce ou les bartonelloses comme la maladie des griffes du chat (**Duchemin et al., 2006**).

La peste est considérée comme une maladie ré-émergente dans le monde, comme cela a été récemment le cas à Oran en Algérie (**Razik et al., 2005 ; Duchemin et al., 2006 ; Bitam et al., 2010** (a)). Ces flambées récentes ont démontré que la peste pouvait réapparaître dans des zones demeurées longtemps silencieuses (**Razik et al., 2005**). De plus, au cours des dernières années, on assiste également à l'émergence de l'agent de la fièvre boutonneuse à puce, *Rickettsia felis* qui peut être retrouvé dans le monde entier (**Bitam et al., 2010** (b)).

Le seul moyen de se prémunir de ces maladies reste donc la prévention par protection antivectorielle (**Bitam et al., 2010** (b)) qui dans ce cas est représentée par la lutte contre les puces, en utilisant différents moyens. Toutefois, il est connu depuis longtemps que l'usage des insecticides est la méthode la plus efficace et économique pouvant permettre de détruire les puces. C'est la raison pour laquelle les produits de synthèse ont connu un essor dans cette méthode avec l'utilisation successive des: organochlorés, organophosphorés, carbamates puis des pyréthrinoïdes de synthèse (**Dao, 1991**).

L'utilisation des trois premières familles d'insecticides a connu certes des succès remarquables et incontestables mais s'est heurtée à deux sortes d'obstacles, d'une part la résistance des parasites s'est développée et d'autre part, l'opinion publique leur reproche de contribuer à la pollution du milieu. De nombreux produits ont d'ailleurs été interdits, notamment le DDT et le Lindane (**Dao, 1991 ; Petit, 2002 ; Ehrhardt, 2006**).

Face à ces problèmes, il était devenu impératif, d'envisager l'emploi de nouvelles molécules efficaces de toxicité faible à nulle comme la Permethrine et la Deltaméthrine des pyréthrinoïdes de synthèse (**Dao, 1991**).

Nous nous sommes donc intéressés ici à l'un des aspects de la lutte contre les puces qui est la lutte chimique, en évaluant l'activité de deux insecticides : la Deltaméthrine et la Perméthrine, déjà largement utilisés, et connus pour être efficaces non seulement contre les puces mais aussi dans la lutte contre d'autres arthropodes. Cependant, l'absence de surveillance en Algérie et l'apparition de résistance aux pyréthrinoïdes de synthèse chez de nombreux insectes dans différentes régions du monde, nous ont conduit à nous interroger : D'une part sur le niveau et l'évolution de la sensibilité des puces vectrices de peste et de typhus (*Xenopsylla cheopis*) et de rickettsioses (*Archaeopsylla erinacei*) vis-à-vis de ces insecticides. D'autre part sur la réelle efficacité de ces deux molécules en cas d'épidémie.

Dans la synthèse bibliographique, notre première partie est donc consacrée à une rapide présentation des puces et les maladies humaines auxquelles elles sont liées. Dans une seconde partie nous nous intéresserons à la place de la lutte chimique par l'utilisation des pyréthrinoïdes de synthèse, parmi les stratégies de lutttes existantes contre les puces, avant de consacrer un deuxième chapitre à l'étude expérimentale proprement dite, comparant en laboratoire les effets respectifs de la Deltaméthrine et de la Perméthrine sur des puces d'élevage appartenant à deux espèces (*Archaeopsylla erinacei* et *Xenopsylla cheopis*), sur les quelles nous avons choisi de focaliser notre étude. Un dernier chapitre sera consacré à la présentation de nos résultats et à l'analyse statistique de leur significativité.

I-1. Généralités sur les puces et les maladies transmises à l'homme :

I-1-1. Morphologie des puces :

I-1-1-1. Morphologie externe :

Les puces (Insecta, Siphonaptera) sont des insectes aptères, de petite taille mesurant généralement entre moins de 1 à 12 mm de longueur (Franc, 1994 ; Duchemin et al., 2006). Chez l'adulte, le corps est fortement sclérifié ou chitinisé, mince et aplati latéralement, arborant une couleur jaune ou brun sombre. Les femelles sont généralement plus grandes que les mâles. Leurs corps et leurs pattes sont couverts de nombreuses soies ou épines orientées vers l'arrière, formant parfois des peignes au niveau de la tête, du thorax ou de l'abdomen (Fig. 3). Ces structures faciliteraient le passage de la puce à travers le pelage, les cheveux ou les plumes des hôtes ainsi que son déplacement sur l'épiderme. Elles leur éviteraient aussi de glisser et les empêcheraient d'être facilement délogées (Franc, 1994 ; Bitar, 1998 ; Moulinier, 2002 ; Duchemin et al., 2006 ; Franc, 2006 ; Simon, 2009 ; Bitam et al., 2010 (b)).

À l'instar de tous les autres insectes, le corps des puces est divisé en trois parties : la tête, le thorax et l'abdomen (Simon, 2009) (Fig. 3).

I-1-1-1-1. La tête :

La tête, arrondie ou anguleuse, est petite, étroitement et directement accolée au thorax, sans rétrécissement cervical, et donc peu mobile. Les antennes sont courtes et repliables, constituées habituellement de trois articles. Elles sont logées dans des fossettes latérales placées en arrière des yeux et sont érectiles chez les mâles de la plupart des espèces, permettant le maintien de la femelle sus-jacente pendant la copulation. Les yeux ou ocelles sont rudimentaires et parfois absents. En revanche, lorsqu'ils sont présents ils sont bien visibles, peu volumineux, et situés en avant de l'antenne. La partie inférieure (zone génale) de la tête porte chez certaines espèces, une puissante formation en larges épines noires : le peigne ou cténidie (Fig. 1). L'existence ou non de ce peigne céphalique (ou peigne génal) constitue un critère de diagnose (Franc, 1994 ; Bitar, 1998 ; Duchemin et al., 2006 ; Simon, 2009 ; Bitam et al., 2010 (b)). La présence d'une grosse soie pré-oculaire et d'une ou plusieurs soies en situation post-céphalique sont des caractéristiques d'espèces (Moulinier, 2002 ; Simon, 2009).

L'appareil buccal de l'adulte est de type piqueur-suceur, il est constitué essentiellement (**Fig. 1**) :

- ✓ d'une paire de stylets perforants : « Maxilles » (ou lacinia) triangulaires à bord denticulé en partie inférieure chez de nombreuses espèces, et portant des palpes maxillaires à quatre articles ;
- ✓ d'un stylet impair, « le labre » (ou l'épipharynx) qui est assez court (**Franc, 1994 ; Duchemin et al., 2006 ; Franc, 2006 ; Simon, 2009**).

En plus de ces trois stylets, l'appareil buccal des puces comprend (**Fig. 1**) :

- ✓ une paire de lames allongées : « les mandibules » ;
- ✓ « un labium » court et rudimentaire portant une paire de « palpes labiaux » à cinq segments très développés. Ils forment une gouttière engainant les divers stylets piqueurs, les protégeant et les maintenant en place au moment de la piqûre (**Franc, 1994 ; Moulinier, 2002 ; Simon, 2009**).

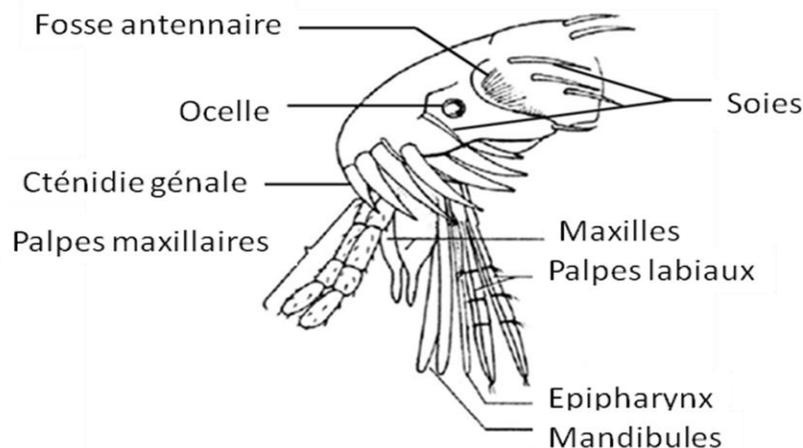


Figure 1 ► Schéma de la tête et de l'appareil buccal piqueur-suceur de *Ctenocephalides sp.*
(Wuest, 2006 ; Simon, 2009)

I-1-1-1-2. Le thorax :

Le thorax est divisé en 3 segments bien différenciés (**Fig. 3**) : le **prothorax**, le **mésothorax** et le **métathorax**.

Avec donc dorsalement pro-, méso- et métanotum individualisés. Il est très fréquent de noter la présence d'un peigne pro-thoracique (cténidie) situé sur le pronotum (plus de 95% des puces dans nos régions en possèdent), ce qui constitue un critère de diagnose. Il est toujours présent chez les espèces pourvues d'un peigne céphalique, mais l'inverse n'est pas la règle. Ventralement, l'attribution des divers sclérites est plus délicate (**Beaucournu et Launay, 1990 ; Franc, 1994 ; Bitar, 1998 ; Duchemin et al., 2006 ; Franc, 2006 ; Simon, 2009 ; Bitam et al., 2010 (b)**).

Chacun des 3 segments thoraciques est pourvu d'un stigmate et d'une paire de pattes dont la morphologie est utilisée dans la diagnose. Chacune d'elles est constituée de cinq segments (**Fig. 2**) : la **hanche (coxa)**, le **trochanter (patelle)**, le **fémur**, le **tibia**, et le **tarse** qui comporte 5 articles, dont le plus distal porte deux puissantes griffes et un bouquet de soies tarsales (**Beaucournu et Launay, 1990 ; Franc, 1994 ; Moulinier, 2002 ; Simon, 2009 ; Bitam et al., 2010 (b)**).

Par ailleurs, les puces adultes (mâles et femelles) ont des pattes postérieures (la troisième paire de pattes) fortement développées, leur permettant de sauter jusqu'à 150 fois leur propre longueur de corps. Ce comportement est possible grâce à une protéine élastomère « la résiline » (**Bitam et al., 2010 (b)**). Cependant, les puces n'utilisent que rarement le saut et se déplacent presque exclusivement en marchant (**Franc, 1994 ; Franc, 2006**).

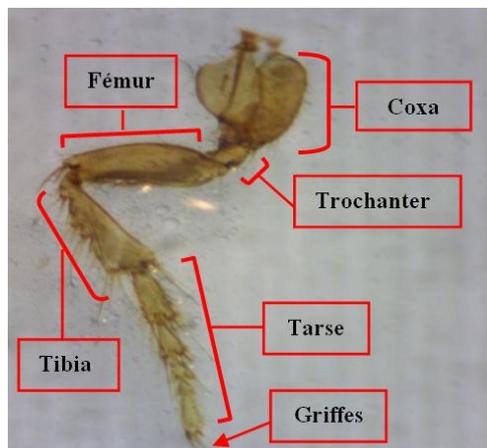


Figure 2 ► Patte d'une puce.
(IPA, 2012)

I-1-1-1-3. L'abdomen :

L'abdomen (**Fig. 3**) est constitué de 10 ou 11 segments selon les auteurs, dont huit sont visibles, formés respectivement d'un tergite et d'un sternite. Ces segments se chevauchent et peuvent donc glisser l'un par rapport à l'autre, ce qui permet la distension de l'abdomen lors du repas sanguin. Les segments numéros 2 à 8 portent les stigmates respiratoires. La partie terminale de l'abdomen est arrondie et porte une paire de stylets terminaux qui encadrent l'orifice anal (**Franc, 1994 ; Moulinier, 2002 ; Duchemin et al., 2006 ; Franc, 2006 ; Simon, 2009**).

Chez les deux sexes, le huitième segment porte une grosse soie appelée soie antépygidiale. Le neuvième ou le dixième segment selon les auteurs, porte l'anus et dorsalement un organe sensoriel, pourvu de nombreuses soies sensibles : le pygidium ou sensilium (**Fig. 3**). Son rôle est

probablement de capter des informations thermiques, hygrométriques et olfactives pour le repérage de l'hôte, mais ce rôle probable de perception reste mal connu (Franc, 1994 ; Moulinier, 2002 ; Duchemin *et al.*, 2006 ; Simon, 2009).

La **Figure 3** illustre la morphologie caractéristique de la puce *Ctenocephalides felis*.

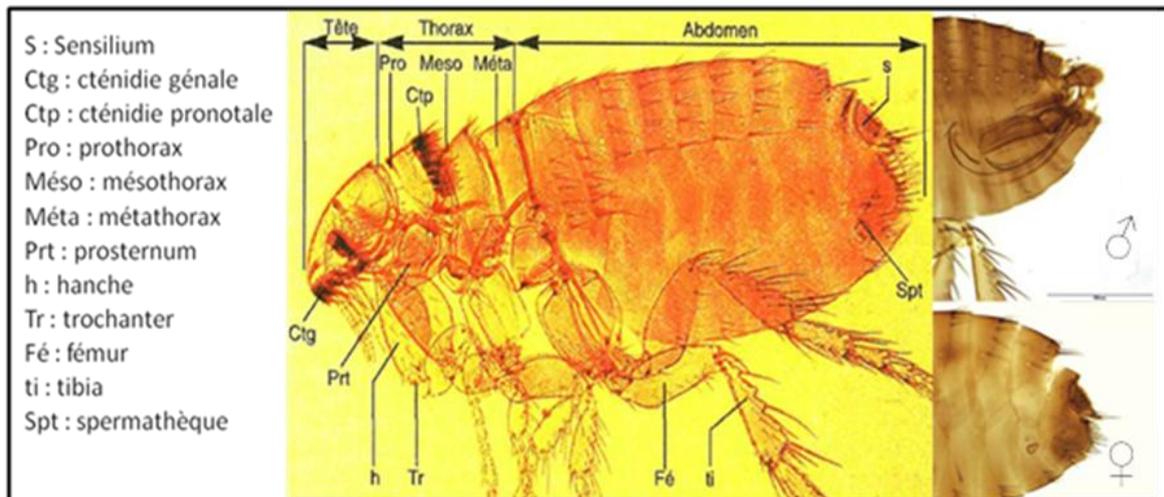


Figure 3 ► Morphologie de la puce du chat *Ctenocephalides felis*.

(Franc, 1994, Bitam *et al.*, 2010(b))

I-1-1-2. Morphologie interne :

La morphologie interne de la puce se compose d'un appareil digestif classique, d'un appareil circulatoire, d'un appareil respiratoire, d'un système nerveux et enfin d'un appareil génital.

I-1-1-2-1. Appareil digestif :

L'appareil digestif est composé de différents éléments. Il comprend un pharynx, un œsophage, un proventricule, un estomac volumineux et enfin un intestin court et étroit qui aboutit sur une ampoule rectale et un anus. L'excrétion est assurée par les tubes de Malpighi. Le proventricule est un organe garni de spicules sclérifiées (ou denticulations internes) qui permettent de fractionner le passage du sang vers l'intestin (Moulinier, 2002 ; Duchemin *et al.*, 2006 ; Simon, 2009).

I-1-1-2-2. Appareil circulatoire :

Il est en position dorsale et comprend un cœur et un vaisseau dorsal. Le sang passe par l'aorte antérieure puis se répand dans la cavité générale (Simon, 2009).

I-1-1-2-3. Appareil respiratoire :

La respiration s'effectue par un système de trachées s'ouvrant à l'extérieur par des stigmates respiratoires. Une trachée est constituée d'un tube très fin dont la paroi est soutenue par des cercles de chitine. L'appareil respiratoire se poursuit par des cellules trachéolaires qui se terminent par des trachéoles très fines. L'expiration est active contrairement à l'inspiration qui est passive (**Simon, 2009**).

I-1-1-2-4. Système nerveux :

En position ventrale, il est composé de ganglions abdominaux qui sont au nombre de huit chez le mâle et de sept chez la femelle. Les ganglions du prothorax et du mésothorax ont la particularité d'être séparés (**Simon, 2009**).

I-1-1-2-5. Appareil génital :

L'appareil génital du mâle et de la femelle sont différents, on les distingue par transparence lors de l'observation sous loupe binoculaire, et ce après éclaircissement :

- ✓ Chez le mâle, les structures génitales correspondant aux derniers segments abdominaux permettent, sous forme de pinces ou de crochets, le maintien et la correspondance anatomique avec la zone génitale femelle. L'anatomie de l'appareil génital est très complexe, il est composé de deux testicules, deux spermiductes, d'une vésicule séminale avec quatre glandes accessoires. Le canal déférent relie la vésicule séminale au pénis rétractile, il est accompagné de longs tendons chitineux enroulés en « cor de chasse ». (**Beaucournu et Launay, 1990 ; Duchemin et al., 2006 ; Simon, 2009**).
- ✓ Chez la femelle, la formation à retenir d'un point de vue systématique est celle d'une, de deux ou de plusieurs spermathèques et des conduits annexes. Les ovaires sont reliés à l'utérus par les oviductes, puis, on retrouve le vagin, la bourse copulatrice et enfin la spermathèque. Cette dernière se caractérise par une poche chitineuse conservant les spermatozoïdes après l'accouplement. La morphologie de la spermathèque varie avec l'espèce, elle est donc utilisée pour l'identification (**Franc, 1994 ; Moulinier, 2002 ; Duchemin et al., 2006 ; Simon, 2009**).

I-1-2. Systématique :

Les puces appartiennent :

- ✓ au règne **ANIMAL** ;
- ✓ à l'embranchement des **ARTHROPODES** ;
- ✓ à la classe des **INSECTES** ;
- ✓ à l'ordre des **SIPHONAPTERES**, anciennement **Aphaniptères** (**Franc, 1994 ; Franc, 2006 ; Simon, 2009**). Son nom actuel est bâti sur la racine grecque *sipho* (tube) en référence à l'appareil buccal adulte (**Franc, 2006**).

La systématique permettant l'identification des puces, est établie sur les caractères morphologiques des adultes. Sur cette base, environ 2574 espèces appartenant à 16 familles et 238 genres ont été décrites. Les quatre familles les plus connues sont : Les Pulicidae, les Tungidae, les Ceratophyllidae et les Leptopsyllidae (**Franc, 1994 ; Bitar, 1998 ; Duchemin et al., 2006 ; Bitam et al., 2010 (b)**).

L'identification des puces au niveau de l'espèce est principalement basée sur la présence, le nombre et le caractère des épines et des soies ainsi que les caractères de la tête et des segments génitaux. La diagnose des principales espèces d'intérêt médical et vétérinaire peut être réalisée grâce à des clés d'identification morphologique simplifiées plus ou moins accessibles selon les régions du monde : Eurasie, Afrique, Amérique du Nord, Amérique Centrale, Amérique du Sud et Bassin méditerranéen (**Annexe 1**) (**Franc, 1994 ; Duchemin et al., 2006**). S'agissant de cette dernière région, l'ouvrage de **Beaucournu et Launay, 1990**, constitue un document de référence pour l'identification des espèces. Par ailleurs, depuis quelques années, les puces peuvent également être identifiées grâce à des outils moléculaires (**Duchemin et al., 2006**).

I-1-2-1. Les principales espèces synanthropiques :

Parmi toutes les espèces de puces qui existent, seule une minorité est synanthropique. Les puces capables de piquer l'homme sont celles qui peuvent être en contact avec lui. Cependant, aucune ne peut être considérée, au sens strict, comme spécifique à l'homme. En effet, il faut rappeler qu'aucune puce spécifique de primate n'existe. Même la puce dite de l'homme, *Pulex irritans* est en fait un parasite naturel de carnivores sauvages, de rongeurs ou de porcs sauvages. Les puces pouvant infester l'homme appartiennent à de nombreuses familles, mais la famille des Pulicidae est

celle qui compte le plus de puces synanthropiques et qui présente un intérêt médical. Cette famille compte 180 espèces regroupées en plusieurs genres, parmi lesquelles :

- la puce du chat, *Ctenocephalides felis* (Bouché, 1835) qui représente la grande majorité des puces rencontrées dans les habitations humaines ;
- la puce du chien, *Ctenocephalides canis* (Curtis, 1826) ;
- la puce de l'Homme, *Pulex irritans* (Linné, 1758) ;
- la puce orientale du rat, *Xenopsylla cheopis* (Rothschild, 1903) (**Franc, 1994 ; Bitar, 1998 ; Duchemin et al., 2006 ; Franc, 2006 ; Bitam et al., 2010**) ;
- *Archaeopsylla erinacei* (Bouché, 1835), connue sous le nom de « Puce du hérisson » et qu'on croyait inféodée et spécifique à ce dernier (**Beaucournu et Launay, 1990**), s'est révélée ne pas avoir une spécificité aussi marquée. En effet, la première mention d'infestation de l'homme par cette puce a été faite par **Pomykal** en **1985**. Par la suite, en **1987**, la puce du hérisson a été la cause de multiples piqûres chez un patient en Allemagne (**Bork et al., 1987**). Cette puce a également été constatée par la suite dans les différents mammifères à fourrure, comme le putois, le rat brun, le chien et le renard. Cependant, le principal hôte de la puce reste le hérisson (**Franc, 2006**), notamment en Algérie, où jusqu'à présent, elle n'a jamais été détectée sur un autre hôte.

I-1-3. Biologie et conditions environnementales des puces :

La vie des puces dépend de nombreux paramètres qui varient selon les espèces (comme la température et l'humidité). Ces éléments, influencent la durée du cycle de développement et font que certaines espèces sont adaptées au climat algérien et d'autres non.

I-1-3-1. Conditions climatiques et environnementales :

Les puces évoluent dans des milieux chauds et humides et fuient la lumière et l'ensoleillement direct. Cependant, des seuils de température ou d'humidité n'ont été établis que pour quelques espèces à partir d'expériences en laboratoire, par exemple pour *X. cheopis*, *A. erinacei* et *C. felis*. L'extrapolation de ces données à d'autres espèces et surtout aux conditions naturelles est difficile. Néanmoins, des observations de terrain ont montré que les puces pullulent pendant la saison chaude. Toutefois même si elles résistent bien au froid, elles restent tout de même très sensibles à la dessiccation (**Metzger et Rust, 1997 ; Duchemin et al., 2006 ; Simon, 2009**).

I-1-3-2. Cycle de développement :

Les puces sont des insectes holométaboles (Duchemin *et al.*, 2006 ; Franc, 2006 ; Simon, 2009). Le développement de la puce passe par plusieurs stades. La vie de ce parasite débute par un œuf qui se transforme en larve, puis en puppe pour aboutir à l'état adulte (Simon, 2009). Il peut être bref : de 2 à 3 semaines en été, ou bien se prolonger jusqu'à plusieurs mois voire plus d'une année selon les conditions de température et d'humidité (Franc, 1994 ; Bitar, 1998 ; Franc, 2006). Pour *Xenopsylla cheopis* par exemple, le cycle de développement dure 15 jours, mais peut prendre plus de temps (Bitam *et al.*, 2010 (b)). La figure 4 présente le cycle évolutif de *C. felis*. Les différentes étapes de ce cycle de vie sont détaillées dans les paragraphes qui suivent.

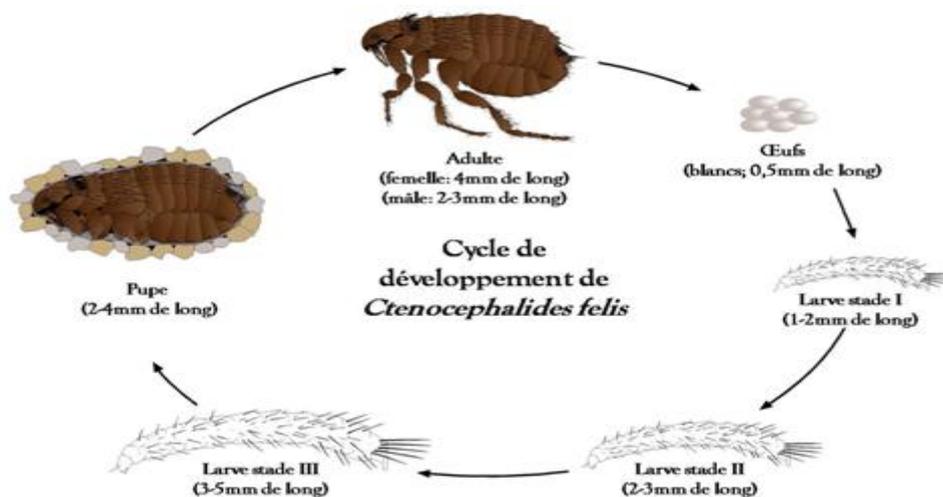


Figure 4 ► Cycle de développement de la puce *C. felis*.
(Simon, 2009)

I-1-3-2-1. Recherche d'hôtes et alimentation :

Les puces adultes (imagos) mâles et femelles sont des **ectoparasites piqueurs** des vertébrés (les mammifères ayant un gîte régulier, et les oiseaux). Elles sont **hématophages obligatoires** (Fig. 5) **et solénoptères**. Très vite après l'émergence, la puce part immédiatement à la recherche d'un hôte afin de réaliser un repas sanguin. De nombreux stimuli permettent à la puce de localiser son hôte, comme la concentration en CO₂, les variations de température et d'hygrométrie, les vibrations et les odeurs (Marvy, 1989 ; Franc, 1994 ; Bitar, 1998 ; Krämer et Mencke, 2001 ; Moulinier, 2002 ; Duchemin *et al.*, 2006 ; Franc, 2006 ; Simon, 2009 ; Bitam *et al.*, 2010 (b)).

Les Pulicidae (comme *Xenopsylla cheopis*) sont des puces dites de fourrure, qui vivent en permanence sur leur hôte, elles peuvent effectuer plusieurs repas par jour. Les femelles ont besoin

d'un repas de sang pour la maturation des œufs. Après le repas, des déjections noirâtres ou brunâtres sont émises (**Fig. 6**). Elles contiennent du sang partiellement digéré (**Marvy, 1989 ; Franc, 1994 ; Bitar, 1998 ; Héripret, 1999 ; Moulinier, 2002 ; Duchemin et al., 2006 ; Simon, 2009**).



Figure 5 ► Expulsion de gouttelettes de sang par *C. felis*.
(**Krämer et Mencke, 2001 ; Simon, 2009**)



Figure 6 ► Déjections de puces.
(**Beugnet, 2004 ; Simon, 2009**)

La majorité des puces ont un spectre d'hôtes large et peu spécifique, ce qui explique la transmission de la peste du rat à l'homme par la puce du rat *Xenopsylla cheopis* (**Franc, 1994 ; Bitar, 1998 ; Duchemin et al., 2006 ; Franc, 2006**). Par ailleurs, les puces présentent une spécificité écologique plus fréquemment qu'une spécificité d'hôte (**Duchemin et al., 2006**).

I-1-3-2-2. Accouplement :

L'accouplement a lieu en général sur l'hôte et après un ou plusieurs repas sanguins de la femelle. Le mâle se place sous la femelle et la saisit à l'aide des formations en griffes des génitalia. Il a lieu une seule fois pour les femelles du fait de la présence de la spermathèque où est stocké le sperme, alors que le mâle peut s'accoupler plusieurs fois. Il dure une trentaine de minutes et parfois plusieurs heures (**Moulinier, 2002 ; Simon, 2009**).

I-1-3-2-3. Ponte et caractéristiques des œufs :

Après l'accouplement, les femelles pondent des œufs de couleur blanche, de forme ovale et émis isolément (**Fig. 7**). Le nombre d'œufs est variable en fonction de l'espèce. La ponte se fait de manière continue, elle commence 24 à 48 heures après le premier repas et ne cesse qu'à la mort de la puce. Selon les espèces, la ponte a lieu sur l'hôte ou bien dans son environnement. Par exemple, chez *Xenopsylla cheopis*, un enduit visqueux peut entourer l'œuf, lui permettant ainsi de rester collé à l'hôte (**Dryden, 1989 ; Franc, 1994 ; Bitar, 1998 ; Héripret, 1999 ; Moulinier, 2002 ; Duchemin et al., 2006 ; Franc, 2006 ; Simon, 2009 ; Bitam et al., 2010 (b)**).

Dans des conditions optimales, l'embryogénèse dure de 1 à 10 jours (**Franc, 1994 ; Héripret, 1999 ; Simon, 2009 ; Bitam et al., 2010 (b)**). Les œufs ne représentent pas un stade de survie : de mauvaises conditions de température ou d'humidité peuvent entraîner leur destruction (**Simon, 2009**).

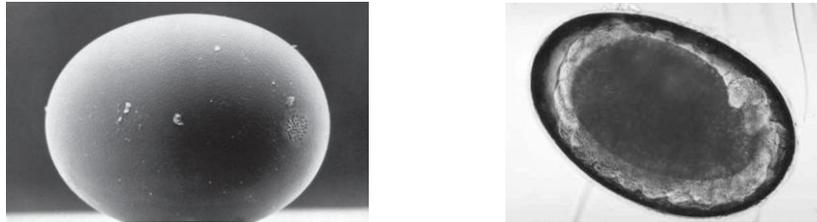


Figure 7 ► Œuf de puce au microscope électronique (taille originale : 0,5 x 0,3 mm).
(**Krämer et Mencke, 2001 ; Simon, 2009**)

I-1-3-2-4. La larve :

L'éclosion des œufs donne naissance à des larves. Certaines espèces sortent de l'œuf en s'aidant d'une épine frontale appelée aussi « la corne frontale » (**Franc, 1994 ; Bitar, 1998 ; Simon, 2009**). La Morphologie larvaire est peu visible, et les larves de puces sont apodes, minces, blanchâtres puis de couleur brune, vermiformes et présentent une tête noirâtre. Les ocelles sont absents, les antennes très courtes et les pièces buccales sont de type broyeur (**Fig. 9**). Le thorax et l'abdomen ne sont pas distincts. Le corps est divisé en treize segments munis d'une couronne de soie sur le bord postérieur. Les larves sont mobiles, mesurent 1 à 5 mm de longueur selon le stade larvaire et sont couvertes de peu de poils courts. Elles passent par trois stades larvaires (L1, L2, L3), d'une durée de 3 à 6 jours chacun (**Fig. 8**). La larve perd sa corne frontale après la première mue (**Moulinier, 2002 ; Franc, 2006 ; Simon, 2009 ; Bitam et al., 2010 (b)**).



Figure 8 ► Larve stade L3 de *C. felis*.
(**De Campos Pereira, 1998 ; Simon, 2009**)

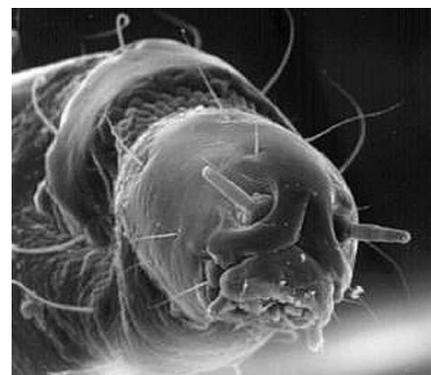


Figure 9 ► Pièces buccales d'une larve de puce de type broyeur.
(**Franc, 2006**).

Les larves sont très hygrophiles, présentant un phototactisme négatif et un géotropisme positif. Elles sont très sensibles à la dessiccation et aux conditions environnementales. Elles ne survivent pas dans un milieu ensoleillé et ont tendance à se réfugier dans des endroits sombres.

Ce sont des détritivores, se nourrissant principalement de débris organiques provenant de l'hôte, et de défécations sanglantes riches en hémoglobine partiellement digérée, émises par les puces adultes, qui représentent une importante source nutritive (Franc, 1994 ; Bitar, 1998 ; Héripret, 1999 ; Duchemin et al., 2006 ; Franc, 2006 ; Simon, 2009 ; Bitam et al., 2010 (b)).

I-1-3-2-5. Le cocon :

La larve de 3^{ème} stade (L3) vide son intestin puis tisse dans une zone abritée un léger cocon de soie blanche d'environ 1 mm d'épaisseur, à l'intérieur duquel elle subit une nymphose et se transforme en puppe (ou nymphe) en 2 à 3 jours. Certaines larves peuvent tisser plusieurs cocons comme c'est le cas du genre *Xenopsylla sp.* Le cocon mesure de 4 à 6 mm, il est difficile à voir car la soie humide recueille des débris divers comme des poussières ou des grains de sable qui constituent une coque protectrice et de camouflage (Fig. 10) (Franc, 1994 ; Bitar, 1998 ; Duchemin et al., 2006 ; Franc, 2006 ; Simon, 2009 ; Bitam et al., 2010 (b)).

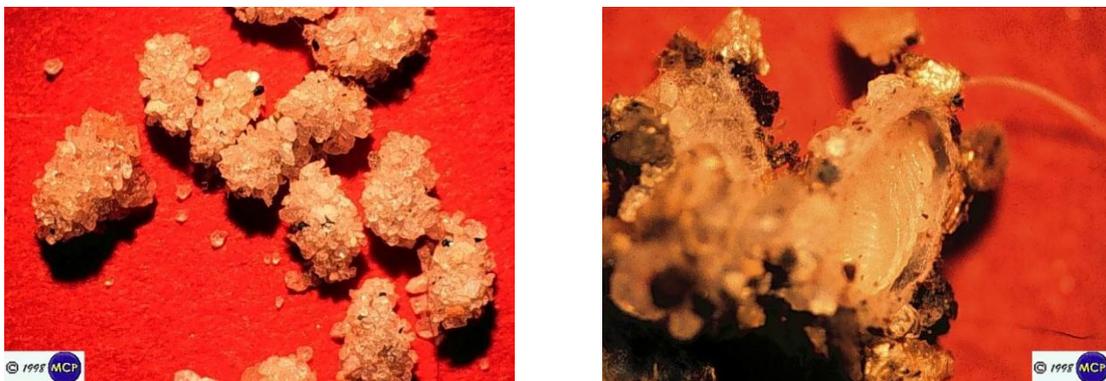


Figure 10 ► Cocons de puce.
(De Campos Pereira, 1998)

I-1-3-2-6. La nymphe :

La nymphe est un stade **immobile** à l'intérieur du cocon, elle ne s'alimente pas. Elle est de couleur blanchâtre puis brunit en quelques jours (Fig. 11) et mesure approximativement 5 mm de long. Ce stade dure au minimum 7 à 10 jours, et peut être beaucoup plus longtemps. En effet, si les conditions extrinsèques sont mauvaises (chute de température, hygrométrie inférieure à 50%) ou si

l'hôte a déserté provisoirement le gîte, l'adulte reste dans le cocon, et le cycle est parfois provisoirement interrompu pendant une semaine, un mois, voire six mois ou même un an. La nymphe est très sensible à la dessiccation mais, protégée par le cocon, elle peut constituer un stade de résistance (Franc, 1994 ; Krämer et Mencke, 2001 ; Moulinier, 2002 ; Simon, 2009).



Figure 11 ► Nymphe de puce.
(De Campos Pereira, 1998).

I-1-3-2-7. L'émergence :

L'émergence des puces dépend complètement des conditions extérieures, car la puce peut attendre des conditions favorables pour émerger. L'émergence peut être déclenchée par différents facteurs ou stimulus (Franc, 1994 ; Bitar, 1998 ; Moulinier, 2002 ; Franc, 2006 ; Simon, 2009). La puce va, alors, utiliser sa protubérance fronto-céphalique pour ouvrir le cocon. Les émergences sont alors synchrones et des milliers de puces peuvent utiliser leur aptitude au saut pour atteindre leur hôte (Moulinier, 2002 ; Simon, 2009). Des puces continuellement nourries survivent plus longtemps et des maxima de plus d'une année ont été observés, avec un record de 1725 jours pour *Neopsylla setosa* (Marvy, 1989 ; Metzger et Rust, 1997 ; Duchemin et al., 2006 ; Simon, 2009).

I-1-3-3. Les puces en Algérie :

La répartition des puces en Algérie n'a pas encore été établie, cependant une étude est en cour de réalisation par une équipe de chercheurs Algériens : **Dr Bitam et Collaborateurs**, qui a pour but de cartographier la distribution des différentes espèces de puces présentes en Algérie.

Dans ce cadre, différents travaux de recherche ont également été menés en Algérie sur une faune très variée, et ont permis d'identifier des espèces de puces appartenant aux genres suivants : *Xenopsylla*, *Archaeopsylla*, *Nosopsylla*, *Pulex*, *Ctenocephalides*, *Pariodentis*, *Dasypsyllus*, *Ceratophyllus*, *Stenoponia*, *Leptopsylla* et *Echidnophaga* (**Annexe 2**).

Plus récemment, des puces du genre *Ischnopsyllus* ont été retrouvées en Algérie lors d'une étude réalisée à l'Institut Pasteur d'Alger en 2012, portant sur les ectoparasites des chauves-souris (**Annexe 2**).

I-1-4. Les maladies humaines transmises par les puces :

I-1-4-1. Rôle pathogène direct :

Il est représenté par l'infestation de l'homme par les puces dont les piques (surtout lors d'une attaque massive) peuvent être à l'origine d'un inconfort sévère ou d'une irritation. La salive des puces a, en effet, des propriétés allergisantes. Des lésions plus ou moins importantes de type papules, localisées principalement sur les jambes et provoquant des démangeaisons généralement sans conséquence, peuvent également être observées. (**Franc, 1994 ; Héripret, 1999 ; Ménier et Beaucournu, 2001 ; Duchemin et al., 2006 ; Franc, 2006 ; Simon, 2009 ; Bitam et al., 2010 (b)**).

I-1-4-2. Rôle pathogène indirect :

Les puces sont d'une grande importance en tant que vecteurs d'agents pathogènes (bactéries, parasites) à l'origine de maladies plus ou moins graves pour l'homme dans de nombreuses régions du monde. Cependant, malgré les efforts continus, beaucoup de connaissances en ce qui concerne la fonction de vecteur des puces sont encore manquantes (**Franc, 1994 ; Simon, 2009 ; Bitam et al., 2010 (b)**). Parmi toutes ces maladies, seules les plus importantes et les plus graves pour l'homme seront résumés dans le **Tableau I**.

Tableau I ► Les maladies humaines transmises par les puces.

(*) Mode de transmission de la peste voir **Annexe 3**.

(**) Répartition géographique voir **Annexe 4**.

(***) Répartition des cas de peste dans la région Ouest de l'Algérie voir **Annexe 5**.

 Chapitre I: *Partie Bibliographique.*

I-2. Stratégies de lutte contre les puces et l'utilisation des insecticides :

Les caractéristiques de la biologie des puces vont diriger les règles de leur contrôle. Si les puces adultes peuvent se trouver sur l'hôte (mais pas toujours), les stades immatures seront sur le sol, dans le nid, le terrier ou le lieu préféré de repos des animaux domestiques. Pour une efficacité optimale de la lutte, il faut toucher, en plus de la population adulte, ces populations qui peuvent être quiescentes (**Duchemin et al., 2006**). Dans tous les cas, c'est une entreprise longue qui nécessite de rester vigilant pour ne pas sélectionner des populations de puces résistantes (**Franç M., 2006**).

I-2-1. La lutte chimique :

Elle est basée sur l'utilisation d'insecticides chimiques. Ce sont des produits utilisés pour tuer les insectes par la perturbation des processus vitaux par action chimique. Les insecticides sont classés selon leurs structures chimiques et selon leurs modes d'action en plusieurs familles (**Berrah, 2011**). Les pyréthrinoïdes de synthèse font partie des insecticides les plus utilisés et les plus efficaces dans la lutte contre les puces. Cette famille d'insecticides étant celle à laquelle s'intéresse ce travail, elle sera donc détaillée.

I-2-1-1. Les pyréthrines et les pyréthrinoïdes :

I-2-1-1-1. Les pyréthrines naturelles :

Les pyréthrines naturelles (pyréthroïdes) regroupent un ensemble de principes actifs d'origine végétale, dont les propriétés insecticides sont connues depuis au moins le milieu des années 1800 (**Hansen, 2006 ; Delhaye, 2008**). Ils sont extraits de la fleur de Chrysanthème insecticide ou Pyrèthre de Dalmatie, plus particulièrement de *Chrysanthemum cinerariaefolium* à l'aide de solvants appropriés (**Valentine, 1990 ; Beugnet, 2004 ; Delhaye, 2008**). Jusqu'en 1940, les pyréthrines naturelles ont servi à la lutte contre les insectes, aux côtés d'autres insecticides naturels d'origine végétale ou minérale (arsenicux, fluorures) (**Delhaye, 2008 ; Simon, 2009**).

I-2-1-1-1-1. Structure des pyréthrines naturelles :

Dans l'extrait naturel de fleurs de Chrysanthème insecticide, sont présents les esters de deux acides voisins : acides chrysanthémique (pyréthrine I, jasmoline I et cinérine I) et pyréthrique (pyréthrine II, jasmoline II et cinérine II) et de trois alcools dérivant d'un cycle cyclopentanone substitué. En se référant à l'acide à l'origine de la formation des pyréthrine, on distingue donc deux types de

structures : les pyréthrates (**Fig. 12**) et les chrysanthémates (**Fig. 13**) (**Beugnet, 2004 ; Delhaye, 2008 ; Simon, 2009**).

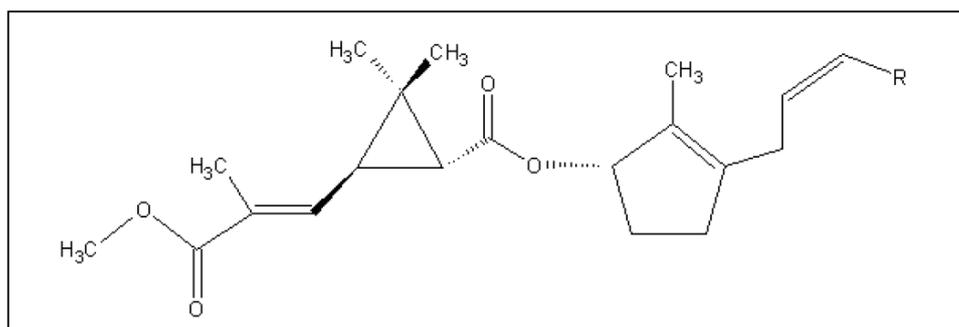


Figure 12 ► Structure des pyréthrates (issus de l'acide pyréthrique).

(**Delhaye, 2008**)

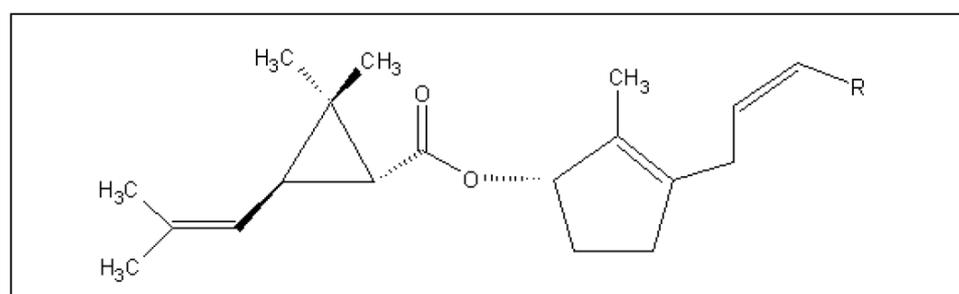


Figure 13 ► Structure des chrysanthémates (issus de l'acide chrysanthémique).

(**Delhaye, 2008**)

Le « R » représenté à l'extrémité droite de ces molécules, issu des alcools, peut être un groupement méthyl, éthyl, ou éthylène. De cette manière, on obtient 3 chrysanthémates et 3 pyréthrates. Ces 6 molécules, particulièrement instables à la lumière solaire, composent l'ensemble des principes actifs que l'on nomme pyréthrines naturelles. Les chimistes ont donc, à partir de ces modèles, cherché à améliorer à la fois leurs performances insecticides et leur photostabilité par synthèse organique (**Valentine, 1990 ; Durand, 1993 ; Delhaye, 2008**).

I-2-1-1-2. Les pyréthrinoïdes de synthèses :

Les premières pyréthrines synthétiques sont apparues dès les années 1950 (**Simon, 2009**). Elles sont bien connues pour leur effet choc (knock down) et leur action rapide et à faible dose, justifiant leur dénomination d'« insecticide de choc » ; ainsi que pour leur toxicité relativement faible chez les animaux à sang chaud. Ce sont ces qualités qui ont motivé l'intérêt croissant porté sur ces

molécules. Par la suite, d'autres synthèses organiques ont permis d'accroître leur photostabilité et leur activité insecticide (**Franc, 1994 ; Bitar, 1998 ; Delhaye, 2008**).

I-2-1-1-2-1. Molécules, structures et nomenclatures :

Suite à des modifications de l'acide chrysanthémique, quatre générations de pyréthrinoïdes se sont succédées, les molécules de dernière génération étant photostables et avec un pouvoir insecticide accru. La première génération est représentée par l'alléthrine, la seconde par la bioalléthrine et la tétraméthrine, la troisième par la perméthrine et le fenvalérate, et la quatrième par la cyperméthrine et la cyfluthrine (**Bordeau, 2000 ; Delhaye, 2008 ; Simon, 2009**).

Une autre classification des pyréthrinoïdes de synthèse se fait suivant les groupements ajoutés lors de la synthèse organique, deux grands types de pyréthrinoïdes ont vu le jour : les pyréthrinoïdes de type II qui possèdent un groupement α -cyané, et les pyréthrinoïdes de type I qui n'en possèdent pas (**Tab. II**) (**Delhaye, 2008**).

Tableau II ► Classement de quelques pyréthrines.

Pyréthrines naturelles	Pyréthrinoïdes de type I	Pyréthrinoïdes de type II
Pyréthrine I	Alléthrine	Cyfluthrine
Pyréthrine II	Bifenthrine	Cyhalothrine
Cinerine I	Perméthrine	Cyperméthrine
Cinerine II	Phénothrine	Deltaméthrine
Jasmoline I	Resméthrine	Fenvalérate
Jasmoline II	Sumithrine	Fluméthrine
	Téfluthrine	Fluvalinate
	Tétraméthrine	Tralométhrine

(Delhaye, 2008)

Il existe à l'heure actuelle de nombreuses molécules sur le marché mondial. Parmi les plus utilisées dans la lutte contre les puces figurent la Perméthrine (type I) et la Deltaméthrine (type II). Ces deux pyréthrinoïdes de synthèse étant celles qui nous intéressent dans notre travail, leurs structures et leur mécanisme d'action seront donc décrits plus en détail.

1). La Perméthrine (25:75 cis:trans isomer ratio) :

La perméthrine est un pyréthrinoïde de type I, elle ne possède donc pas de groupement cyané. Sa Formule moléculaire est : $C_{21}H_{20}Cl_2O_3$, et son nom chimique est : 3-phenoxybenzyl

(1*RS*,3*RS*;1*RS*,3*SR*)-3-(2,2 dichlorovinyl)- 2,2-diméthyl-cyclopropane carboxylate. Elle est utilisée dans divers produits de santé animale tels que des shampoings, des sprays et des spot-on (Delhaye, 2008 ; WHO, 2011). Sa formule chimique semi-développée ainsi que sa représentation en trois dimensions sont présentées dans les **Figures 14 et 15**.

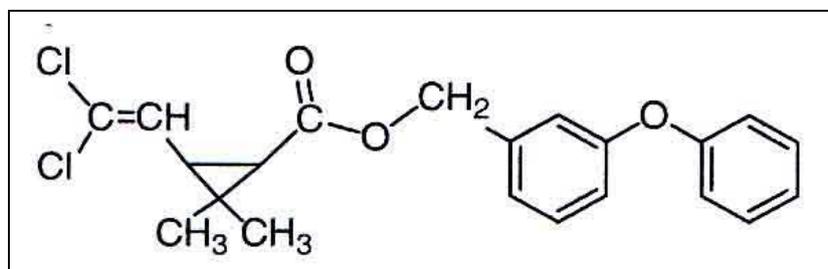


Figure 14 ► Structure moléculaire de la Perméthrine.
(WHO, 2011)

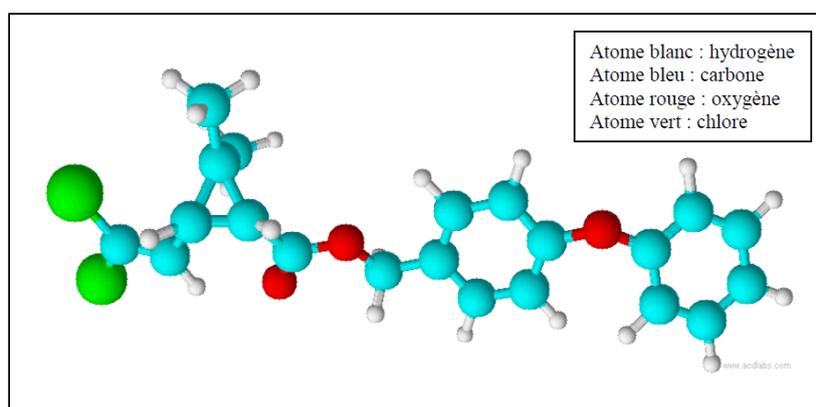


Figure 15 ► Modélisation en trois dimensions de la molécule de Perméthrine.
(Delhaye, 2008)

La présence des deux cycles benzènes stabilise la liaison ester, conférant à la molécule une moindre photolabilité (Durand, 1993 ; Beugnet, 2004 ; Hansen, 2006 ; Delhaye, 2008).

2). La Deltaméthrine :

La deltaméthrine est un pyréthrianoïde de type II, elle possède donc un groupement cyané. Sa Formule moléculaire est : C₂₂H₁₉Br₂NO₃, et son nom chimique est : (*S*)-α-cyano-3-phénoxybenzyl (1*R*,3*R*)-3-(2,2- dibromovinyl)-2,2-diméthylcyclopropane carboxylate. Elle est thermostable jusqu'à 190°C et faiblement volatile. Elle est soluble dans les solvants organiques et sa photostabilité est de trois à quatre semaines (Petit, 2002 ; Delhaye, 2008 ; WHO, 2012). Sa formule chimique semi-développée et sa représentation en trois dimensions sont présentées dans les **Figures 16 et 17**.

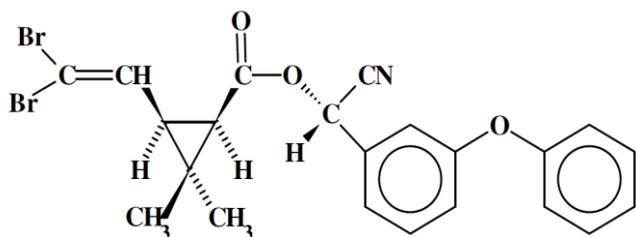


Figure 16 ► Structure de la molécule de Deltaméthrine. (WHO, 2012)

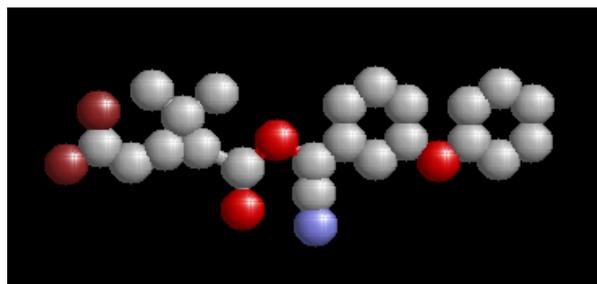


Figure 17 ► Modélisation en trois dimensions de la molécule de Deltaméthrine. (<http://molecules.gnu-darwin.org>) (Modélisation avec RasMol version 2.7.5.2))

I-2-1-1-2-2. Mécanisme d'action et toxicité des pyréthrinoïdes :

Le mode d'action des pyréthrinoïdes de synthèse, est complexe et encore imparfaitement élucidé. Comme les autres pyréthrinoïdes la Perméthrine et la Deltaméthrine sont des insecticides neurotoxiques qui agissent par contact. Normalement, la durée d'action sur les puces n'excède pas trois à quatre semaines (Franc, 1994 ; Bitar, 1998 ; Petit, 2002 ; Delhaye, 2008 ; Simon, 2009).

La perméthrine sera prise comme exemple pour expliquer les mécanismes d'action des pyréthrinoïdes de synthèse.

L'activité insecticide de la perméthrine est étroitement liée à sa configuration spatiale, lui permettant d'intervenir au contact des sites sensibles de l'insecte (Delhaye, 2008). Les sites d'action concernent aussi bien le système nerveux central que périphérique (Petit, 2002). Elle agit à différents niveaux, par des modes d'actions différents qui seront étudiés ici :

1). Action de la perméthrine au niveau membranaire :

Afin de mieux comprendre l'action de la perméthrine au niveau membranaire, il est nécessaire de revenir sur le fonctionnement de la membrane neuronale. Les canaux ioniques jouent un rôle essentiel dans la fonction de la membrane nerveuse : il existe au repos une différence de potentiels d'environ -70mV entre la face externe et la face interne de ces membranes ; ceci est permis par la présence importante d'ions sodium (Na⁺) dans le milieu extracellulaire, et d'ions potassium (K⁺) dans le milieu intracellulaire (Fig. 18).

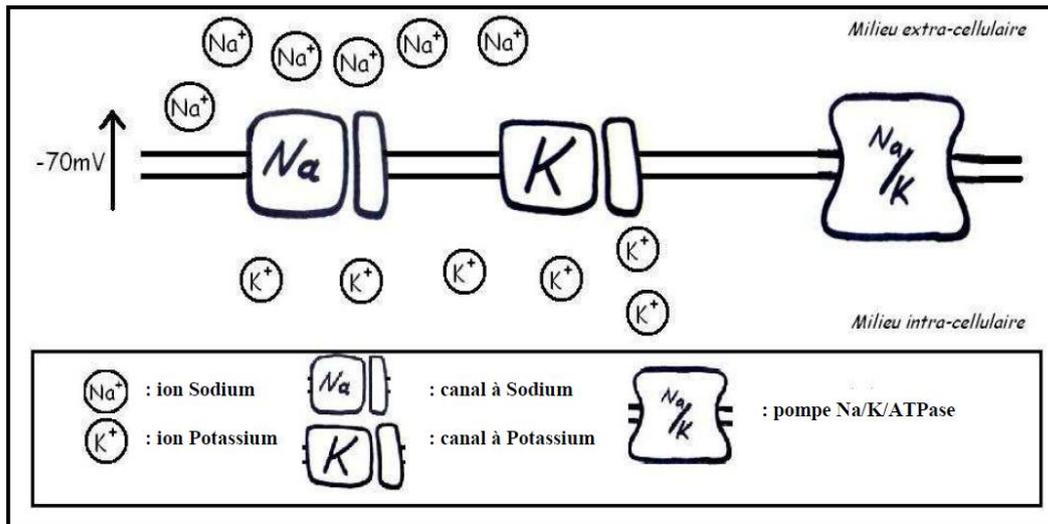


Figure 18 ► Schéma de la membrane neuronale au repos.
(Delhaye, 2008)

Lors d'un stimulus, les courants locaux peuvent être à l'origine d'un potentiel d'action, qui correspond à une inversion de polarité de la membrane de -70mV à $+50\text{mV}$. Ceci est permis par l'existence des canaux à sodium d'une part, et des canaux à potassium d'autre part. Lors de la présence d'un stimulus, les canaux à sodium s'ouvrent, laissant entrer les ions Na^+ dans la cellule : c'est la dépolarisation (**Fig. 19**).

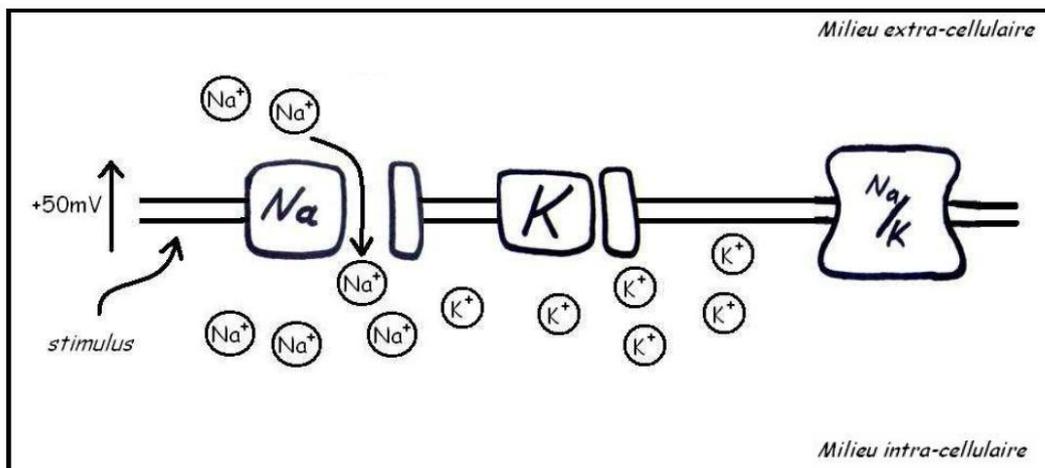


Figure 19 ► Schéma de la membrane neuronale : ouverture des canaux à sodium.
(Delhaye, 2008).

Puis ces canaux se referment et se trouvent momentanément inactivés, pendant que les canaux à potassium s'ouvrent à leur tour pour permettre la sortie des ions K^+ vers le milieu extracellulaire : c'est la repolarisation de la membrane (**Fig. 20**).

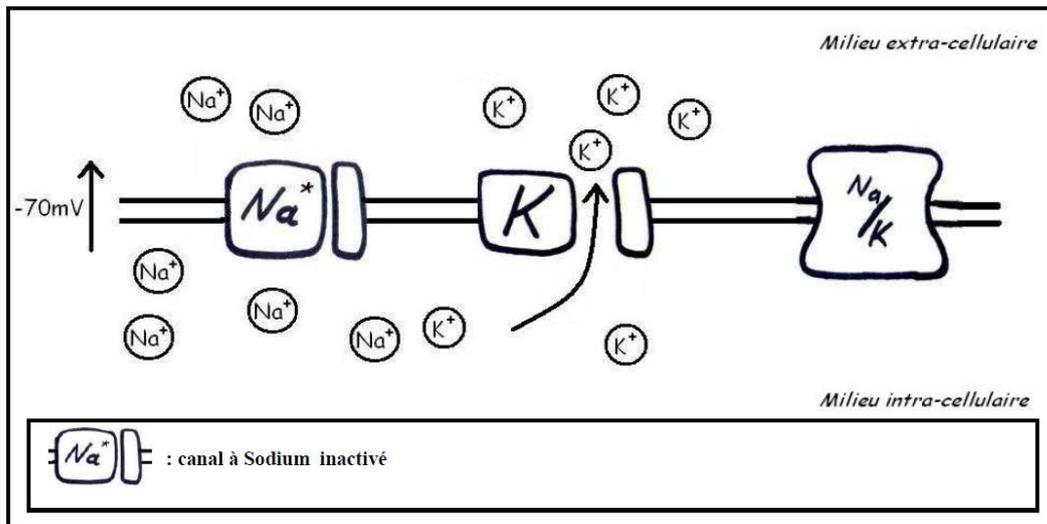


Figure 20 ► Schéma de la membrane neuronale : ouverture des canaux à potassium.
(Delhaye, 2008)

Des pompes Na/K/ATPases interviennent également dans cette repolarisation en rétablissant les concentrations en sodium et en potassium dans les milieux extracellulaires et intracellulaires, moyennant une dépense en énergie sous forme d'A.T.P. (Adénosine TriPhosphate) (**Fig. 21**).

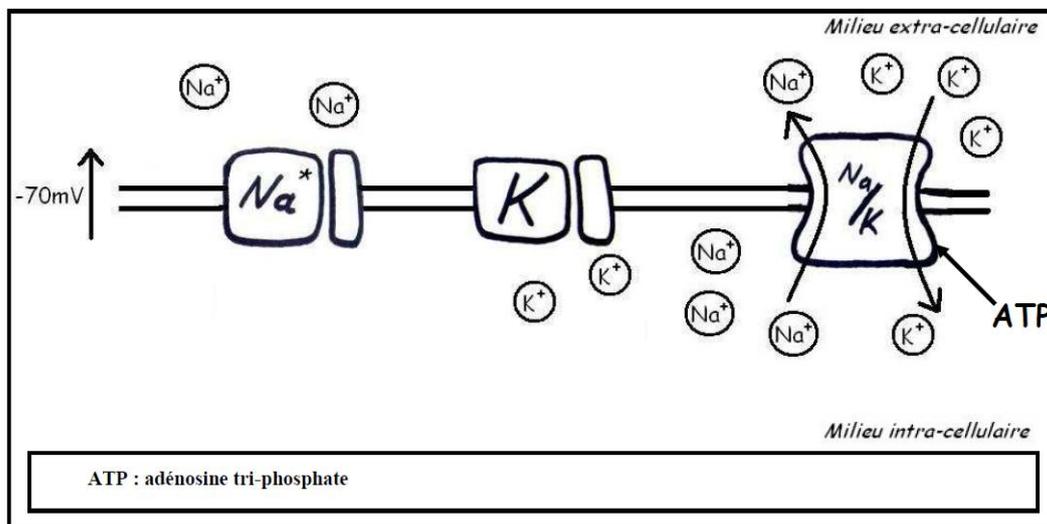


Figure 21 ► Schéma de la membrane neuronale : action des pompes Na/K/ATPases.
(Delhaye, 2008)

Après un laps de temps constant, les canaux à sodium sont à nouveau fonctionnels, et la membrane neuronale, revenue à l'état dit de repos, est prête à réagir à un nouveau stimulus (**Fig. 22**).

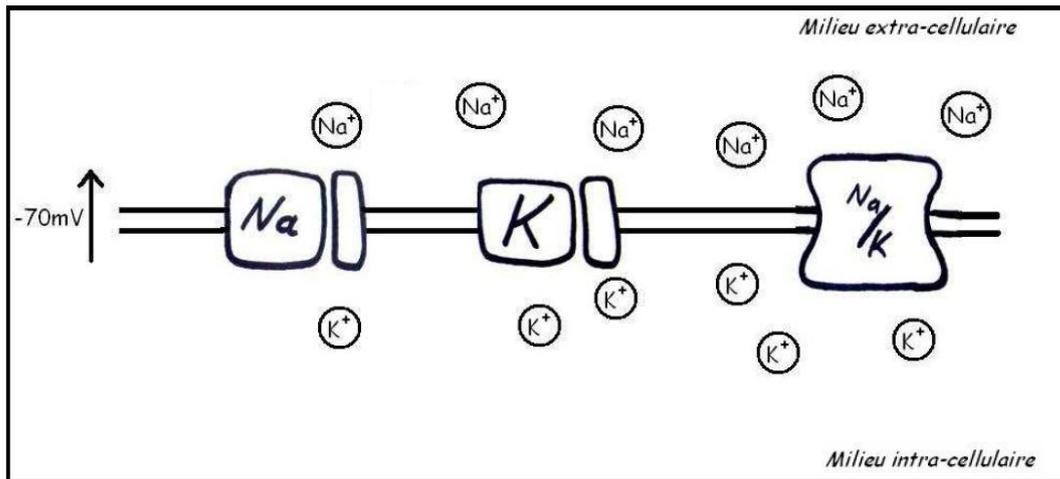


Figure 22 ► Schéma de la membrane neuronale après rétablissement des concentrations ioniques. (Delhaye, 2008)

Les canaux à sodium sont le site d'action majeur de la perméthrine : cette dernière augmente, en entraînant un dysfonctionnement au niveau de ces canaux, la perméabilité de la membrane cellulaire au sodium, prolongeant donc le flux d'ions Na⁺ lors de la stimulation de la cellule nerveuse. De cette manière, le temps moyen d'ouverture des canaux à sodium est multiplié environ par dix, induisant un état d'hyperexcitabilité, d'incoordination motrice et la mort du parasite (Dorman et Beasley, 1991 ; Burgat-Sacaze, 1993 ; Durand, 1993 ; Whittem, 1995 ; Richardson, 2000 ; Petit, 2002 ; Delhaye, 2008 ; Simon, 2009).

La perméthrine possède également une action inhibitrice sur les pompes ATPases Na⁺/K⁺ dépendantes, ayant pour effet un retard à la repolarisation, et sur les pompes ATPases Ca²⁺/Mg²⁺ dépendantes. Cette dernière action inhibitrice a pour conséquence une baisse du seuil d'excitabilité de la membrane, la rendant donc plus facilement excitable (Dorman et Beasley, 1991 ; Burgat-Sacaze, 1993 ; Durand, 1993 ; Delhaye, 2008).

Enfin, par l'action inhibitrice de la perméthrine sur ces pompes ATPases, il y a indirectement un effet d'épuisement rapide en A.T.P., principale source d'énergie de la cellule nerveuse (Burgat-Sacaze, 1993 ; Durand, 1993 ; Delhaye, 2008).

En présence de perméthrine, le temps de dépolarisation est donc plus long (Delhaye, 2008).

2). Autres sites d'action de la perméthrine :

a) Action de la perméthrine au niveau synaptique :

La perméthrine posséderait également une action secondaire, au niveau synaptique, sur les récepteurs GABA, les récepteurs nicotiques de l'Acétyl-choline, et les récepteurs de l'acide kaïnique. Ces actions correspondent, respectivement, en :

- une inhibition de la transmission GABA-ergique (qui, en temps normal, a un rôle inhibiteur ; il y a donc levée de ce rôle inhibiteur) ;
- une inhibition indirecte de la libération d'Acétyl-choline ;
- enfin, une libération d'amino-acides excitateurs qui a pour conséquence une dépolarisation encore prolongée de la membrane, aboutissant à un épuisement énergétique cellulaire et à la mort neuronale (Delhaye, 2008).

Ces effets potentialisent l'action de la perméthrine au niveau membranaire (Burgat-Sacaze, 1993 ; Durand, 1993 ; Delhaye, 2008). Ils seraient nettement plus présents lors de l'utilisation de pyréthriinoïdes de type II (Volmer, 2004 ; Delhaye, 2008).

b) Action de la perméthrine au niveau neurohormonal :

L'action de la perméthrine au niveau neurohormonal est mal connue. Elle est à l'origine d'une libération par les cellules neurosécrétrices de neurohormones naturelles, notamment de catécholamines, de glucose sanguin et de lactate. Ceci a été prouvé pour d'autres pyréthriinoïdes tels que la Cisméthrine et la Deltaméthrine (Delhaye, 2008).

Par ces différentes actions, la perméthrine est à l'origine d'une perte énergétique progressive des cellules nerveuses (Burgat-Sacaze, 1993 ; Durand, 1993 ; Delhaye, 2008). Les effets neurotoxiques et neurohormonaux additionnés entraînent certainement des déséquilibres ioniques susceptibles de modifier les activités des ATPases membranaires qui finissent par conduire à la mort. (Franc, 1994 ; Bitar, 1998 ; Petit, 2002 ; Delhaye, 2008 ; Simon, 2009).

I-2-1-1-2-3. Spectre d'activité :

Les pyréthriinoïdes possèdent des propriétés insecticides et acaricides. L'utilisation de ces molécules n'est pas sans risque pour la santé animale. En effet, elles présentent une toxicité non négligeable, chez le chat, entraînant des convulsions parfois létales, étant donné la physiologie particulière des

ces derniers et leur incapacité à métaboliser certains composés comme la perméthrine (**Bensignor et Guaguère, 2002 ; Delhaye, 2008 ; Simon, 2009**). Cette toxicité en vers le chat à fait l'objet de diverses études (**Whittem, 1995 ; Bough, 2000 ; Gray, 2000 ; Martin et Campbell, 2000 ; Richardson, 2000 ; Gleadhill, 2004 ; Muguet-Chanoit, 2007 ; Delhaye, 2008**).

I-2-1-2. Les autres insecticides utilisés dans la lutte contre les puces :

Les principes actifs préconisés dans la lutte contre les puces sont très nombreux. Les plus importants sont cités ci-après :

I-2-1-2-1. Insecticides neurotoxiques :

- **Les organochlorés** : Le DDT et le lindane ont été largement utilisés. Néanmoins, ils ont été interdits dans l'union européenne à partir du premier janvier 2007 (**Franc, 1994 ; Ehrhardt, 2006 ; Simon, 2009**).
- **Les organophosphorés** : Les molécules les plus utilisées sont : le dichlorvos, le fénitrothion, le diazinon, le chlorpyrifos, le fenthion et le cythioate. (**Franc, 1994 ; Bordeau, 2000 ; Merck, 2002 ; Simon, 2009 ; Berrah, 2011**).
- **Les carbamates** : Représentés par le carbaryl et le propoxur (**Franc, 1994 ; Simon, 2009**).
- **Les phenylpyrazoles** : Le fipronil et le pyriprole. Le fipronil possède également une action ovicide et larvicide (**Bensignor et Guaguère, 2002 ; Simon, 2009**).
- **Les Neonicotinoïdes** : Il existe actuellement deux molécules appartenant à cette classe : l'imidaclopride qui a un effet adulticide et larvicide sur les puces et le nitenpyram (**Bordeau, 2000 ; Bensignor et Guaguère, 2002 ; Simon, 2009**).
- **Les lactones macrocycliques** : Elles se divisent en deux grandes classes : les avermectines et les milbémycines. Les avermectines sont représentées par l'ivermectine, la doramectine et la sélamectine qui est un adulticide, ovicide et larvicide. Les milbémycines sont représentées par la milbémycine oxime et la moxidectine. (**Bensignor et Guaguère, 2002 ; Simon, 2009**).
- **Les semicarbazones** : Comme la métaflumizone (**Simon, 2009**).

I-2-1-2-2. Insecticides non neurotoxiques :

I-2-1-2-2-1. Régulateurs de croissance des insectes :

On peut distinguer deux groupes de régulateurs de croissance des insectes (*Insect Growth Regulators*: IGR) selon leur mode d'action :

- **les analogues de l'hormone juvénile** : ils agissent sur les œufs et les larves. Les molécules utilisées contre les puces sont : Le méthoprène, le fénoxycarb et le pyriproxifène.
- **les inhibiteurs de synthèse de la chitine** : Ils agissent sur tous les stades. Des préparations à base de flufénoxuron, de diflubenzuron, de triflumuron et de lufénuron sont utilisées contre les puces (**Franc, 1994 ; Beugnet, 2004 ; Simon, 2009**).

I-2-1-2-3. Les associations de molécules :

Aujourd'hui, de nombreuses associations d'antiparasitaires existent sur le marché. On rencontre le plus souvent une union entre une molécule insecticide neurotoxique (perméthrine, fipronil...) et une molécule insecticide non neurotoxique, c'est à dire un régulateur de croissance (méthoprène, pyriproxifène, flufenoxuron...) (**Simon, 2009**).

I-2-1-3. Formes galéniques :

De nombreuses formes galéniques des insecticides, visant à détruire les puces présentes sur les animaux et dans l'environnement, sont commercialisées (**Simon, 2009**).

I-2-1-3-1. Traitements visant à détruire les puces présentes sur les animaux :

Il existe deux formes de traitements :

- **Traitements externes (locaux)** comme : les poudres, bains, lotions, shampooings, microcapsules, colliers antiparasitaires, aérosols, sprays, bâtonnets applicateurs (sticks), applications topiques (pour on) à effet de surface (**Franc, 1994 ; Bitar, 1998 ; Beugnet, 2004 ; Simon, 2009**).
- **Traitements systémiques** : Ces traitements ne préviennent pas l'inoculation de salive lors du repas des parasites. Ils sont disponibles sous deux formes galéniques : En applications topiques (*spot on*) à effet systémique et en traitement oral (**Franc, 1994 ; Simon, 2009**).

I-2-1-3-2. Traitements visant à détruire les puces dans l'environnement :

Les produits destinés au traitement de l'environnement sont appliqués sous forme de poudres, de sprays, de pulvérisateurs ou de brouillards (*foggers*). Les produits doivent être déposés sur tous les lieux de passage des animaux qui peuvent laisser tomber des œufs de puces, mais aussi dans tous les interstices dans lesquels se réfugient les larves. Il est net que les produits destinés à traiter l'environnement doivent être appliqués minutieusement pour être efficaces. Le choix doit être fait en tenant compte de la commodité d'utilisation, de la photostabilité et du spectre des produits. Il faut, pour un foyer donné, éviter d'utiliser le même principe actif que celui appliqué sur les animaux, afin de prévenir l'apparition rapide de populations résistantes (**Frac, 1994**).

I-2-1-4. Modes d'action des insecticides :

Ces molécules insecticides ont potentiellement cinq effets sur le comportement de la puce :

Elles possèdent un effet insecticide propre, mais elles agissent également sur le comportement de l'insecte adulte, voire sur le développement des stades immatures.

- **L'effet répulsif**, ou **repellent effect**, empêche le contact entre la puce et l'hôte. Il se définit par la perception par l'insecte d'un gradient croissant d'insecticide qui le pousse à éviter la substance. Cela assure donc une certaine prévention du parasitisme.

- **L'effet de chasse** ou **de fuite**, ou **flushing effect**, induit un comportement de fuite de l'arthropode hors de l'hôte sur lequel il est mis en contact avec l'insecticide.

- **L'effet de chute**, ou **knock down effect**, traduit une efficacité très rapide dans un délai inférieur à celui nécessaire à la piqûre de puce, soit 15 à 60 minutes suivant le contact. Ce terme ne doit pas être employé pour un effet au delà de deux heures. Cet effet de chute ne préjuge pas de l'effet létal car la paralysie engendrée est parfois réversible.

- **L'effet anti-gorgement**, ou **anti-feeding effect**, est un trouble du comportement de la puce qui empêche la piqûre, et donc le repas sanguin après plusieurs heures de contact avec l'insecticide.

- **L'effet insecticide propre** ou **létal**, ou **killing effect**, se produit en prolongement des effets précédents, et à condition que la dose d'insecticide administrée à l'insecte soit suffisamment importante. Ce qui est généralement évalué expérimentalement, ce n'est pas cet effet, mais plutôt l'efficacité d'une molécule après 24 ou 48 heures, puis après plusieurs semaines.

Toutes ces molécules ne doivent pas se contenter d'être efficaces, elles doivent également être rémanentes. La rémanence se caractérise par la durée de l'effet insecticide après une administration,

c'est à dire la durée pendant laquelle l'activité reste égale ou supérieure à 95 % (**Bordeau, 2000 ; Simon, 2009**).

I-2-2. Autres moyens de lutte contre les puces :

Outre la lutte chimique, il existe également d'autres moyens pour se débarrasser des puces :

I-2-1-1. Lutte mécanique :

Quelle que soit la situation, il ne faut pas négliger les mesures mécaniques pour traiter l'environnement :

A l'intérieur, il faut donc réaliser préalablement à tout traitement, un bon nettoyage de la maison, avec notamment une aspiration régulière et un lavage des zones de repos des animaux domestiques pour faire baisser mécaniquement le nombre d'œufs et de larves. En effet, le passage fréquent de l'aspirateur permet la collecte de nombreux cocons, ainsi que l'élimination de 15 à 20% des larves et 32 à 59% des œufs mais ne peut pas atteindre les puces situées en profondeur dans les moquettes. Il faut changer le sac de l'aspirateur après chaque utilisation ou y introduire un insecticide (un collier antiparasitaire par exemple) (**Duchemin et al., 2006 ; Simon, 2009**).

A l'extérieur, il faut nettoyer ou détruire les niches écologiques où les animaux passent suffisamment de temps pour que les œufs ou les déjections qui servent de nourriture aux larves, soient déposés (**Bordeau, 2000 ; Simon, 2009**). Des refuges tels qu'une végétation dense près de la maison offrant un environnement humide, doivent être tondus ou coupés. Les feuilles mortes et autres débris organiques doivent être enlevés pour permettre au sol de sécher. Il faut ouvrir ces endroits à la lumière du soleil pour créer des conditions défavorables au développement des puces (**Merck, 2002 ; Simon, 2009**). Dans le cas des puces des animaux extérieurs au milieu domestique, voire sauvages, le principe premier doit être d'éviter au maximum le contact avec ceux-ci (**Duchemin et al., 2006**).

I-2-1-2. La lutte écologique :

La lutte écologique vise aussi à détruire les puces dans l'environnement. La vapeur d'eau permet généralement de détruire les formes larvaires présentes dans l'environnement. Cependant, l'absence de rémanence fait que l'on préfère souvent l'application de produits chimiques (**Franc, 1994**).

I-3. Les phénomènes de résistance aux insecticides :

I-3-1. Définition :

La résistance a été définie par un comité d'expert O.M.S. en 1957 comme « l'apparition, dans une population, de la faculté de tolérer des substances toxiques à des doses qui exerceraient un effet létal sur la majorité des individus composant une population normale de la même espèce ». Cette définition, initialement énoncée à propos des arthropodes, s'applique à tous les agents pathogènes, des virus aux mammifères (WHO, 1992). Ce phénomène a été décrit chez plus de 500 espèces d'arthropodes, dont 3% d'intérêt vétérinaire (Ehrhardt, 2006).

Les individus génétiquement chimiorésistants à certains toxiques préexistent dans toute population avec une fréquence de l'ordre de 10^{-6} . La pression de sélection induite par les traitements antiparasitaires sur les générations successives de parasites va faire augmenter la proportion d'individus résistants dans la population. La résistance à l'échelle d'une population est un phénomène dynamique, avec une modification continue de la fréquence des gènes de résistance, soit vers une diminution, soit vers une augmentation. Dans certains cas, lors d'arrêt de la pression de sélection, on peut assister à une réversion de la résistance, c'est-à-dire un retour de la chimiosensibilité de la population (Ehrhardt, 2006).

Le phénomène d'accoutumance est une faculté acquise au cours de la vie de l'individu, contrairement à la résistance qui, elle, est innée et s'amplifie dans la population au fil des générations (Ehrhardt, 2006).

I-3-2. Les différents types de résistance :

I-3-2-1. La résistance simple :

C'est une résistance vis-à-vis d'une substance donnée. Cela correspond au premier stade de sélection d'individus chimiorésistants (Ehrhardt, 2006).

I-3-2-2. La résistance de famille :

Elle s'applique à un groupe d'antiparasitaires ayant le même mode d'action. Exemple : résistance aux pyréthrinoïdes et aux lactones macrocycliques. Il est ainsi recommandé de changer de famille d'insecticides lors de l'apparition de populations résistantes à un pyréthrinoïde (Ehrhardt, 2006).

I-3-2-3. La résistance croisée :

Elle résulte d'un mécanisme de résistance unique, sélectionné par l'application d'un seul antiparasitaire. Elle peut concerner des substances d'une même famille ou de familles différentes. Exemple : résistance du type KDr résultant d'une mutation du gène para canal sodique, conférant une résistance au DDT et aux pyréthriinoïdes.

On parle de résistance croisée négative quand une population devenue résistante à un antiparasitaire présente une sensibilité accrue à un autre. Exemple : les souches d'*Haematobia irritans* résistantes aux pyréthriinoïdes présentent souvent une sensibilité accrue au diazinon, un organophosphoré (Cilek, 1993 ; Ehrhardt, 2006).

I-3-2-4. La résistance multiple :

Elle désigne une résistance vis-à-vis de plusieurs groupes d'antiparasitaires ayant des modes d'action différents. Plusieurs mécanismes de résistance évoluent ainsi en réponse à la sélection résultant de l'application de différents insecticides (Ehrhardt, 2006).

III-3-3. Nature de la résistance :

La résistance peut avoir pour origine tout mécanisme empêchant l'insecticide d'atteindre sa cible. Ces mécanismes biologiques résultent de mutations génétiques et de la sélection d'allèles de résistance sur différents loci (Ehrhardt, 2006).

III-3-3-1. Résistance comportementale :

Elle permet au parasite de fuir le toxique. Cela est notamment décrit chez les insectes ailés, en particulier vis-à-vis des pyréthriinoïdes (Lockwood et al., 1985 ; Ehrhardt, 2006).

III-3-3-2. La résistance morphologique :

Elle limite le taux de pénétration de l'insecticide par exemple en présentant un épaissement cuticulaire (Nolan, 1985 ; Ehrhardt, 2006).

III-3-3-3. Résistance physiologique ou métabolique :

Elle consiste en une détoxification plus efficace de l'antiparasitaire. Elle résulte de la sur-expression des enzymes de détoxification, ou de la substitution d'acides aminés sur ces enzymes à l'origine

d'une modification de leur affinité avec les insecticides. Ce mécanisme est primordial dans la résistance aux organophosphorés, DDT, organochlorés, carbamates et pyréthriinoïdes (**Zerba, 1988 ; Ehrhardt, 2006**).

Les enzymes impliquées appartiennent à trois groupes d'enzymes :

- les hydrolases (estérases et phosphatases) dans le métabolisme des organophosphorés, carbamates et dans une moindre mesure dans celui des pyréthriinoïdes.
- les glutathion S-transférases pour la détoxification des organochlorés et organophosphorés.
- les monooxygénases cytochrome P450 dépendante dans la résistance aux pyréthriinoïdes, aux organophosphorés et dans une moindre mesure aux carbamates. (**Hemingway et Hilary, 2000 ; Ehrhardt, 2006**).

La résistance peut également consister en une **mutation de la cible**. Elle peut être liée à une modification du ou des sites d'action des antiparasitaires. C'est le cas de la résistance liée au gène KDr codant pour des canaux sodiques axoniques modifiés présentant moins d'affinité pour le DDT et les pyréthriinoïdes. La modification des canaux chlore de la synapse codée par le gène Rdl est impliquée dans la résistance au lindane et à la dieldrine. La résistance peut de la même façon résulter de modifications des canaux GABA ou des acétylcholinestérases (**Ehrhardt, 2006**).

La sélection de ces mutations se produit si la diminution ou perte d'affinité de la cible pour l'insecticide n'est pas associée à une perte de la fonction primaire de la cible. Les mutations peuvent néanmoins se traduire par une diminution de la capacité de survie ou de la prolificité des individus résistants, ce qui a des implications dans la persistance de la résistance sur le terrain (**Ehrhardt, 2006**).

La résistance résulte le plus souvent d'une combinaison de plusieurs de ces mécanismes. Les deux derniers mécanismes sont qualifiés de mécanismes majeurs de résistance, les deux premiers de mécanismes mineurs (**Ehrhardt, 2006**).

Maladies fréquentes chez l'Homme	Vecteur principal	Agent pathogène	Réservoir bactérien	Transmission à l'Homme (*)	Répartition géographique (**)	Détection de l'agent pathogène en Algérie (***)	Observations	Référence bibliographique
Peste	<i>X. cheopis</i> <i>Pulex irritans</i>	<i>Yersinia pestis</i> cocco-bacille gram négatif	Essentiellement des rongeurs (le rat noir <i>Rattus rattus</i>)	Piqûre de puce infectée. Peut également être transmise par : contact direct, inhalation, plus rarement par ingestion de matières infectieuses.	Maladie ré-émergente dans le monde. Environ 2000 cas chaque année.	Plusieurs épidémies par le passé : . 1921: 185 cas (97 décès) à Sour el Ghozlane ; 1931: 86 cas à Constantine ; entre 1935 et 1950 : 158 cas à Alger, Skikda et Oran ; et en 1946 : 2 cas à Oran. En 2003 : épidémie dans l'Ouest (Environs d'Oran), 12 cas signalés. En 2008, 4 nomades (1 décès) dans la région de Laghouat.	Anthropozoonose mortelle. C'est l'une des trois maladies quaranténaires à déclaration obligatoire.	Franc, 1994 ; Bitar, 1998 ; Moulinier, 2002 ; OMS, 2005 ; Razik et al., 2005 ; Duchemin et al., 2006 ; Simon, 2009 ; Bitam et al., 2010 (a) ; Service, 2012
La fièvre boutonneuse à puces. (Rickettsiose)	<i>C. felis</i> D'autres espèces notamment <i>A. erinacei</i> , et <i>X. cheopis</i> .	<i>Rickettsia felis</i> Petites bactéries intracellulaires obligatoires Rickettsie du groupe boutonneux	Différentes espèces animales, surtout des chats, mais aussi chiens, opossums, rongeurs, hérissons, singes, chevaux, renards. (Ces dernières années, l'achat des hérissons domestiques a augmenté, en dépit de leur rôle potentiel dans la transmission de zoonoses).	Probablement par piqûres de puces contaminées ou par contact de déjections de puces avec des lésions cutanées.	Maladie émergente retrouvée dans le monde entier.	• <i>R. felis</i> a été détectée dans 95,5% des puces <i>A. erinacei</i> recueillies sur 2 espèces d'hérissons dans les régions de Hodna (M'sila) et Bordj-Bou-Argeridj. •Entre 2000 et 2006, <i>R. felis</i> a été responsable de 1,9% (2 cas) des cas d'exanthème fébrile dans la région de Batna.	La transmission transovarienne de <i>R. felis</i> chez les puces a été montrée. Les puces sont donc aussi réservoirs de la bactérie.	Stevenson et al., 2005 ; Bitam et al., 2006 ; Duchemin et al., 2006 ; Bouades et Parola, 2007 ; Simon, 2009 ; Bitam et al., 2010 (b) ; Davoust et al., 2010 Bitam, 2011 ; Kernif et al., 2012 ; Khaldi et al., 2012 ; Mokrani et al., 2012.
Le typhus murin (typhus endémique) (Rickettsiose)	<i>X. cheopis</i>	Bactéries intracellulaires obligatoires <i>Rickettsia typhi</i>	Les rongeurs, principalement : Les rats <i>Rattus norvegicus</i> Et <i>Rattus rattus</i> D'autres vertébrés, tels que les souris, opossums, musaraignes ou les chats.	Par les excréments qui pénètrent l'organisme par les lésions de grattage, par voie muqueuse ou par inhalation, plus rarement par piqûres de puces.	Répartition mondiale.	Plusieurs cas sporadiques : • En 2008, 2 cas confirmés à Oran • A Batna, le typhus murin a été responsable de 3,7% (4 cas) des cas d'exanthèmes fébriles. • Par la suite, <i>R. typhi</i> a été détectée dans 4 puces <i>X. cheopis</i> dans 2 régions de l'ouest.	C'est l'une des plus anciennes zoonoses connue.	Franc, 1994 ; Bitar, 1998 ; Duchemin et al., 2006 ; Loftis et al., 2006 ; Bouades et Parola, 2007 ; Civen et Ngo, 2008 ; Mouffok et al., 2008 ; Bitam et al., 2009 ; Simon, 2009 ; Kernif et al., 2012 ; Mokrani et al., 2012.
La lymphoréticulose bénigne d'inoculation ou « maladie des griffes du chat ». (Bartonellose)	<i>C. felis</i>	Petits bacilles à Gram négatif intracellulaires facultatifs. Seul agent démontré de la maladie chez l'homme: <i>Bartonella henselae</i> .	Les chats (ce sont porteurs sains)	Inoculation lors de la piqûre, mais aussi par l'intermédiaire des déjections.	Ubiquitaire	Des espèces agents d'endocardite, ont été détectées par PCR dans des puces à Oran et Mascara : • <i>B. clarridgeiae</i> et <i>B. elizabethae</i> chez <i>A. erinacei</i> . • <i>B. elizabethae</i> et <i>B. tribocorum</i> chez <i>X. cheopis</i> .	Si le rôle de <i>C. felis</i> dans la transmission de <i>B. henselae</i> au chat a été prouvé, il n'existe aucune démonstration de son rôle de vecteur de la maladie à l'homme.	Duchemin et al., 2006 ; Boulouis et al., 2007 ; Simon, 2009 ; Bitam et al., 2010 (b).

La réalisation de ce travail a eu lieu au « laboratoire d'écologie des systèmes vectoriels » de l'Institut Pasteur d'Alger (Annexe d'El Hamma) qui est actuellement rattaché au laboratoire d'Ecologie Parasitaire et Génétique des populations à Dely Brahim.

Le stage s'est étalé sur une durée de 4 mois (du début du mois d'Avril à la fin du mois de Juillet de l'année 2013).

II-1. MATERIEL :

Cette étude a nécessité l'utilisation d'un matériel de nature diverse et variée réparti en deux catégories : Un matériel biologique représenté par les êtres vivants et un matériel non biologique qui englobe tout le matériel inerte.

II-1-1. Matériel biologique :

Deux sortes de matériel biologique ont été nécessaires à la réalisation de cette étude, ce dernier est représenté par :

✓ Des puces :

Deux espèces de puces sont élevées à l'insectarium (**Fig. 23**), de l'IPA. Elles ont été collectées vivantes lors des différentes missions entomologiques et ont été mises en élevage par la suite :

1- L'élevage des puces appartenant à l'espèce *Xenopsylla cheopis* a débuté en Avril 2010. Ces puces ont été collectées sur un rat de l'espèce *Rattus rattus* (hôte habituel de cette puce), qui a été capturé au niveau d'une ferme (Ferme de pigeons à la commune de ZAHANA, collectée avec l'aide de Mr. Chaki M.) dans la région de MASCARA.

2- Par la suite, et après la réussite du premier élevage, des puces appartenant à l'espèce *Archaeopsylla erinacei* ont également été mises en élevage dès Février 2011. Ces puces ont été collectées sur un hérisson (hôte spécifique de cette puce) appartenant à l'espèce *Atelerix algirus*, qui a été capturé dans la région de TIZI-OUZOU.



Figure 23 ► Bocaux d'élevage de puces dans l'insectarium de l'IPA.
(Photo originale, 2013).

Le choix de ces deux espèces de puces est justifié par leur importance en médecine vétérinaire et humaine, et le fait qu'elles soient présentes en Algérie.

En effet *Xenopsylla cheopis* est connue pour être le principal vecteur de *Yersinia pestis* agent de la peste ainsi que de *Rickettsia typhi* agent du typhus murin (Duchemin *et al.*, 2006 ; Bitam *et al.*, 2010 (b)). *Bartonella tribocurum* a également été détectée par biologie moléculaire dans des puces de cette espèce (Bitam *et al.*, 2010 (b)).

Les puces *Archaeopsylla erinacei*, quant à elles, sont vectrices de *Rickettsia felis* (Kernif *et al.* ; 2012, Khaldi *et al.*, 2012). *Bartonella clarridgeiae* a également été détectée par biologie moléculaire dans des puces de cette espèce (Bitam *et al.*, 2012). De plus, des cas d'infestation humaine par cette puce, qui est habituellement exclusive au Hérisson, ont été rapportés dans la littérature (Pomykal, 1985 ; Bork *et al.*, 1987).

Bartonella elizabethae a également été détectée par biologie moléculaire chez ces deux espèces de puces (Bitam *et al.*, 2012).

✓ **Des souris :**

Des souris blanches de la souche BALB/c (Fig. 24) sont élevées dans l'animalerie de l'IPA (Fig. 25) depuis l'année 2007. Des souriceaux nouveaux nés provenant de cet élevage sont utilisés pour nourrir les puces adultes des deux espèces.



Figure 24 ► Souris blanche (Souche BALB/c).
(Photo originale, 2013).



Figure 25 ► Elevage de souris blanches à l'IPA.
(Photo originale, 2013).

II-1-2. Matériel non biologique :

Le matériel non biologique utilisé pour la réalisation de cette étude (Insecticides, appareillage, réactifs, verrerie...) est détaillé dans l'**Annexe 6**.

II-2. METHODES :

Avant de pouvoir tester la sensibilité des puces aux insecticides choisis, il faut connaître le maintien et le suivi d'un élevage de puces. La première étape est l'identification des espèces de puces après montage sur lames et la différenciation entre les stades du cycle de vie, bien que dans ce cas les espèces de puces qui sont en élevage à l'insectarium de l'IPA soient déjà connues, et que cet élevage ait été établi bien avant le commencement de cette étude. La deuxième étape est le suivi et l'entretien de l'élevage de puces.

II-2-1. Identification des puces et réalisation de lames de références :

Etant donné la nature chitineuse de l'exosquelette qui assombri l'aspect des puces, il est nécessaire de procéder à un éclaircissement de ces dernières avant montage sur lames et observation.

II-2-1-1. Principe :

Le principe de l'éclaircissement est de digérer la chitine et ceci afin de mieux visualiser les critères morphologiques d'identification lors de l'observation sous loupe binoculaire et microscope photonique. La méthode de référence utilisée au niveau de l'IPA pour le montage des puces est celle de **Lumaret, 1962**.

II-2-1-2. Eclaircissement :

L'éclaircissement des puces se fait de la manière suivante (**Annexe 7A**) :

- Prendre les puces à l'aide d'une pince et les plonger dans un petit flacon en verre contenant un bain d'hydroxyde de potasse (KOH) à 20% (ou de NaOH), les couvrir de Parafilm pour les protéger et les laisser à température ambiante pendant 24h à 48h ;
- Les transvaser dans une boîte de Pétri et effectuer un lavage à l'eau distillée pendant 30 min afin d'éliminer toute trace de KOH ;
- Les plonger ensuite dans un bain d'Acide Acétique (CH₃COOH) à 5% (ou 10%) pendant 30 min ;
- Remettre à nouveau les puces dans un bain d'eau distillée pendant 1h, renouvelée après 30 min.

II-2-1-3. Montage au baume de Canada :

- Plonger les puces dans un bain d'alcool à 90° pendant 30 minutes ou plus ;
- Les transférer ensuite dans un petit flacon contenant un bain d'alcool éthylique absolu ou méthylique, couvrir de Parafilm et laisser pendant 12h à 24h afin de les déshydrater ;
- Après cela, les passer dans un bain dans de l'essence de girofle pendant 1 jour ou plus ;
- Les passer par la suite dans du Xylol (ou Toluène) pendant 30 min ;
- Lors du montage, les puces sont disposées sur des lames propres (1 ou 2 puces par lame), les pattes sont bien séparées avant d'ajouter une goutte de baume de Canada, et le tout est recouvert par une lamelle. Sur la lame la puce est positionnée de telle sorte à ce que la tête soit tournée vers la droite, et les pattes vers le haut de la lame.
- La préparation sera placée à l'étuve 60°C ou 80°C pendant 30 min, puis à température ambiante ou à l'étuve 37°C pendant quelques jours.

* **Remarque** : Les bains dans l'essence de girofle et dans le Xylol (ou Toluène) n'ont pas été réalisés et cela en raison de la non disponibilité des réactifs ; cependant, le fait de se passer de ces 2 étapes n'affecte en aucun cas la qualité des lames.

II-2-1-4. Observation et identification morphologique des puces :

Après le séchage des lames, l'identification des puces est réalisée par l'observation des caractères morphologiques à l'aide d'une loupe binoculaire (x40), et sous le faible grossissement du microscope photonique (x10), en se basant sur la clé dichotomique de **Duchemin, 2003 (Annexe 1)**, ainsi que sur celle de **Beaucournu et Launay, 1990**.

- L'identification du genre se base principalement sur les critères suivants :
 - La présence et la distribution des soies, épines et cténidies sur le corps ;
 - La forme de la tête ;
 - Les soies oculaires et frontales ;
 - La forme et la structure des organes génitaux.

- L'identification du sexe est basée sur la taille de la puce (les femelles sont plus grandes que les mâles) ainsi que sur l'observation sous loupe binoculaire des organes génitaux visibles par transparence.

Après identification des spécimens, les lames doivent être correctement étiquetées (**Fig. 26**).



Figure 26 ► Lame étiquetée après identification.

(Photo originale, 2013)

II-2-2. Elevage et entretien des puces :

La réalisation des tests de sensibilité aux insecticides nécessite un nombre important de puces. De ce fait, il est indispensable de disposer d'un élevage de puces appartenant à l'espèce étudiée et de s'assurer que celui-ci est bien entretenu. Toute fois, bien que l'élevage des puces soit possible, il n'est cependant pas dépourvu de difficultés et quelques espèces nécessitent des soins particuliers.

Un insectarium a été établi depuis l'année 2010 à l'IPA par le Dr. BITAM I. et le Dr. KERNIF T. suivant presque la même méthodologie d'élevage que celle établie par l'équipe de **Ratvonjato et al., 2000(a)** de l'Institut Pasteur de Madagascar. Après quelques années d'optimisation des méthodes d'élevage de puces, il semble intéressant et utile aujourd'hui de décrire la technique retenue au niveau de l'IPA, qui bien que simple, reste longue et délicate.

II-2-2-1. Les locaux d'élevage :

Un insectarium est nécessaire pour maintenir les conditions physiques adéquates pour l'élevage des puces. Une porte avec un sas est indispensable pour éviter l'introduction d'autres animaux. L'entrée de l'insectarium doit comporter une murette de 25 à 30 cm de long dont la face intérieure doit être bien lisse pour éviter la fuite des puces en cas d'accident et cassures des bocal d'élevage.

Le bon développement des puces étant lié aux conditions environnementales optimales, la pièce d'élevage doit être maintenue à une température de 22°C à 27°C et une humidité relative de 75 à 80% pour obtenir le maximum de reproduction. Ces conditions sont obtenues grâce à un chauffage et des bassines d'eau disposées dans l'insectarium, et surveillées régulièrement grâce à un thermo-hygromètre.

Les puces sont élevées dans l'obscurité presque 24 heures sur 24, la pièce est éclairée artificiellement seulement au moment des manipulations dans l'insectarium. Ce sont leurs conditions naturelles, et ceci principalement à cause des larves qui sont photophobes. De ce fait, la pièce d'élevage doit être sans fenêtres, et les murs de l'insectarium doivent impérativement être peints en noir (Fig. 27).



Figure 27 ► Insectarium (pièce d'élevage des puces) de l'IPA.

(Photo originale, 2013).

Avant de commencer l'élevage, les puces récoltées vivantes ont été identifiées et triées juste après leur collecte, et cela après avoir été anesthésiées par le froid (congélation à -20°C pendant 10 min).

Une dizaine de puces adultes des deux sexes (mâles et femelles) pour chacune de ces deux espèces ont ensuite été mises en élevage en suivant les étapes décrites ci-après :

II-2-2-2. Mise en place de l'élevage :

La même méthode d'élevage a été utilisée pour les deux espèces de puces : *Archaeopsylla erinacei* et *Xenopsylla cheopis*.

Pour les puces adultes, des bocaux en verre (ou en plastique) transparents de 2000 ml sont utilisés comme pots d'élevage car ils permettent une bonne visualisation des puces sans retirer les couvercles. Les deux espèces sont séparées et mises dans deux bocaux différents (2 élevages différents).

De la sciure de bois moulue avec du sable fin stérilisé constituent la litière aussi bien pour *X. cheopis* que pour *A. erinacei* (**Fig. 28**). Cependant, la sciure de bois peut contenir des essences à pouvoir insecticide élevé, un lavage à grande eau, séchage et stérilisation sont donc indispensables avant son utilisation. Par ailleurs, les Coléoptères et les Acariens se développent favorablement dans une litière non ou mal stérilisée et peuvent s'attaquer à tous les stades de développement des puces. Seuls une bonne stérilisation des litières et leur changement régulier empêchent leur prolifération.

En outre, de la poudre de sang séché, stérilisé et bien conservé dans un flacon sec et propre (**Fig. 28**) est ajoutée toutes les 6 semaines dans chaque pot d'élevage, à raison de 5 à 10 grammes par bocal pour nourrir les larves.

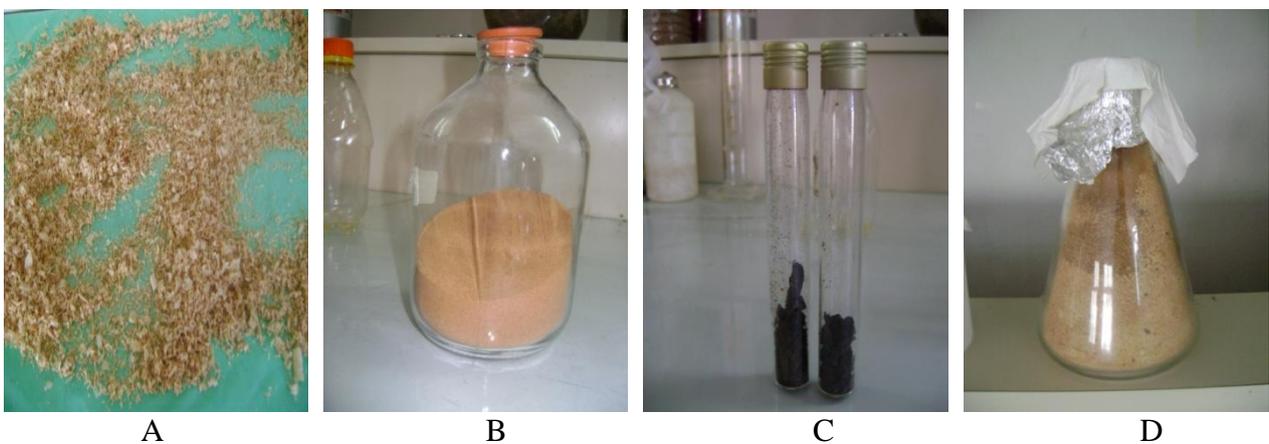


Figure 28 ► Préparation de la litière.

A : Sciure de bois lavée et séchée/ **B** : Sable fin stérilisé/ **C** : Sang séché et stérilisé/ **D** : Litière prête à l'emploi.

(Photos originales, 2013)

Les puces adultes sont hématophages pour les deux sexes et des souriceaux nouveaux nés (âgés d'une semaine) (**Fig. 29**), sont donc utilisés pour les nourrir en leur fournissant un repas sanguin (repas naturel) (**Fig. 30**). Les puces peuvent également être nourries par gorgement de sang sur membranes (repas artificiel), mais pour des raisons pratiques, c'est la première méthode qui est le plus souvent utilisée notamment à l'IPA.



Figure 29 ► Souriceaux nouveaux nés dans un bocal d'élevage de puces.
(Photo originale, 2013)



Figure 30 ► Des puces entrain de prendre leur repas sanguin sur des souriceaux.
(Photo originale, 2013)

Dans l'élevage établi à l'IPA, les larves et les adultes sont élevés dans un même bocal, donc dans une même litière ; ceci permet aux larves de se nourrir de débris divers, des déjections des puces adultes et d'être à l'abri de toutes variations microclimatiques.

Bien que les bocaux d'élevage soient hauts, des morceaux de tissus en toile blanche serrés à l'aide d'élastiques sont utilisés pour les refermer, permettant d'avoir une sécurité supplémentaire afin d'éviter la fuite des puces.

Les bocaux sont étiquetés, numérotés et sont ensuite placés sur des étagères installées à l'intérieur de la pièce d'élevage (**Fig. 31**), dont les pieds sont posés dans des bacs d'huile (ou d'eau) pour éviter l'envahissement par les fourmis qui sont attirées par des cadavres d'animaux et peuvent manger des œufs, des larves et voire des puces adultes.

Des puces appartenant à l'espèce *Ctenocephalides felis* ont également été mises en élevage au niveau de l'IPA en 2009. Cependant cet élevage a été interrompu.

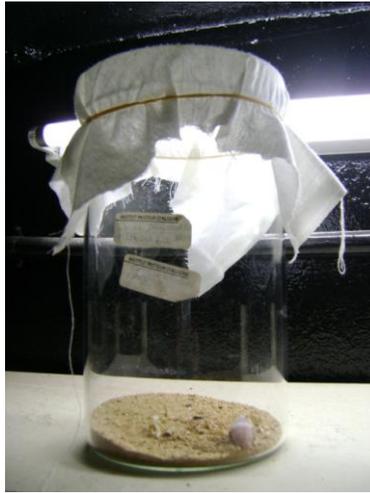


Figure 31 ► Bocal d'élevage de puces.
(Photo originale, 2013)

II-2-2-3. Entretien de l'élevage :

II-2-2-3-1. Changement des souriceaux :

Les souriceaux doivent être changés 2 à 3 fois par semaine, et pour ce faire il faut procéder de la manière suivante :

- Après l'ouverture du bocal d'élevage, les souriceaux morts sont retirés à l'aide d'une pince.
- 2 à 3 souriceaux nouveaux nés (âgés d'environ une semaine) vivants sont placés dans chaque bocal d'élevage.
- Celui-ci est refermé avec le morceau de toile serrée par un élastique.
- Il est ensuite replacé sur l'étagère dans la pièce d'élevage.
- Enfin, les pinces et autres ustensiles utilisés sont lavés à l'eau de Javel 10% et à l'éthanol 70° puis séchés dans des bocaux.

II-2-2-3-2. Suivi du cycle de développement des puces :

Dans ces conditions, l'évolution des élevages, à peu près identique pour toutes les espèces, est la suivante :

- Au bout d'une durée de 6 à 12 jours, la ponte des œufs est observée (**Fig. 32**).

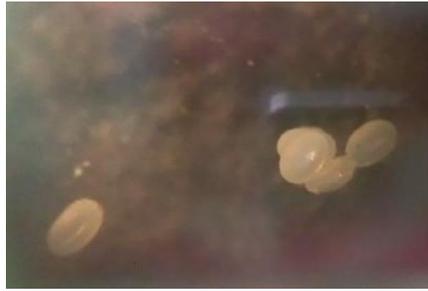


Figure 32 ► Les œufs de puces sous microscope photonique Gr 4 x 10 (Elevage).
(IPA, 2011).

- Après 4 à 10 jours, les œufs éclosent et donnent naissance à des larves vermiformes (**Fig. 33**). Ces dernières se développent et s'entourent d'un cocon (**Fig. 34**) à l'intérieur duquel elles muent en donnant des nymphes après environ 10 jours.



Figure 33 ► Larve vermiforme observée au microscope photonique Gr 4 x 10 (Elevage).
(IPA, 2011).

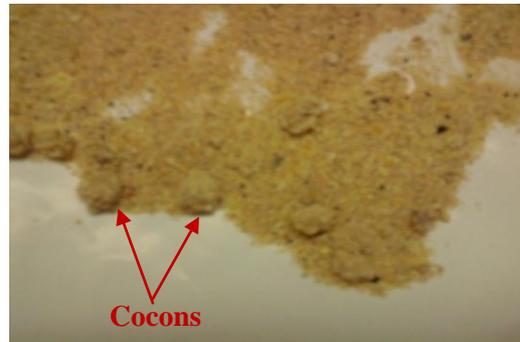


Figure 34 ► Cocons contenant des nymphes (Elevage)
(IPA, 2011).

- Après une période de silence de quelques jours, l'émergence des adultes de la nouvelle génération commence, et à la surface de la litière apparaissent les puces adultes nouvelles écloses, reconnaissables à leur petite taille (**Fig. 35**) et leur couleur jaune clair.

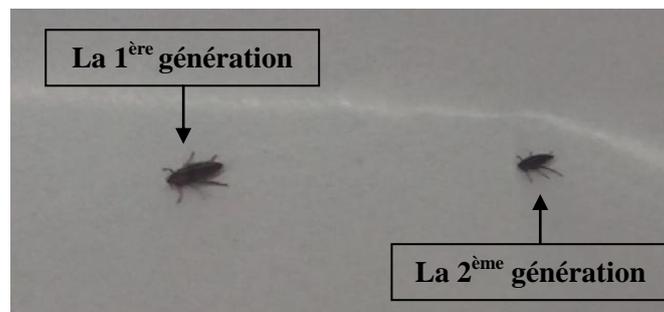


Figure 35 ► Puces adultes de la 1^{ère} et de la 2^{ème} génération (Elevage).
(Photo originale, 2013)

II-2-2-3-3. Changement des litières :

Après une quinzaine de jours de l'émergence de la nouvelle génération de puces adultes, il est nécessaire de changer les litières pour entretenir l'élevage et éviter l'apparition d'acariens. Une grande bassine de plus de 30 cm de hauteur est utilisée pour éviter la fuite des puces pendant les manipulations. Le fond de cette bassine est couvert de papier kraft ou papier glacé de couleur blanche pour mieux visualiser les puces ainsi que pour faciliter la remise de la litière dans le bocal.

Le contenu du bocal d'élevage est versé dans la bassine directement sur le papier (**Fig. 36**). Toutes les puces adultes sont récupérées à l'aide d'un aspirateur à puces (**Fig. 37**) et mises dans un nouveau bocal contenant une nouvelle litière. Deux ou trois souriceaux nouveaux nés sont placés dans ce dernier pour assurer les repas sanguins, il est ensuite refermé à l'aide d'un morceau de toile serré par un élastique, étiqueté et remis sur l'étagère de la pièce d'élevage.



Figure 36 ► Contenu d'un bocal d'élevage versé dans une bassine.
(Photo originale, 2013)



Figure37 ► Aspirateur à puces (modèle OMS).
(Photo originale, 2013)

L'ancienne litière ne doit pas être jetée, elle est récupérée, remise dans le premier bocal, et conservée pendant une semaine. Si de nouvelles puces apparaissent, elles sont récupérées et mises dans le nouveau bocal. Enfin, le premier bocal est supprimé.

Par ailleurs, il est à noter la mort prématurée de quelques puces (**Fig. 38**) dans les deux élevages (*A. erinacei* et *X. cheopis*). Cette mort peut probablement être expliquée par le fait qu'avec toutes les conditions favorables réunies au niveau de l'insectarium ces puces sont trop sollicitées (accouplement et pontes à répétition). D'autre part, la mort des puces peut aussi être due à une

manipulation trop brutale de ces dernières, par conséquent, le changement de litières, le comptage des puces adultes ou toute manipulation des bocalux d'élevage doivent être faits avec la plus grande délicatesse pour éviter de tuer les puces ainsi que pour limiter la destruction des œufs et des larves présents dans la litière.



Figure 38 ► Puces mortes (Elevage)
(IPA, 2011).

II-2-3. Réalisation des tests insecticides :

La méthode décrite ci-après permet de mesurer le degré de sensibilité d'une population de puces adultes à un insecticide. Elle a pour objet de déceler si, à un certain moment, une souche de ces insectes devient résistante. Cette méthode d'épreuve a été spécialement mise au point pour détecter une résistance physiologique (OMS, 1970).

II-2-3-1. Principe :

Des lots de puces adultes sont exposés à différentes concentrations d'insecticide en vue de déterminer le pourcentage d'insectes tués par chacune d'elles.

Lors de ce travail, le degré de sensibilité de 2 espèces de puces (*Archaeopsylla erinacei* et *Xenopsylla cheopis*) a été testé vis-à-vis de 2 insecticides différents à savoir : La **Perméthrine** à **8%** (Fig. 39) et la **Deltaméthrine** (l'**Alphythrine**®) à **2%** (Fig. 40), appartenant à la famille des Pyréthriinoïdes de synthèses.

Les tests ont été réalisés conformément aux indications données par l’OMS en 1970. Cependant, la méthodologie a dû être adaptée aux moyens disponibles au niveau du laboratoire. Les bandelettes pré-imprégnées d’insecticides utilisées par les services de l’OMS pour la réalisation de ces bio-essais n’étant pas disponibles en Algérie, elles ont dû être confectionnées et imprégnées par nos soins. Plusieurs dilutions des deux insecticides testés ont dû être préparées au préalable à partir des solutions mères.



Figure 39 ► Bidon de Perméthrine à 8%.
(Photo originale, 2013)



Figure 40 ► Flacon d’Alphythrine® à 2%.
(Photo originale, 2013)

II-2-3-2. Préparation des dilutions :

Avant de commencer à manipuler les insecticides, il est important de signaler que le port de gants en latex et de masque pour éviter le contact direct avec l’insecticide et l’inhalation de ses vapeurs est indispensable pour la sécurité de l’opérateur.

II-2-3-2-1. Perméthrine à 8% :

Pour cet insecticide, cinq (5) dilutions en cascade ont été préparées à partir d’une solution mère à 8% comme illustré sur le schéma (**Fig. 41**). Afin d’homogénéiser la préparation, il faut impérativement agiter le flacon après chaque dilution. Le détail des calculs et du protocole suivi pour la préparation de ces dilutions se trouve dans l’**Annexe 7B**.

Préparation des dilutions

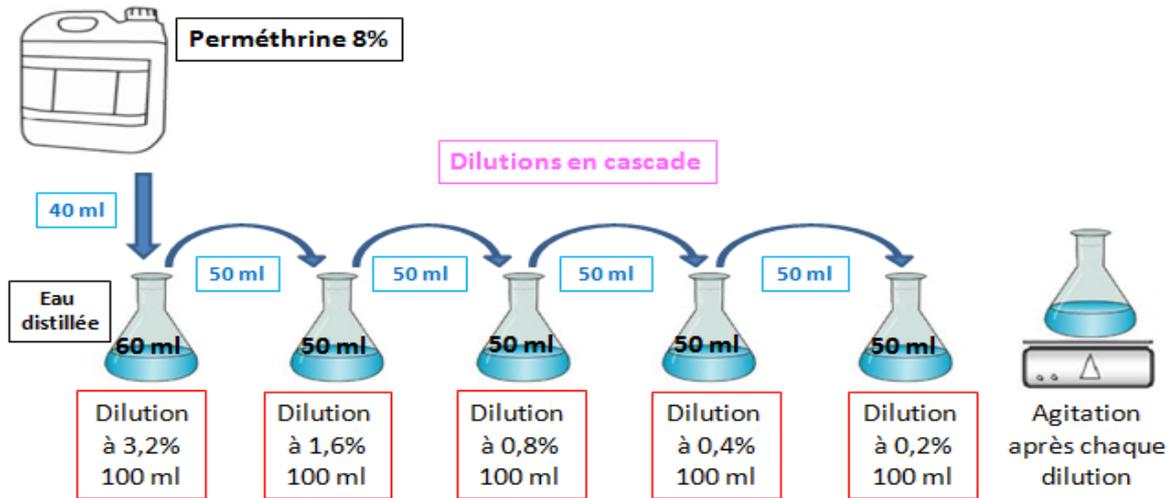


Figure 41 ► Préparation des dilutions de la perméthrine à 8%.

(Schéma original, 2013)

II-2-3-2-2. Deltaméthrine à 2% (Alphythrine®) :

Pour cet insecticide, six (6) dilutions ont été préparées à partir d'une solution mère à 2% comme illustré sur le schéma (**Fig. 42**). Il faut impérativement agiter après chaque dilution pour homogénéiser la préparation. Le détail des calculs et du protocole suivi pour la préparation de ces dilutions se trouve dans l'**annexe 7B**.

Préparation des dilutions

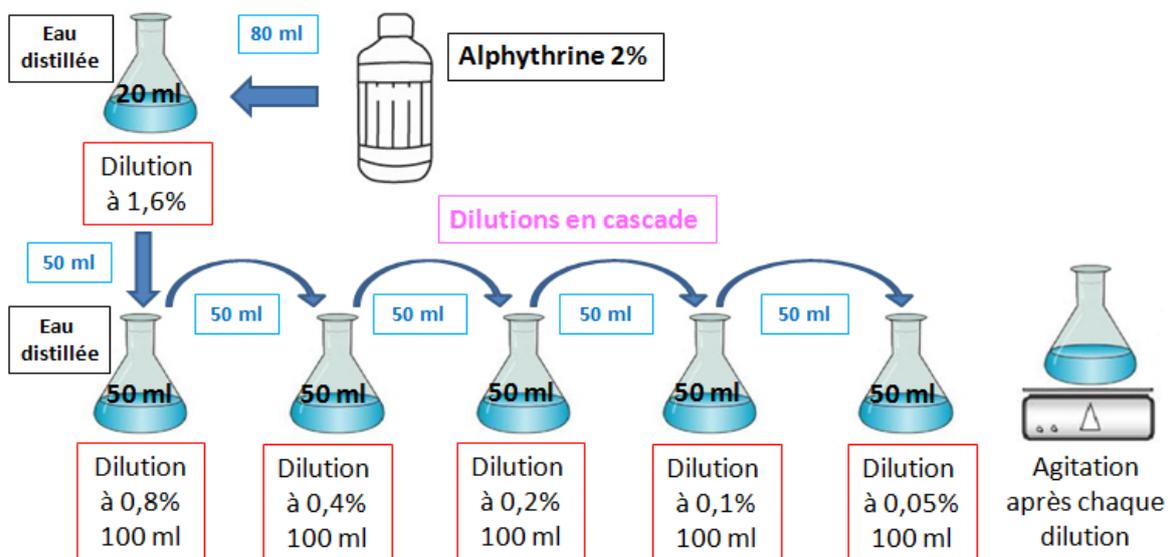


Figure 42 ► Préparation des dilutions de la Deltaméthrine à 2% (Alphythrine®).

(Schéma original, 2013)

Afin d'éviter toute altération des produits, il faut conserver les différentes dilutions dans des flacons stériles convenablement refermés et étiquetés. D'autre part, il est connu que la Deltaméthrine (Alphythrine[®]) et la Perméthrine appartiennent aux pyréthrinoïdes de synthèse, et il est mentionné dans la littérature que ses dernières, contrairement aux pyréthrinoïdes naturelles, ne sont pas ou sont peu affecté par la lumière. Toute fois, étant donné que les dilutions sont préparées au tout début du travail et gardées pour être utilisées sur une période plus ou moins longue, il semble préférable de recouvrir les flacons de conditionnement avec du papier Aluminium pour éviter une quelconque altération ou dénaturation éventuelle du produit à cause d'une exposition trop prolongée à la lumière (Fig. 43 et 44).



Figure 43 ► Les différentes dilutions de la Perméthrine à 8%.

(Photo originale, 2013)



Figure 44 ► Les différentes dilutions de Deltaméthrine à 2% (Alphythrine[®]).

(Photo originale, 2013)

II-2-3-3. Imprégnation des bandelettes :

Il faut commencer par préparer des bandelettes de **5 cm x 1,5 cm** avec du **papier WATTMAN n°1**, taillées en pointe à un bout (OMS, 1970). Il faut que ces bandelettes soient conservées à l'abri de toute trace d'insecticide.

L'étude menée a nécessité en tout l'utilisation de 30 bandelettes imprégnées avec les différentes dilutions de la Perméthrine, de 36 bandelettes imprégnées avec les différentes dilutions de Deltaméthrine ainsi que 4 bandelettes sèches (non imprégnées) pour les témoins.

Le protocole suivi pour l'imprégnation des bandelettes est le même pour les deux insecticides. Ainsi, les bandelettes doivent être disposées sur une grande feuille en papier Aluminium afin de faciliter le travail. Il faut noter sur ce dernier les différentes concentrations à l'aide d'un marqueur indélébile en vue d'éviter les erreurs.

Par la suite, les papiers sont imprégnés, en utilisant une micropipette, à raison de **400 µl** d'oléosolution répartis sur toute la surface de la bandelette. Ce volume d'insecticide utilisé pour imprégner chaque bandelette s'est avéré être le plus adéquat, et ce après la réalisation de plusieurs essais d'imprégnation en utilisant différents volumes variant de 100 µl à 1000 µl.

Trois épreuves parallèles doivent être exécutées avec chacune des dilutions (3lots), donc trois (3) bandelettes doivent être préparées pour chaque concentration. Lors de l'imprégnation des bandelettes, il faut commencer par la dilution la moins concentrée vers la plus concentrée, en allant de 0,2 % à 3,2 % pour la Perméthrine et de 0,05 % à 1,6 % pour la Deltaméthrine. Il faut aussi mettre de côté des bandelettes non imprégnées pour les témoins à introduire dans les tubes de mise en observation (1tube témoin pour chaque test).

Après avoir réalisé plusieurs essais, il s'est avéré préférable de préparer les bandelettes imprégnées la veille de la réalisation des tests et de les laisser sécher toute une nuit (12 à 24 h). L'utilisation des bandelettes immédiatement après l'imprégnation crée une grande humidité dans les tubes à essai, et fausse les résultats en induisant un taux de mortalité faussement élevé.

Après imprégnation, il faut impérativement éviter le contact entre les bandelettes des différentes concentrations en laissant suffisamment d'espace entre elles sur le papier Aluminium et ce, afin d'éviter un éventuel transfert de matière active qui pourrait fausser les résultats.

Enfin, selon les recommandations de l'OMS, il faut conserver les papiers dans un endroit frais, mais non frigorifique, le stockage à trop basse température pouvant provoquer la cristallisation des préparations les plus concentrées. D'autre part, ces papiers perdent leur efficacité par stockage prolongé, leur utilisation exige donc beaucoup de prévoyance.

II-2-3-3-1. La Perméthrine :

Pour cet insecticide, les papiers sont imprégnés avec les cinq (5) dilutions préparées, aux concentrations respectives de 0,2 %, 0,4 %, 0,8 %, 1,6 %, et 3,2 % (**Fig. 45**).



Figure 45 ► Préparation et imprégnation des bandelettes de Permethrine.
(Photo originale, 2013)

II-2-3-3-2. La Deltaméthrine (Alphythrine®) :

Pour cet insecticide, les papiers sont imprégnés avec les six (6) dilutions préparées, aux concentrations respectives de 0,05 %, 0,1 %, 0,2 %, 0,4 %, 0,8 %, et 1,6 % (**Fig. 46**).

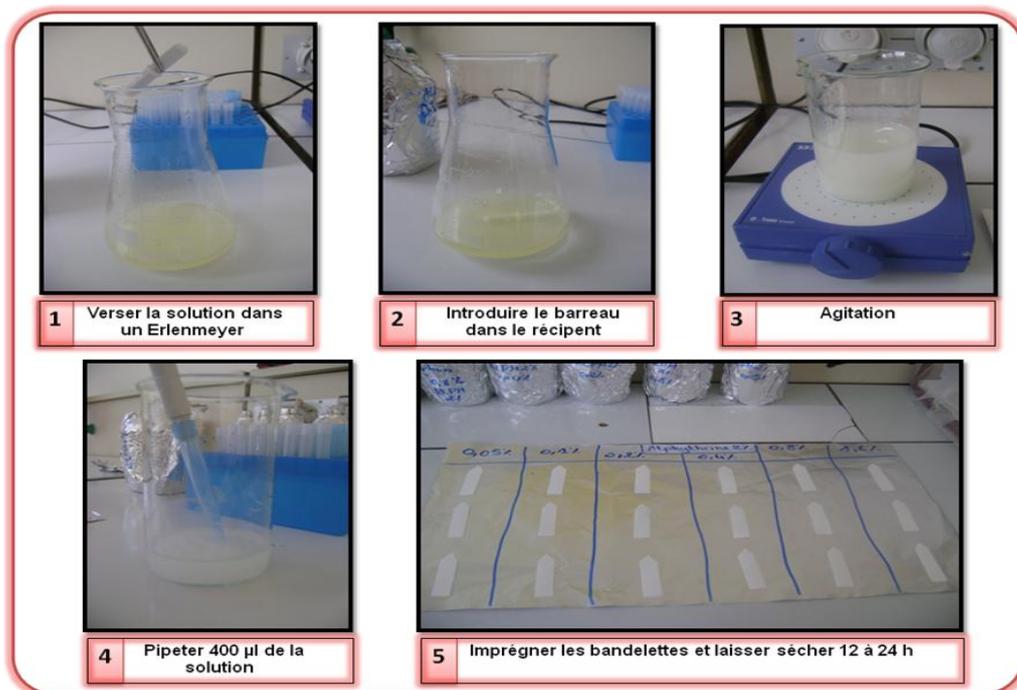


Figure 46 ► Préparation et imprégnation des bandelettes de Deltaméthrine.
(Photo originale, 2013)

II-2-3-4. Récupération des puces :

Dans cette étude, comme il a déjà été précisé précédemment, toutes les puces utilisées pour la réalisation des tests insecticides provenaient de l'élevage établi au niveau de l'insectarium de l'IPA.

Un total d'environ **1600** puces, réparties en deux espèces ont été utilisées :

- l'espèce *Archaeopsylla erinacei* (puce du hérisson) avec un effectif total d'environ **1020** spécimens ;
- l'espèce *Xenopsylla cheopis* (puce du rat) avec un effectif total d'environ **580** spécimens.

Cependant, une partie de ces puces (900 puces parmi les 1600) a été utilisée pour la réalisation de plusieurs essais pour la mise au point de la technique et les résultats de ces essais n'ont pas été pris en compte pour l'établissement des statistiques. Les tests définitifs, qui ont été validés et exploités pour la réalisation de l'étude statistique, ont nécessité l'utilisation d'environ **700 puces** parmi les **1600 (350 puces** de chaque espèce).

Pour récupérer les puces dans l'insectarium, il faut préparer des tubes à essais, en verre, de 17 à 20 cm de longueur et de 16 mm de diamètre intérieur. 16 tubes sont nécessaires pour la réalisation des tests de la Permethrine (3 tubes pour chacune des 5 dilutions ainsi qu'un tube pour les témoins) et 19 tubes dans le cas de la Deltaméthrine (3 tubes pour chacune des 6 dilutions ainsi qu'un tube pour les témoins). Les tubes sont préalablement stérilisés dans un four pupinel (chaleur sèche) à une température de 450°C pendant 1 heure (**Annexe 7C**), et sont laissés à refroidir.

Les deux espèces de puces sont testées séparément pour chacun des insecticides. Les étapes de préparations sont exactement les mêmes :

Au niveau de la pièce d'élevage les bocaux à partir desquels les puces seront prélevées sont soigneusement choisis en fonction de l'abondance. Cependant, il est très important de signaler que toutes les épreuves doivent être exécutées sur des spécimens provenant de la même population de puces.

Une grande bassine de plus de 30 cm de profondeur, appelée aussi récipient de mise en attente, est entreposée sur la paille pour éviter la fuite des puces pendant les manipulations. Le fond de cette dernière est ensuite garni d'une feuille de papier Kraft ou de papier glacé de couleur blanche de manière à faciliter la visualisations et la capture des puces par aspiration, mais aussi de faciliter la remise de la litière et des puces dans le bocal après avoir récupéré le nombre de spécimens nécessaire.

Le premier bocal d'élevage choisi est placé à l'intérieur de la bassine, l'élastique et le tissu qui le recouvrent sont retirés et son contenu est transféré à l'intérieur de cette bassine, directement sur le papier.

A l'aide du dispositif d'aspiration, 10 puces doivent être transférées dans chaque tube. A cette fin, il faut ajuster le dispositif successivement sur chacun des tubes et des puces adultes des deux sexes sont prélevées dans la bassine. Les tubes sont recouverts, au fur et à mesure, à l'aide de capuchons en tissu tenus à l'aide d'élastiques pour éviter la fuite des puces, ils sont ensuite numérotés (N° d'ordre, N° de lot et la dilution à tester) et disposés verticalement dans le râtelier prévu à cet effet (**Fig. 47**). Pour des raisons pratiques, principalement liées au temps, il n'est réalisé qu'un seul test à la fois (une seule espèce de puces testée vis à vis d'un seul insecticide).



Figure 47 ► Préparation des spécimens d'épreuve.

(Photos originales, 2013)

II-2-3-4-1. Perméthrine :

Il faudra donc pour la réalisation d'un seul test : 16 tubes à essai ainsi que 160 puces d'une seule espèce (*A. erinacei* ou *X. cheopis*) (**Fig. 48**).



Figure 48 ► Récupération des puces pour tester la Perméthrine.
(Original, 2013)

II-2-3-4-2. Deltaméthrine :

Il faudra donc pour la réalisation d'un seul test : 19 tubes à essai ainsi que 190 puces d'une seule espèce (*A. erinacei* ou *X. cheopis*) (Fig. 49).



Figure 49 ► Récupération des puces pour tester la Deltaméthrine.
(Original, 2013)

II-2-3-5. Les tests insecticides :

II-2-3-5-1. Principe :

Le principe est de faire avec chaque lot de chaque concentration, une épreuve comportant une durée d'exposition d'une heure suivie d'une période de récupération de 24 heures.

II-2-3-5-2. Conditions de l'épreuve :

Conformément aux indications données par l'OMS, les épreuves doivent être exécutées loin des locaux de l'élevage et dans un local indemne de toute contamination par des insecticides. Les puces seront exposées et mises en observation dans des conditions de température comprises entre 20°C et 30°C et d'humidité relative supérieure à 25%. Les différents tests doivent être réalisés dans des conditions d'expérience sensiblement uniformes.

II-2-3-5-3. Technique :

II-2-3-5-3-1. Test d'exposition aux insecticides :

Commencer par placer le râtelier dans un carton propre, de telle façon que les puces soient dans l'obscurité pendant la période d'exposition (**Fig. 52**).

Introduire ensuite très rapidement une bandelette de papier non traité (non imprégné d'insecticide) dans le tube de mise en observation (témoin) et les bandelettes de papier préalablement imprégnées des différentes dilutions de l'insecticide dans chaque tube d'exposition en respectant l'ordre des concentrations et en allant de la moins concentrée vers la plus concentrée (**Fig. 50 et 51**).

• Perméthrine :

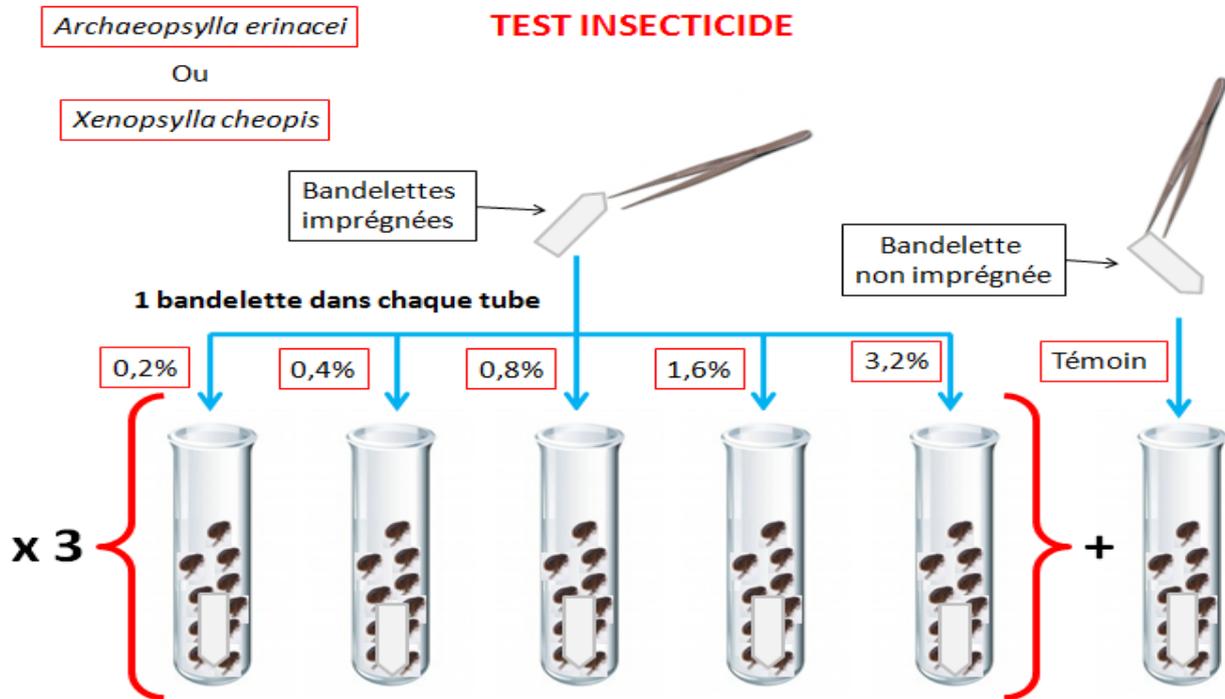


Figure 50 ► Test d'exposition à la Perméthrine.
(Original, 2013)

• Deltaméthrine :

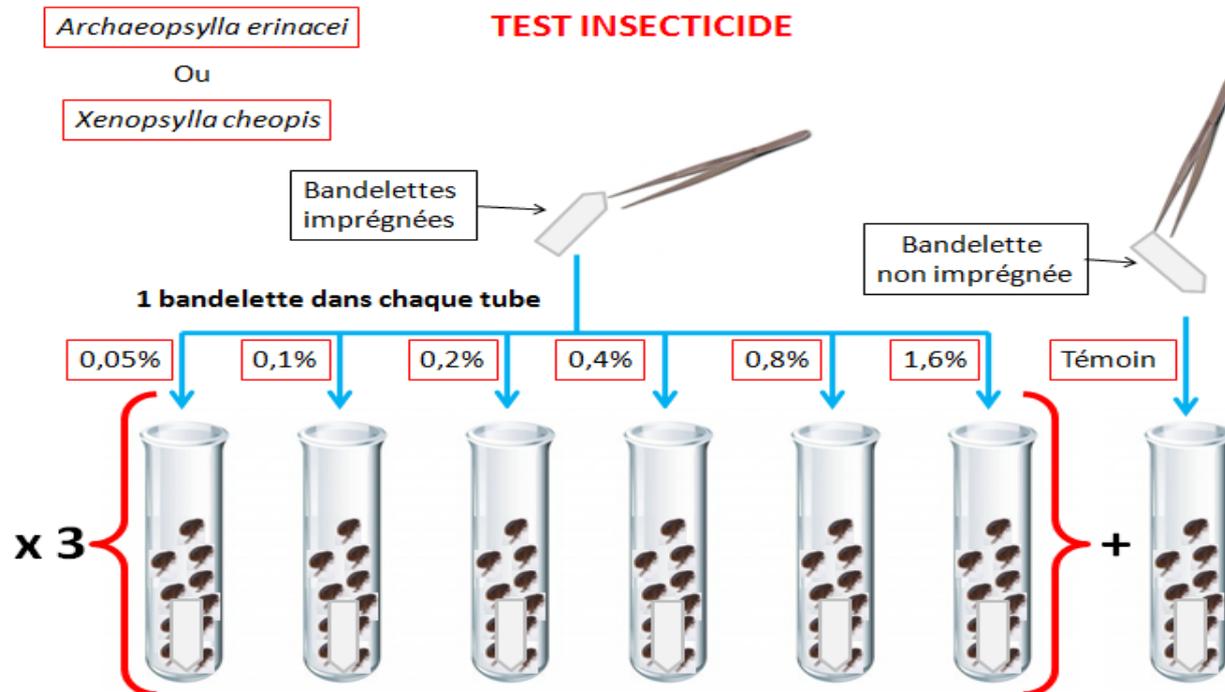


Figure 51 ► Test d'exposition à la Deltaméthrine.
(Original, 2013)

Les tubes sont refermés aussi tôt, au fur et à mesure, avec le morceau de tissu et l'élastique, et replacés ensuite verticalement dans le râtelier qui a été placé dans le carton. Cette opération marque le début de la période d'exposition. Le temps est mesuré à l'aide d'un minuteur et le décompte commence dès que la première bandelette imprégnée est introduite dans le premier tube.

Après avoir introduit toutes les bandelettes dans les tubes, il faut commencer à compter le nombre de puces en fonction de l'effet produit par l'insecticide et cela en respectant des temps d'exposition de 5 min, 15 min, 30 min et 1h :

- Les puces mortes ;
- Les puces sur les quelles l'insecticide testé a un effet « KNOCK DOWN » c'est-à-dire : les puces encore vivante mais avec un changement de comportement visible traduisant un « effet choc », comme une hyperexcitabilité, une paralysie, une prostration ou l'incapacité de se tenir sur les patés (**Fig. 54**).
- Les puces vivantes sur les quelles l'insecticide n'a absolument aucun effet (aucun changement de comportement),

Les résultats de ce décompte sont ensuite notés sur un tableau pour être analysés ultérieurement.

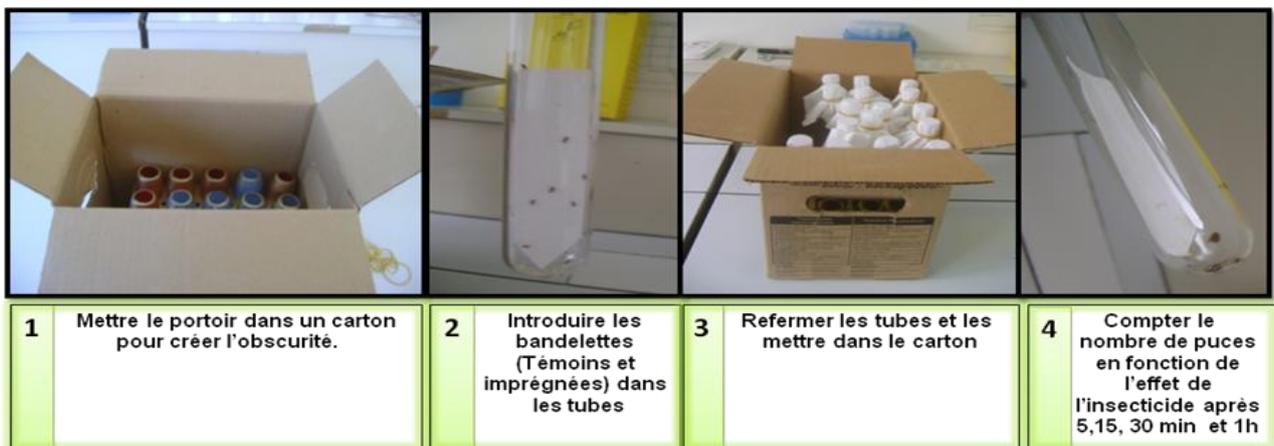


Figure 52 ► Test d'exposition des puces aux insecticides.

(Photos originales, 2013)

II-2-3-5-3-2. Test de récupération :

Après 60 minutes d'exposition, les bandelettes d'insecticide sont enlevées à l'aide d'une pince. Toutes les puces sont retirées, dans l'ordre de mise en place, des tubes d'exposition pour être transférées dans des tubes propres exempts de toute trace d'insecticide. Les tubes de mise en observation sont recouverts d'un nouveau carré de tissu et redéposés dans le râtelier qui est remis à l'obscurité dans le carton.

Pour réduire au minimum les risques de contamination des insectes par de fortes concentrations d'insecticide pendant le transfert, il faut commencer par transférer les témoins et continuer par ordre d'exposition à des concentrations (de perméthrine ou de Deltaméthrine) croissantes. Entre les transferts de puces exposées à des papiers imprégnés d'insecticides différents, il faut rincer soigneusement les pinces utilisées avec de l'acétone ou de l'alcool et les laisser sécher.

L'étape du transfert des puces dans les tubes de mise en observation est très délicate car les puces encore capables de sauter sont difficiles à récupérer, il faut donc faire très attention lors de la récupération de ces dernières car elles risquent de s'enfuir.

Après 24 heures, il faut dénombrer les puces après les avoir examinées minutieusement, selon les mêmes critères que précédemment, en fonction de l'effet de l'insecticide (Mortes, Effet Knock Down et vivante), et noter les résultats sur le tableau.



Figure 53 ► Test de récupération après exposition des puces aux insecticides.
(Photos Originales, 2013)



Figure 54 ► Observation d'une puce paralysée sous loupe binoculaire Grx40.
(Photos Originales, 2013)

Une fois l'épreuve achevée, il faut jeter les papiers, et nettoyer soigneusement les tubes.

II-2-4. Exploitation des résultats :

II-2-4-1. Estimation de la mortalité corrigée :

L'efficacité d'un produit est évaluée par la mortalité. Le nombre d'individus dénombrés morts dans une population traitée par un toxique n'est pas le nombre réel d'individus tués par ce toxique. Il existe en fait dans toute population traitée une mortalité naturelle qui vient s'ajouter à la mortalité provoquée par ce toxique, les pourcentages de mortalité doivent être corrigés par la formule d'ABBOTT (1925). Cette correction permet d'exclure le biais dû à la mortalité naturelle observée dans nos conditions expérimentales. La formule est utilisée pour corriger les chiffres de mortalité observés chez les insectes soumis à l'exposition à un insecticide quand la proportion des témoins morts est comprise entre 5 % et 20 % (OMS, 1970).

$$\text{TC \%} = \frac{\text{Mortalité des spécimens d'épreuve (en \%)} - \text{mortalité des témoins (en \%)}}{100 - \text{mortalité des témoins (en \%)}} \times 100$$

II-2-4-2. Estimation de la toxicité des traitements :

L'évaluation de l'effet toxique des molécules insecticides testées a été estimée par la comparaison des Populations Résiduelles (P.R.) selon le « Test de DUNNETT ». Le pourcentage des populations résiduelles des puces est exprimé par le rapport du nombre de formes mobiles dans les lots traités sur le nombre de formes mobiles dans les lots témoins.

$$\text{PR\%} = \frac{\text{Nb de formes mobiles (NFM) par traitement} \times 100}{\text{Nb de formes mobiles par témoin}}$$

Lorsque le pourcentage des populations résiduelles est inférieur à 30%, l'insecticide est toxique (Produit avec effet toxique significatif), par contre, si ce pourcentage est compris entre 30% et 60%, l'insecticide est moyennement toxique, s'il est évalué à plus de 60%, l'effet toxique de l'insecticide est faible ou neutre (Produit sans effet toxique significatif).

II-2-4-3. Analyse statistique des résultats (SYSTAT vers.7, SPSS 2009) :

La significativité des résultats a été testée par une analyse de variance, lorsque le problème était de savoir si la moyenne des pourcentages des populations résiduelles de *Archaeopsylla erinacei* et *Xenopsylla cheopis* variait significativement selon les paramètres étudiés (espèce de puce, molécule insecticide, dilution, temps d'exposition), il est préconisé de réaliser une analyse de variance. Dans les conditions paramétriques « ANOVA pour ANalysis Of Variance », la distribution de la variable quantitative doit être normale. Dans ce cas aucune transformation logarithmique n'a été nécessaire pour normaliser cette distribution. Dans le cas où plusieurs facteurs sont en jeu, il peut arriver que toutes les interactions entre facteurs ne soient pas pertinentes à tester. Nous avons alors utilisé le « Modèle Linéaire Global » (GLM), pour connaître explicitement l'effet d'un facteur indépendamment. Les analyses statistiques ont été effectuées avec le logiciel SYSTAT version 7.

III-1. Résultats :

Dans ce chapitre, nous avons présenté en premier lieu le résultat de l'identification des puces de l'élevage et cela afin de confirmer les espèces. Nous avons essayé ensuite, d'analyser tous les résultats correspondant à l'étude de la sensibilité et de la résistance de ces deux espèces de puces d'élevage (*Archaeopsylla erinacei* et *Xenopsylla cheopis*) vis-à-vis de deux insecticides pyréthrinoïdes de synthèse (la Perméthrine et la Deltaméthrine), habituellement utilisés dans la lutte contre les arthropodes vecteurs et nuisibles.

III-1-1. Identification des puces :

Les deux espèces de puces utilisées dans ce travail ont été identifiées en observant les critères morphologiques suivants :

➤ *Archaeopsylla erinacei* (Bouché, 1835) « Puce du hérisson » :

- Cténidie génale vestigiale ;
- présence d'une cténidie prothoracique de 2 à 3 épines en tout (**Fig. 55**) (**Beaucournu et Launay, 1990**).

➤ *Xenopsylla cheopis* (Rothschild, 1903) « Puce orientale du rat » :

- Absence de cténidies (génale et prothoracique) ;
- un thorax dorsalement plus long que le premier segment abdominal ;
- la présence d'un épaississement pleural sur le mésothorax ;
- un front arrondi ;
- la présence aussi d'une dizaine de soies disposées en V en arrière de la tête (**Fig. 56**) (selon la clé d'identification de **Duchemin, 2003**) (voir **Annexe 1**).



Figure 55 ► *Archaeopsylla erinacei* femelle observée sous loupe binoculaire Gr x 40.
(Photo originale, 2013)



Figure 56 ► *Xenopsylla cheopis* mâle observée sous loupe binoculaire Gr x 40.
(Photo originale, 2013)

III-1-2. Effet Knock Down « K.D. » :

Dans cette partie toutes les puces immobiles ou présentant un changement de comportement traduisant un effet « Knock down », suite à une exposition à l'insecticide seront prises en compte.

III-1-2-1. Effet Knock Down « K.D. » sur les puces en fonction du temps d'exposition aux différentes dilutions des insecticides testés :

1). Effet K.D. sur les puces exposées à la Perméthrine :

Les résultats de l'effet K.D. des différentes dilutions de Perméthrine (0,20%, 0,40%, 0,80%, 1,6% et 3,2%) sur les puces *A. erinacei* et *X. cheopis*, après une exposition de 1h et mise en observation pendant 24h, sont représentés dans les deux figures suivantes :

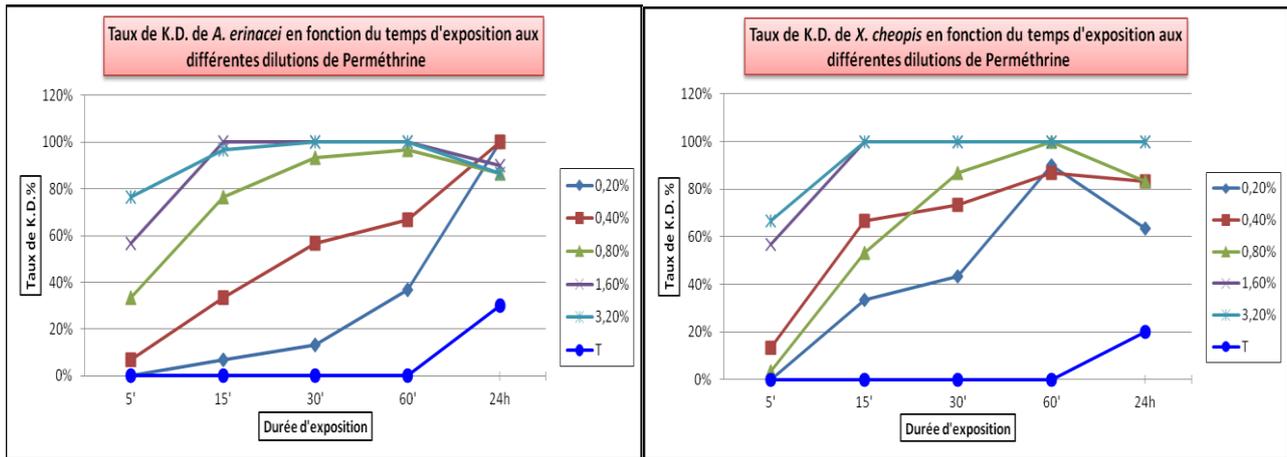


Figure 57 ► Evaluation du taux de K.D. de *X. cheopis* et *A. erinacei* en fonction du temps d'exposition aux différentes dilutions de Permethrine.

Nous avons remarqué lors de l'exposition de *Archaeopsylla erinacei* à la Permethrine, que le taux de K.D. atteint les 100% dès 15 minutes d'exposition à la dilution 1,6% ; par contre il a fallu attendre 30 minutes avant d'observer 100% de K.D. chez les puces exposées à la dilution 3,2%. Tandis que, les deux doses les plus faibles (0,2% et 0,4%) semblent au départ être celles qui ont le moins d'effet sur les puces. Entre 1h et 24h les doses les plus efficaces, entraînant un taux de K.D. de 100% semblent finalement être les deux doses les plus faibles (0,2% et 0,4%). En effet, à partir d'1h nous avons remarqué une diminution du taux de K.D. pour les trois concentrations les plus fortes (0,8%, 1,6% et 3,2%), traduisant une réversibilité de l'effet K.D.

Une mortalité importante chez les témoins à 24 h (30%) est notée lors de ce test.

Lors de l'exposition de *Xenopsylla cheopis* à cet insecticide, nous avons remarqué que le taux de K.D. atteint les 100% dès 15 minutes chez les puces exposées aux dilutions 1,6% et 3,2%. La dilution 0,8% donne un taux de K.D. de 100% au bout d'1heure. Cependant quelques particularités ont été relevées lors de ce test : en effet, entre 5 et 15 min, la dilution 0,4% semble avoir une meilleure activité insecticide que la 0,8%, et à 1h d'exposition la dilution 0,2% semble avoir une meilleure activité insecticide que la dilution 0,4%. Après la période de mise en observation entre 1h et 24h, nous avons noté une diminution de l'effet K.D. pour les dilutions 0,2%, 0,4% et 0,8%. Alors que les doses les plus concentrées (1,6% et 3,2%) semblent garder leur efficacité avec 100% de K.D.

On note une mortalité acceptable chez les témoins à 24h (20%).

2). Effet K.D. sur les puces exposées à la Deltaméthrine :

Les résultats de l'effet K.D. des différentes dilutions de Deltaméthrine (0,05%, 0,10%, 0,20%, 0,40%, 0,80% et 1,6%) sur les puces d'espèce *A. erinacei* et *X. cheopis*, après une exposition de 1h et mise en observation pendant 24h, sont représentés dans les deux graphiques de la **figure 58** :

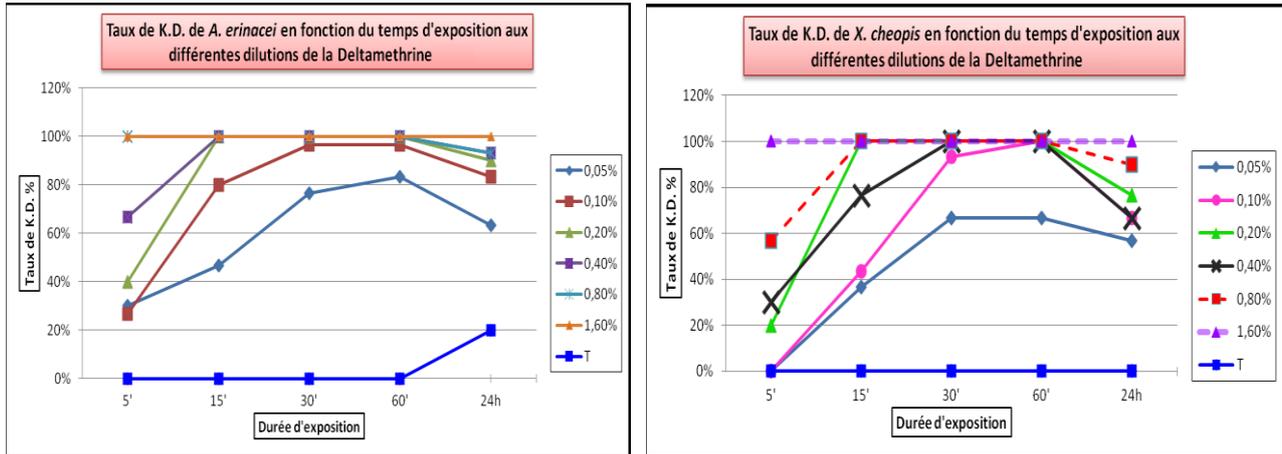


Figure 58 ► Evaluation du taux de K.D. de *X. cheopis* et *A. erinacei* en fonction du temps d'exposition aux différentes dilutions de Deltaméthrine.

Lors de l'exposition de *Archaeopsylla erinacei* à la Deltaméthrine, nous avons remarqué dès 5 min, un taux de K.D. de 100% pour les deux dilutions les plus concentrées (1,6% et 0,8%). Les dilutions 0,4% et 0,2% donnent 100% de K.D. au bout de 15 min. Entre 1h et 24h nous avons remarqué une diminution du taux de K.D. pour toutes les dilutions excepté la 1,6%. Une mortalité acceptable est observée chez les témoins à 24h (20%).

Lors de l'exposition de *Xenopsylla cheopis* à cet insecticide nous avons remarqué dès 5 min d'exposition, que la dilution 1,6% donne un taux de K.D. de 100%. Les dilutions 0,8% et 0,2% donnent également un taux de K.D. de 100% au bout de 15min d'exposition. Les dilutions 0,4% et 0,1% quant à elles donnent un taux de K.D. de 100% respectivement en 30min et 1h.

Nous avons noté cependant une particularité lors de ce test : la dilution 0,2% donne plus de mortalité après 15 min d'exposition que la dilution 0,4% qui est pourtant la plus concentrée des deux. Entre 1h et 24h nous avons noté une diminution du taux de K.D. (dissipation de l'effet de l'insecticide) pour toutes les dilutions excepté la 1,6%, cette dernière représente donc la dose de choix dans ce cas.

Lors de ce test, aucune mortalité n'a été observée dans le lot témoin.

III-1-2-2. Effet Knock Down « K.D. » corrigé sur les puces en fonction du temps d'exposition aux différentes dilutions des insecticides testés :

Lorsque la mortalité des témoins est comprise entre 5 % et 20 %, il convient de corriger les taux de mortalité en appliquant la formule d'Abbott (OMS, 1970). Dans cette partie les résultats des taux de K.D. et de mortalité sont présentés après avoir été corrigés. On remarque que l'aspect général des courbes ne change pas.

1). Taux de K.D. corrigé des puces exposées à la Perméthrine :

Les résultats de l'effet K.D. corrigé des différentes dilutions de Perméthrine (0,20%, 0,40%, 0,80%, 1,6% et 3,2%) sur les puces d'espèce *A. erinacei* et *X. cheopis*, après une exposition de 1h et mise en observation pendant 24h, sont représentés dans les deux graphiques de la **figure 59** :

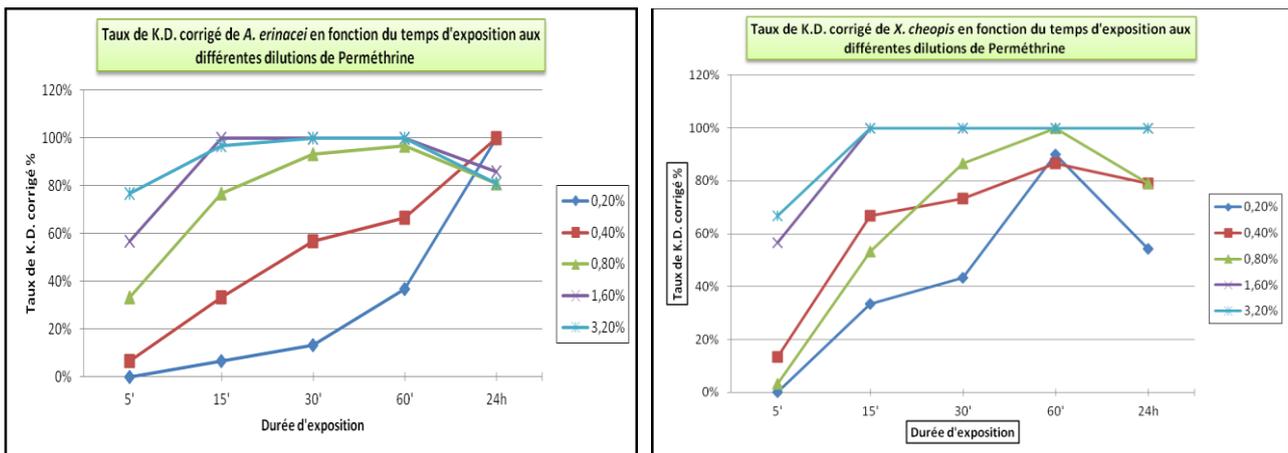


Figure 59 ► Evaluation du taux de K.D. corrigé de *X. cheopis* et *A. erinacei* en fonction du temps d'exposition aux différentes dilutions de Perméthrine.

Nous avons remarqué après la correction des taux de K.D. chez *Archaeopsylla erinacei*, que la tendance des courbes reste la même que pour les taux de K.D. non corrigés. En effet, le taux de K.D. atteint les 100% dès 15 minutes d'exposition à la dilution 1,6% ; par contre il a fallu attendre 30 minutes avant d'observer 100% de K.D. chez les puces exposées à la dilution 3,2%. Tandis que, les deux doses les plus faibles (0,2% et 0,4%) semblent au départ être celles qui ont le moins d'effet sur les puces. Entre 1h et 24h les doses les plus efficaces, entraînant un taux de K.D. de 100% semblent finalement être les deux doses les plus faibles (0,2% et 0,4%). En effet, à partir d'1h nous

avons remarqué une diminution du taux de K.D. pour les trois concentrations les plus fortes (0,8%, 1,6% et 3,2%), traduisant une réversibilité de l'effet K.D.

Nous avons remarqué après la correction des taux de K.D. chez *Xenopsylla cheopis*, que la tendance des courbes reste la même. En effet, le taux de K.D. atteint les 100% dès 15 minutes chez les puces exposées aux dilutions 1,6% et 3,2%. La dilution 0,8% donne un taux de K.D. de 100% au bout de 1 heure. Cependant quelques particularités ont été relevées lors de ce test : en effet, entre 5 et 15 min, la dilution 0,4% semble avoir une meilleure activité insecticide que la 0,8%, et à 1h d'exposition la dilution 0,2% semble avoir une meilleure activité insecticide que la dilution 0,4%. Après la période de mise en observation entre 1h et 24h, nous avons noté une diminution de l'effet K.D. pour les dilutions 0,2%, 0,4% et 0,8%. Alors que les doses les plus concentrées (1,6% et 3,2%) semblent garder leur efficacité avec 100% de K.D.

2). Taux de K.D. corrigé des puces exposées à la Deltaméthrine :

Les résultats de l'effet K.D. corrigé des différentes dilutions de Deltaméthrine (0,05%, 0,10%, 0,20%, 0,40%, 0,80% et 1,6%) sur les puces d'espèce *A. erinacei*, après une exposition de 1h et mise en observation pendant 24h, sont représentés dans le graphique de la **figure 60** :

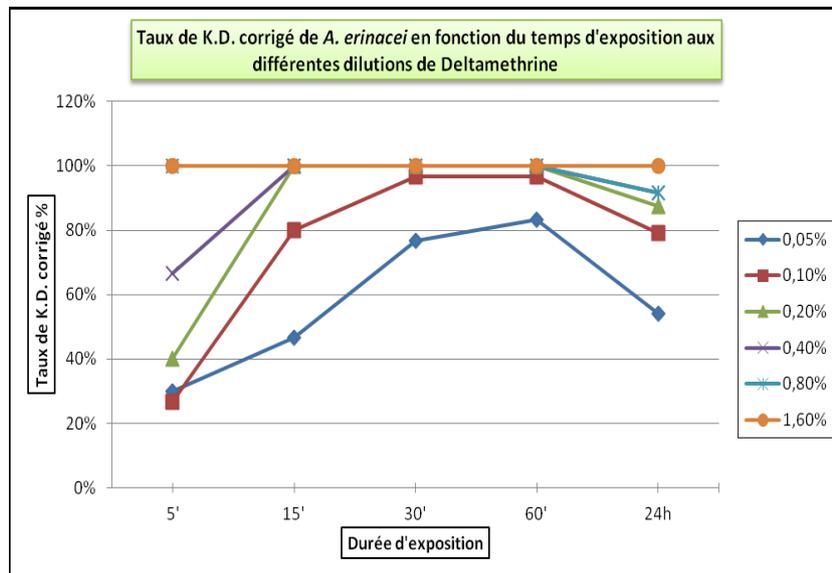


Figure 60 ► Evaluation du taux de K.D. corrigé de *A. erinacei* en fonction du temps d'exposition aux différentes dilutions de Deltaméthrine.

Lors de l'exposition de *Archaeopsylla erinacei* à la Deltaméthrine, nous avons remarqué dès 5 min, un taux de K.D. de 100% pour les deux dilutions les plus concentrées (1,6% et 0,8%). Les dilutions 0,4% et 0,2% donnent 100% de K.D. au bout de 15 min. Entre 1h et 24h nous avons remarqué une diminution du taux de K.D. pour toutes les dilutions excepté la 1,6%.

Le taux de K.D. vis-à-vis de la Deltaméthrine n'a pas eu besoin d'être corrigé pour *X. cheopis* étant donné qu'il n'y a pas eu de mortalité des témoins lors de la réalisation de ce test.

III-1-3. Taux de mortalité réelle :

Dans cette partie, ce ne sont que les puces complètement immobiles (qui semblent mortes) suite à une exposition à l'insecticide qui seront prises en compte.

III-1-3-1. Taux de mortalité réelle des puces en fonction du temps d'exposition aux différentes dilutions d'insecticides testés :

1). Taux de mortalité réelle des puces exposées à la Perméthrine :

Les résultats de la mortalité réelle des puces *A. erinacei* et *X. cheopis*, après une exposition de 1h et mise en observation pendant 24h aux différentes dilutions de **Perméthrine** (0,20%, 0,40%, 0,80%, 1,6% et 3,2%) sont représentés dans les deux graphiques de la **figure 61** :

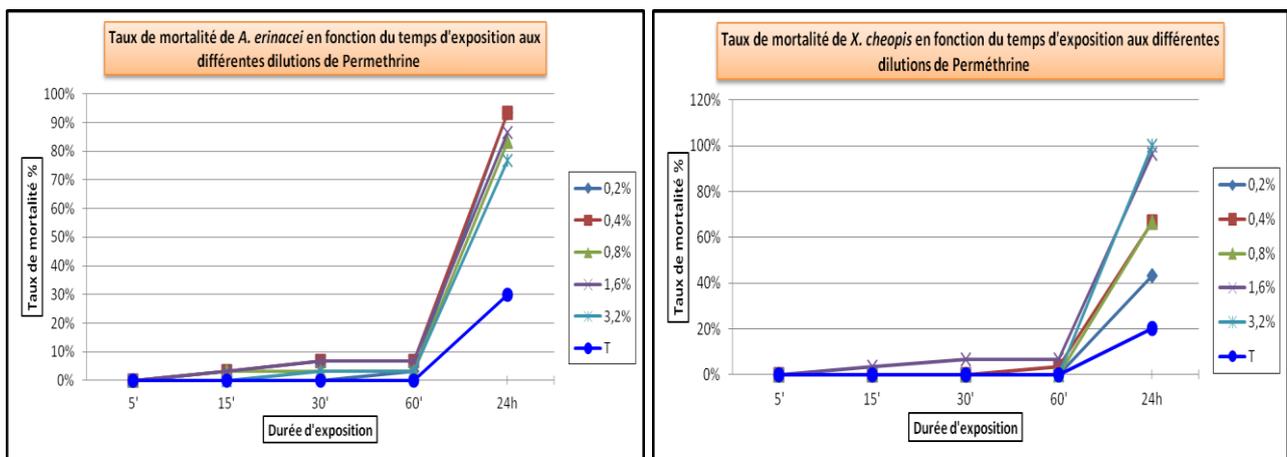


Figure 61 ► Evaluation du taux de mortalité réel de *X. cheopis* et *A. erinacei* en fonction du temps d'exposition aux différentes dilutions de Perméthrine.

Nous avons remarqué lors de l'exposition de *Archaeopsylla erinacei* à la Perméthrine, qu'entre 5 min et 1h, le taux de mortalité ne dépasse pas les 10%, et cela pour toutes les dilutions. Cependant nous avons noté une augmentation importante et soudaine de la mortalité entre 1h et 24h. En revanche, aucune dilution ne donne un taux de mortalité de 100%. Par ailleurs, nous avons relevé une particularité lors de ce test, les dilutions 0,4% et 0,2% sont celles qui provoquent le plus de mortalité, comparé aux autres dilutions qui sont plus concentrées.

Une mortalité importante a été observée chez les témoins (30%) à 24h.

Lors de l'exposition de *Xenopsylla cheopis* à cet insecticide nous avons remarqué qu'entre 5 min et 1h, le taux de mortalité ne dépasse pas non plus les 10%, et cela pour toutes les dilutions. Cependant nous avons noté une augmentation importante et soudaine de la mortalité entre 1h et 24h. En revanche, seule la dilution la plus concentrée (3,2%) donne un taux de mortalité de 100%. On note également une mortalité acceptable chez les témoins (20%) à 24 h.

2). Taux de mortalité réelle des puces exposées à la Deltaméthrine :

Les résultats de la mortalité réelle des puces *A. erinacei* et *X. cheopis*, après une exposition de 1h et mise en observation pendant 24h aux différentes dilutions de **Deltaméthrine** (0,05%, 0,10%, 0,20%, 0,40%, 0,80% et 1,6%), sont représentés dans les deux graphiques de la **figure 62** :

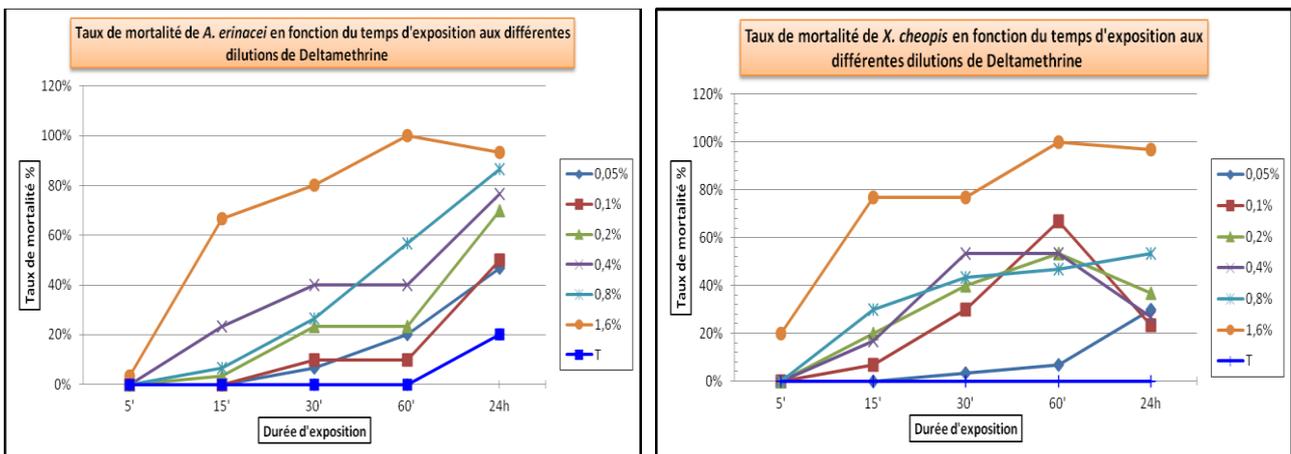


Figure 62 ► Evaluation du taux de mortalité réelle de *X. cheopis* et *A. erinacei* en fonction du temps d'exposition aux différentes dilutions de Deltaméthrine.

Nous avons remarqué lors de l'exposition de *Archaeopsylla erinacei* à la Deltaméthrine, que la dilution la plus concentrée (1,6%) se distingue nettement des autres dilutions elle semble la plus

efficace car elle est la seule à provoquer un taux de mortalité de 100% et cela au bout d'1h d'exposition, cependant, elle est aussi la seule pour laquelle on observe une diminution du taux de mortalité (dissipation de l'effet K.D.) entre 1h et 24h. Au bout de 24h (à la fin du test) aucune dilution ne donne un taux de mortalité de 100%.

Par ailleurs, nous avons relevé une particularité lors de ce test, après 1h d'exposition, la dilution 0,05% donne un taux de mortalité plus élevé que celui provoqué par la dilution 0,1% qui est pourtant la plus concentrée des deux. La dilution 0,4% donne elle aussi un taux de mortalité plus important, entre 5min et 30min, comparé à la dilution 0,8% qui est pourtant plus concentrée. Nous avons également noté une mortalité acceptable chez les témoins (20%) à 24h.

Lors de l'exposition de *Xenopsylla cheopis* à cet insecticide nous avons remarqué que la dilution la plus concentrée (1,6%) se distingue nettement des autres dilutions, elle semble la plus efficace car elle est la seule à provoquer un taux de mortalité de 100% et cela au bout de 1h d'exposition, cependant nous avons observé une légère diminution du taux de mortalité (dissipation de l'effet K.D.) à 24h. Une récupération est également notée entre 1h et 24h pour les dilutions 0,1%, 0,2% et 0,4%. Nous avons remarqué aussi une particularité pour la dilution 0,1% qui au bout de 1h donne un taux de mortalité plus important que les dilutions 0,2% à 0,8% qui sont pourtant plus concentrées. Lors de ce test, aucune mortalité n'a été observée dans le lot témoin.

III-1-3-2. Taux de mortalité réelle corrigé des puces en fonction du temps d'exposition aux différentes dilutions d'insecticides testés :

1). Taux de mortalité réelle corrigé des puces exposées de la Permethrine :

Les résultats corrigés de la mortalité réelle des puces *A. erinacei* et *X. cheopis*, après une exposition de 1h et mise en observation pendant 24h aux différentes dilutions de **Permethrine** (0,20%, 0,40%, 0,80%, 1,6% et 3,2%), sont représentés dans les deux graphiques de la **figure 63** :

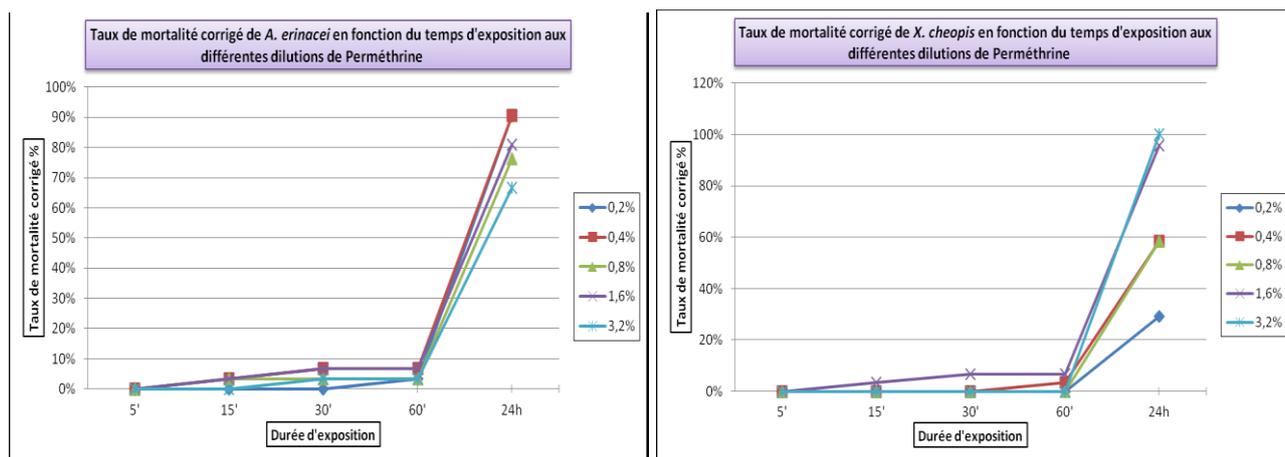


Figure 63 ► Evaluation du taux de mortalité réelle corrigé de *X. cheopis* et *A. erinacei* en fonction du temps d'exposition aux différentes dilutions de Permethrine.

Nous avons remarqué après la correction des taux de K.D. chez *Archaeopsylla erinacei*, que la tendance des courbes reste la même que pour les taux de K.D. non corrigés. En effet, entre 5 min et 1h, le taux de mortalité ne dépasse pas les 10%, et cela pour toutes les dilutions. Cependant nous avons noté une augmentation importante et soudaine de la mortalité entre 1h et 24h. En revanche, aucune dilution ne donne un taux de mortalité de 100%. Par ailleurs, nous avons relevé une particularité lors de ce test, les dilutions 0,4% et 0,2% sont celles qui provoquent le plus de mortalité, comparé aux autres dilutions qui sont plus concentrées.

Nous avons également remarqué après la correction des taux de K.D. chez *Xenopsylla cheopis*, que la tendance des courbes reste la même. En effet, entre 5 min et 1h, le taux de mortalité ne dépasse pas non plus les 10%, et cela pour toutes les dilutions. Cependant nous avons noté une augmentation importante et soudaine de la mortalité entre 1h et 24h. En revanche, seule la dilution la plus concentrée (3,2%) donne un taux de mortalité de 100%.

2). Taux de mortalité réelle corrigé des puces exposées à la Deltaméthrine :

Les résultats corrigés de la mortalité réelle des puces d'espèce *A. erinacei* et *X. cheopis*, après une exposition de 1h et mise en observation pendant 24h aux différentes dilutions de **Deltaméthrine** (0,05%, 0,10%, 0,20%, 0,40%, 0,80% et 1,6%), sont représentés dans les deux graphiques de la **figure 64** :

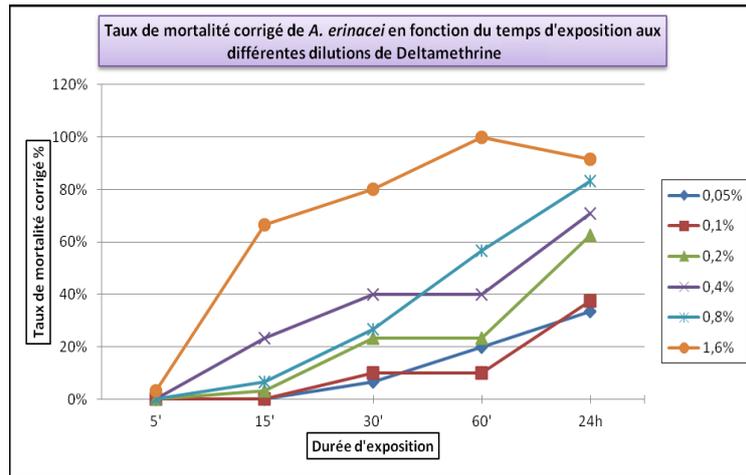


Figure 64 ► Evaluation du taux de mortalité réelle corrigé de *A. erinacei* en fonction du temps d'exposition aux différentes dilutions de Deltaméthrine.

Nous avons remarqué après la correction des taux de K.D. chez *Archaeopsylla erinacei*, que la tendance des courbes reste la même que pour les taux de K.D. non corrigés. En effet, la dilution la plus concentrée (1,6%) se distingue nettement des autres dilutions elle semble la plus efficace car elle est la seule à provoquer un taux de mortalité de 100% et cela au bout d'1h d'exposition, cependant, elle est aussi la seule pour laquelle on observe une diminution du taux de mortalité (dissipation de l'effet K.D.) entre 1h et 24h. Au bout de 24h (à la fin du test) aucune dilution ne donne un taux de mortalité de 100%.

Par ailleurs, nous avons relevé une particularité lors de ce test, après 1h d'exposition, la dilution 0,05% donne un taux de mortalité plus élevé que celui provoqué par la dilution 0,1% qui est pourtant la plus concentrée des deux. La dilution 0,4% donne elle aussi un taux de mortalité plus important, entre 5min et 30min, comparé à la dilution 0,8% qui est pourtant plus concentrée.

Le taux de mortalité vis-à-vis de la Deltaméthrine n'a pas eu besoin d'être corrigé pour *X. cheopis* étant donné qu'il n'y a pas eu de mortalité des témoins lors de la réalisation de ce test.

III-1-4. Estimation de la sensibilité des puces aux insecticides testés :

Selon les critères de signification de l'OMS, lorsque le pourcentage de mortalité des puces est strictement inférieure à 80%, la puce est dite résistante « R » à l'insecticide testé, par contre, si ce pourcentage est compris entre 80% et 97%, la puce est dite tolérantes « T », s'il est évalué à plus de 98%, la puce est dite sensible « S » à l'insecticide testé.

Si on interprète les résultats obtenus en prenant en considération les critères de signification fournis par l'OMS, on obtient les résultats résumés dans les **tableaux III** et **IV**.

Tableau III ► Interprétation des résultats liés au taux de K.D. après 1h d'exposition et 24h de récupération. (Résistant (R) si mortalité < 80% ; Tolérant (T) si mortalité entre 80% et 97% ; Sensible (S) si mortalité > 98%).

Espèce	Insecticide	Dilution	Après 1h d'exposition		Après 24h	
			Taux de K.D.	Résultat	Taux de K.D.	Résultat
<i>X. cheopis</i>	Deltaméthrine (Alphythrine®)	0,05%	67,67%	R	56,67%	R
		0,1%	100%	S	66,67%	R
		0,2%	100%	S	76,67%	R
		0,4%	100%	S	66,67%	R
		0,8%	100%	S	90,00%	T
		1,6%	100%	S	100%	S
	Perméthrine	0,2%	90%	T	54,16%	R
		0,4%	86,67%	T	79,16%	R
		0,8%	100%	S	79,16%	R
		1,6%	100%	S	100%	S
3,2%		100%	S	100%	S	
<i>A. erinacei</i>	Deltaméthrine (Alphythrine®)	0,05%	83,33%	T	54,16%	R
		0,1%	96,67%	T	79,16%	R
		0,2%	100%	S	87,50%	T
		0,4%	100%	S	91,66%	T
		0,8%	100%	S	91,66%	T
		1,6%	100%	S	100%	S
	Perméthrine	0,2%	36,67%	R	100,00%	S
		0,4%	66,67%	R	100,00%	S
		0,8%	96,67%	T	80,96%	T
		1,6%	100,00%	S	85,71%	T
3,2%		100,00%	S	80,96%	T	

Après 1heure d'exposition à la **Deltaméthrine**, l'espèce *Xenopsylla cheopis* semble sensible sauf pour la dilution la plus faible 0,05%. Après 24 heures nous avons remarqué une dissipation de l'effet K.D. et les puces sont devenues résistantes aux dilutions allant de 0,05% à 0,4% et tolérantes à la dilution 0,8%.

Après 1heure d'exposition à la **Perméthrine**, les puces semblent tolérantes aux dilutions les moins concentrées (0,2% et 0,4%) et sensibles au reste des dilutions. Après 24 heures nous avons remarqué une dissipation de l'effet K.D. et les puces sont devenues résistantes aux dilutions allant de 0,05% à 0,8% et restent sensibles aux deux dernières dilutions.

Après 1heure d'exposition à la **Deltaméthrine** on remarque que les puces *Archaeopsylla erinacei* sont tolérantes aux dilutions les plus faibles (0,05% et 0,1%) et sensibles au reste des dilutions. Après 24 heures nous avons remarqué une dissipation de l'effet K.D. et les puces deviennent résistantes aux dilutions 0,05% et 0,1% et tolérantes aux dilutions 0,2%, 0,4% et 0,8%, mais elles restent sensibles à la dilution la plus concentrée (1,6%).

Après 1heure d'exposition à la **Perméthrine**, nous avons relevé une résistance aux dilutions 0,2% et 0,4% et une tolérance à la dilution 0,8%. Après 24 heures nous avons remarqué une dissipation de l'effet K.D. et les puces sont devenues tolérantes aux dilutions les plus concentrées allant de 0,8% à 3,2%.

Tableau IV ► Interprétation des résultats liés au taux de mortalité réelle après 1h d'exposition et 24h de récupération. (Résistant (R) si mortalité < 80% ; Tolérant (T) si mortalité entre 80% et 97% ; Sensible (S) si mortalité > 98%).

Espèce	Insecticide	Dilution	Après 1h d'exposition		Après 24h	
			Taux de mortalité	Résultat	Taux de mortalité	Résultat
<i>X. cheopis</i>	Deltaméthrine (Alphythrine®)	0,05%	6,67%	R	30%	R
		0,1%	66,67%	R	23,33%	R
		0,2%	53,33%	R	36,67%	R
		0,4%	53,33%	R	26,67%	R
		0,8%	46,67%	R	53,33%	R
		1,6%	100%	S	96,67%	T
	Perméthrine	0,2%	0%	R	29,16%	R
		0,4%	3,33%	R	58,34%	R
		0,8%	0%	R	58,34%	R
		1,6%	6,67%	R	95,84%	T
3,2%		0%	R	100%	S	

Tableau IV ► (Suite)

<i>A. erinacei</i>	Deltaméthrine (Alphythrine®)	0,05%	20%	R	33,34%	R
		0,1%	10%	R	37,50%	R
		0,2%	23,33%	R	62,50%	R
		0,4%	40%	R	70,84%	R
		0,8%	56,67%	R	83,34%	T
		1,6%	100%	S	91,66%	T
	Perméthrine	0,2%	3,33%	R	90,47%	T
		0,4%	6,67%	R	90,47%	T
		0,8%	3,33%	R	76,19%	R
		1,6%	6,67%	R	80,96%	T
		3,2%	3,33%	R	66,67%	R

Après 1 heure d'exposition à la **Deltaméthrine**, l'espèce *Xenopsylla cheopis* semble résistante à toutes les dilutions allant de 0,05% à 0,8% quelque soit le temps d'exposition avec en plus une dissipation de l'effet K.D. Elle est cependant sensible à la dilution la plus concentrée (1,6%), mais nous avons remarqué une dissipation de l'effet K.D. et la puce devient tolérante.

Après 1 heure d'exposition à la **Perméthrine**, les puces semblent résistantes à toutes les dilutions. Après 24 heures on remarque que les puces deviennent tolérantes à la dilution 1,6% et sensibles à la dilution 3,2%, et restent résistantes aux autres dilutions.

Après 1 heure d'exposition à la **Deltaméthrine**, *Archaeopsylla erinacei* semble résistante à la majorité des dilutions testées (de 0,05% à 0,8%) cependant elles sont sensibles à la dilution 1,6% qui est la plus concentrée. Après 24 heures elles restent résistantes aux dilutions allant de 0,05% à 0,4%, et sont devenues tolérantes à la dilution 0,8% et 1,6%, et nous avons remarqué une dissipation de l'effet K.D. vis-à-vis de cette dernière dilution.

Après 1 heure d'exposition à la **Perméthrine**, les puces semblent résistantes à toutes les dilutions. Après 24 heures les puces deviennent tolérantes aux dilutions 0,2%, 0,4% et 1,6% et elles restent résistantes aux dilutions 0,8% et 3,2%, cette dernière est la plus concentrée et sensée être la plus efficace.

III-1-5. Toxicité des insecticides :

III-1-5-1. Le test de DUNNETT :

Etant donné qu'il n'existe pas de souche de puce standard à laquelle nos résultats pourront être comparés, nous nous sommes intéressés à la toxicité des produits testés vis-à-vis des puces.

Le calcul des taux de Population Résiduelle (P.R.) nous renseigne sur la toxicité du produit par rapport aux puces.

1). Taux des Populations résiduelles « P.R. » en fonction du temps d'exposition aux différentes dilutions de Perméthrine :

Les résultats de taux de P.R. des différentes dilutions de **Perméthrine** (0,20%, 0,40%, 0,80%, 1,6% et 3,2%) sur les puces *A. erinacei* et *X. cheopis*, après une exposition de 1h et mise en observation pendant 24h, sont représentés dans les deux graphiques de la **figure 65** :

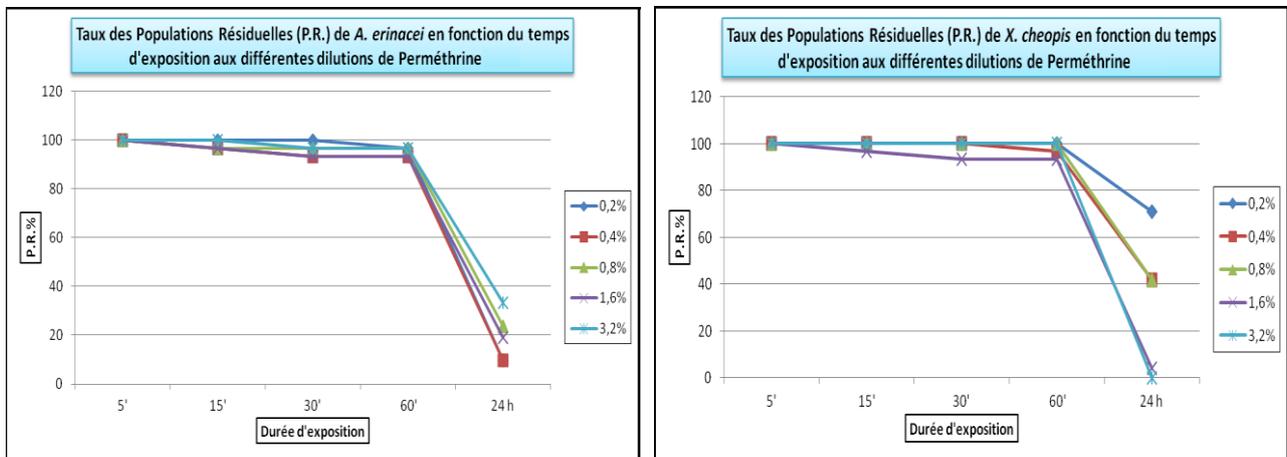


Figure 65 ► Evaluation du taux de P.R. de *X. cheopis* et *A. erinacei* en fonction du temps d'exposition aux différentes dilutions de Perméthrine.

Pour les deux espèces de puces testées la Perméthrine semble faiblement toxique entre 5minutes et 1heure d'exposition, cependant les pourcentages des populations résiduelles diminuent nettement entre 1h et 24 h. En effet, la Perméthrine semble toxique aux dilutions 3,2% et 1,6% sur l'espèce *X. cheopis*. Pour l'espèce *A. erinacei* nous avons remarqué que toutes les dilutions sont toxiques sauf

la plus concentrée (3,2 %) qui semblent moyennement toxique, et c'est la dilution 0,4% qui semble la plus efficace sur cette espèce.

2). Taux de populations résiduelles en fonction du temps d'exposition aux différentes dilutions de Deltaméthrine :

Les résultats du taux de P.R. des différentes dilutions de **Deltaméthrine** (0,05%, 0,10%, 0,20%, 0,40%, 0,80% et 1,6%) sur les puces *A. erinacei* et *X. cheopis*, après une exposition de 1h et mise en observation pendant 24h, sont représentés dans les deux graphiques de la **figure 66** :

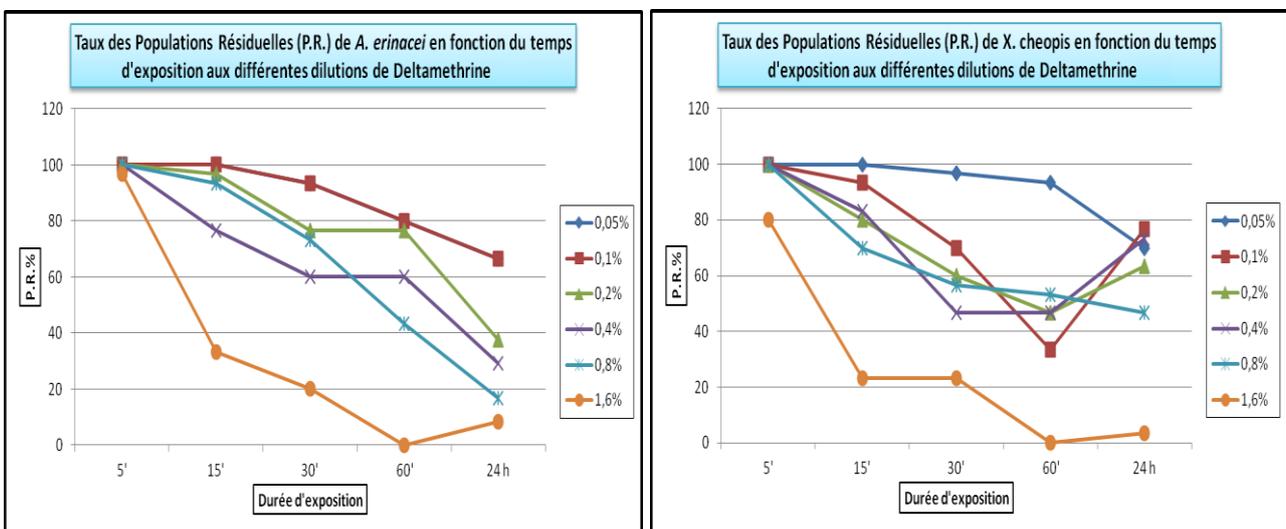


Figure 66 ► Evaluation du taux de P.R. de *X. cheopis* et *A. erinacei* en fonction du temps d'exposition aux différentes dilutions de Perméthrine.

Globalement, le pourcentage de formes mobiles de *A. erinacei* semble diminuer nettement pour toutes les dilutions, toute fois seules les dilutions 1,6% et 0,8% semblent toxiques. La dose 1,6% semble la plus efficace, cependant nous avons noté une dissipation de l'effet K.D. entre 1h et 24 h. Pour *X. cheopis* on remarque également que c'est la dose 1,6% qui semble la plus efficace car c'est la seule à être toxique. Nous avons relevé une dissipation de l'effet K.D. pour toutes les dilutions sauf pour la 0,05% et la 0,8%.

III-1-5-2. Analyses de variance (SYSTAT vers.7, SPSS 2009) :

La significativité des résultats a été testée par une analyse de variance (Les valeurs de P inférieures à 0,05 sont considérées comme significatives). Celle-ci nous permettra entre autre de déterminer s'il existe une différence significative entre l'efficacité des deux insecticides (la Permethrine et la Deltaméthrine) et aussi de vérifier s'il existe une différence de sensibilité entre les deux espèces de puce (*Archaeopsylla erinacei* et *Xenopsylla cheopis*) vis-à-vis du même insecticide.

1). Analyse de variance GLM (Le Modèle Linéaire Généralisé) :

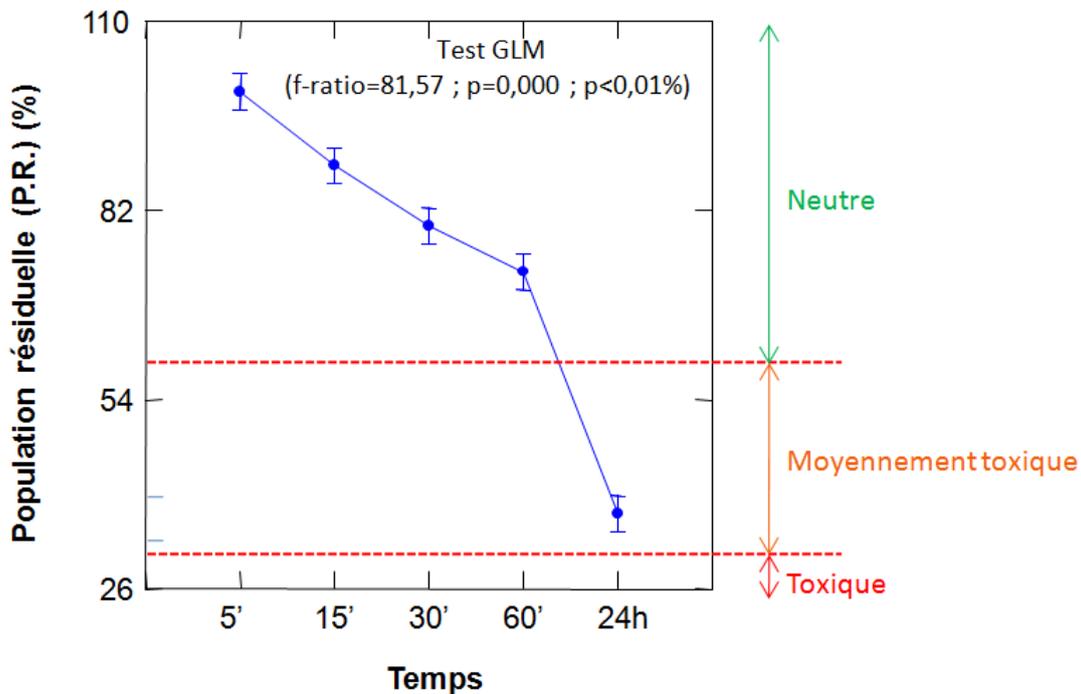


Figure 67 ► Variabilité temporelle des populations résiduelles des puces après application des insecticides.

Le temps d'exposition aux insecticides a un effet hautement significatif ($P=0,000$) sur l'évolution du taux de population résiduelle (**Figure 67**). En effet celui-ci diminue nettement avec le temps. Cependant, d'une manière générale les insecticides testés semblent neutres entre 5min et 1h pour devenir moyennement toxiques entre 1h et 24h.

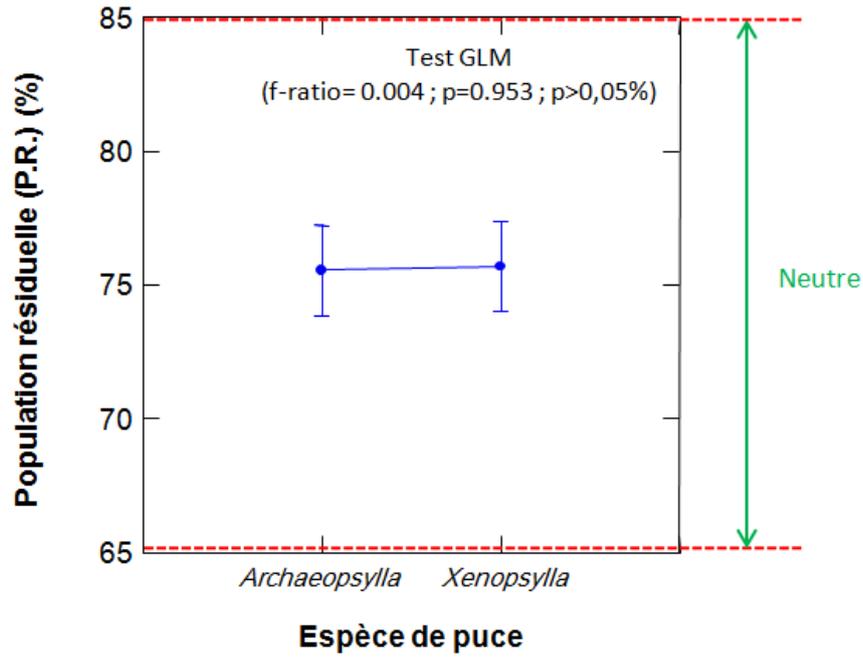


Figure 68 ► Variabilité des populations résiduelles après application des insecticides en fonction de l'espèce.

Les deux espèces de puces (*A. erinacei* et *X. cheopis*) réagissent de manière presque identique aux insecticides testés. Le facteur espèce n'influe donc pas de manière significative sur l'évolution du taux de P.R. Les insecticides semblent neutres sur les deux espèces de puces.

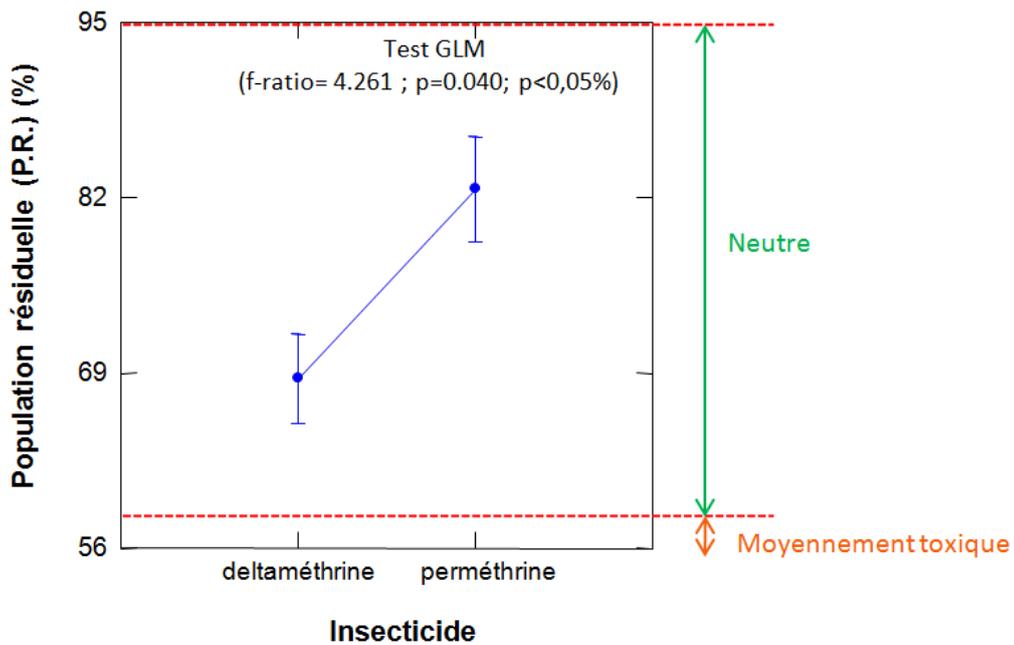


Figure 69 ► Variabilité des populations résiduelles en fonction de la molécule insecticide.

Il y a une différence significative entre l'efficacité des deux insecticides testés. La Perméthrine. Semble avoir une activité insecticide plus faible que celle de la Deltaméthrine. Toutefois les deux molécules sont considérées comme faiblement toxiques pour les puces.

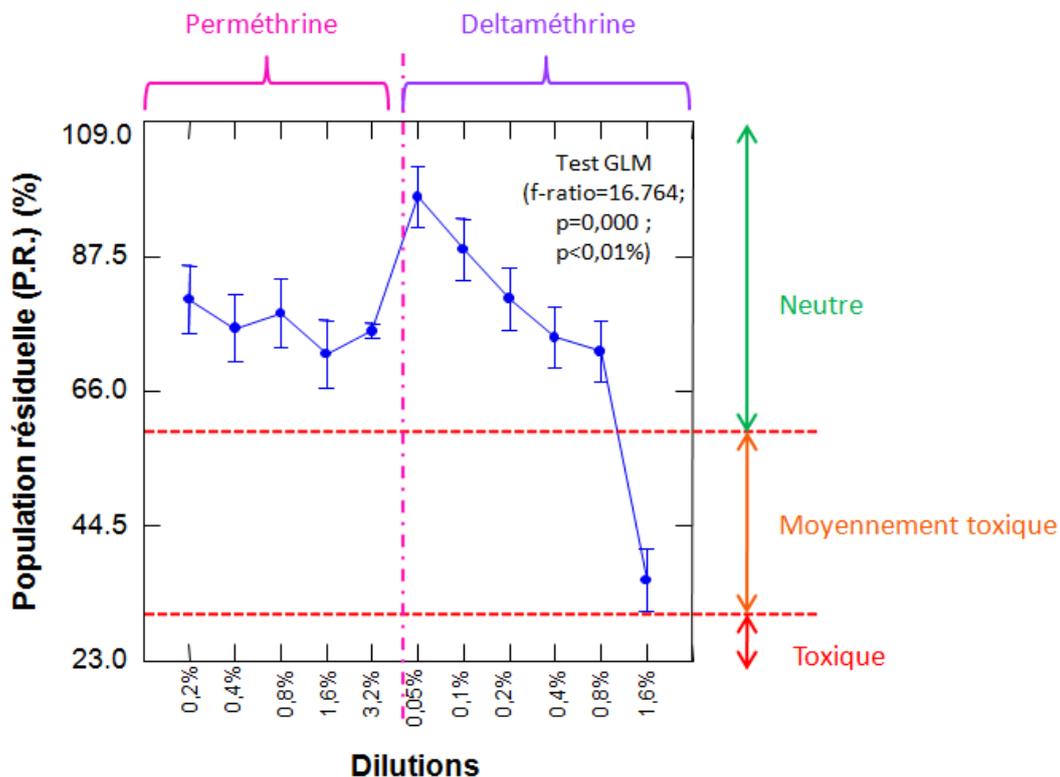


Figure 70 ► Variabilité des P.R. en fonction des différentes dilutions des deux insecticides.

Il y a une différence hautement significative entre l'efficacité des différentes dilutions testées pour les deux insecticides sur la variation du taux de population résiduelle.

Pour la **Deltaméthrine** il apparaît clairement que plus la concentration est élevée plus le taux de population résiduelle diminue. Cette molécule semble avoir une faible activité insecticide aux dilutions allant de 0,05% à 0,8%, seule la dilution 1,6% paraît moyennement toxique sur les puces testées.

La **Perméthrine** quant à elle reste neutre quelque soit la dose utilisée. On remarque aussi que la dilution 0,4% est plus efficace que la 0,8% et que la dilution 1,6% semble plus efficace que la 3,2%. Il ressort de cette analyse que, parmi toutes les dilutions testées pour les deux insecticides confondus c'est la dilution 1,6% de la Deltaméthrine qui semble la plus efficace.

2). Analyse de variance (ANOVA) Matière active (Insecticide/Temps) :

F-ratio = 21.195 ; P= 0.000 ; p < 0,01%.

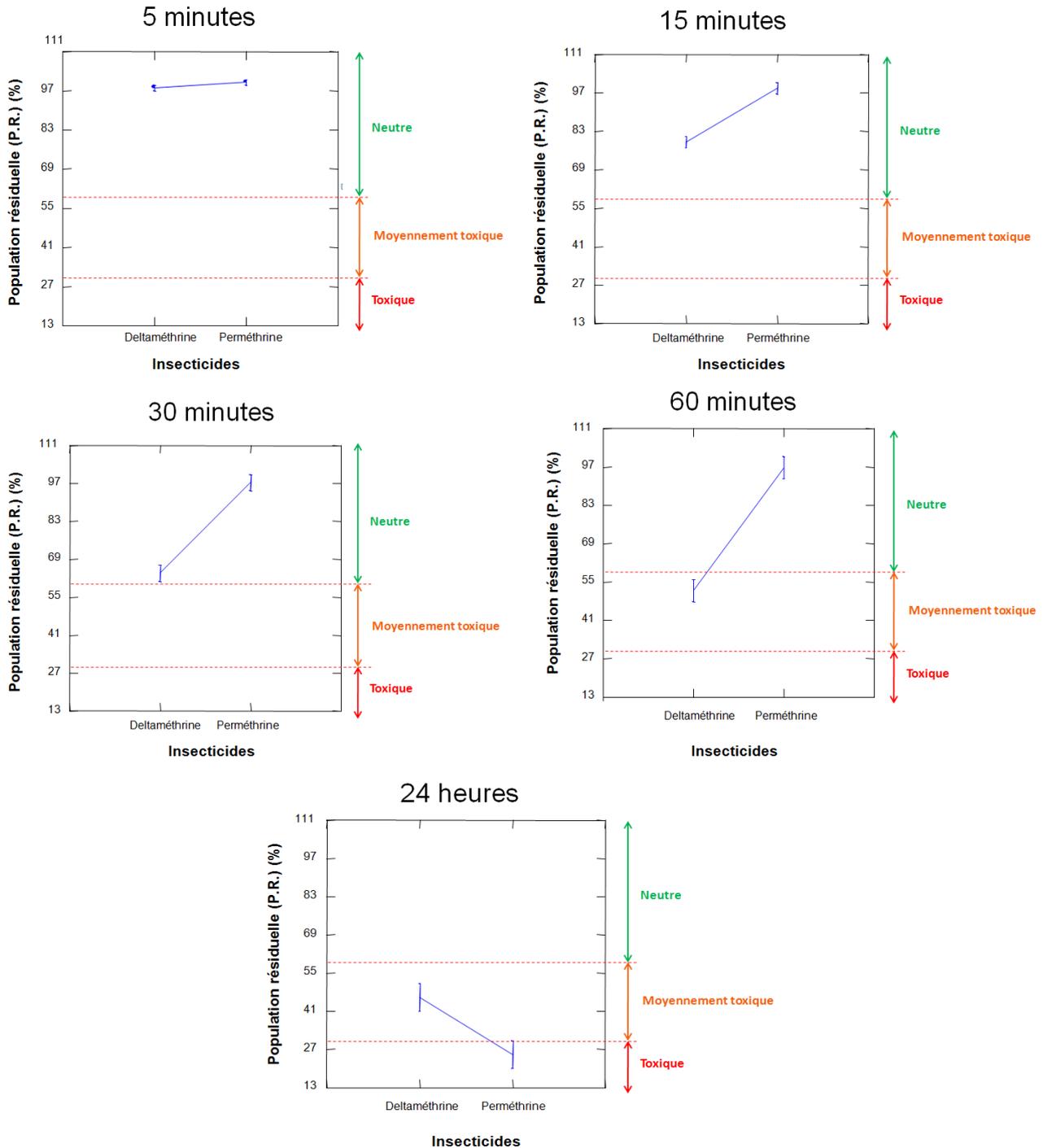


Figure 71 ► Variabilité temporelle des populations résiduelles des puces après application des insecticides.

En considérant l'interaction insecticide-temps (ANOVA, $p=0,00 > 5\%$), nous remarquons que l'effet de la Deltaméthrine est nettement différent de celui de la Perméthrine.

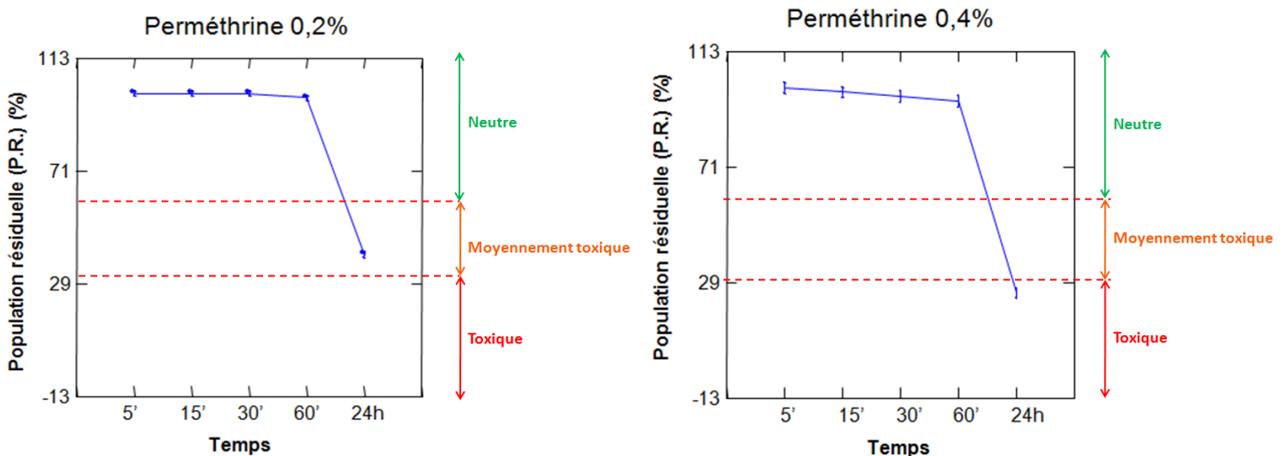
Après 5 minutes d'exposition les deux insecticides semblent avoir presque le même effet sur les puces cependant, la Deltaméthrine semble légèrement plus efficace. A 15 minutes la Deltaméthrine semble nettement plus efficace que la Perméthrine. Et à 30 minutes la Perméthrine n'a toujours presque aucun effet et la Deltaméthrine semble de plus en plus efficace. Néanmoins, les deux insecticides restent neutres entre 5 et 30 minutes. Après 1 heure d'exposition la Perméthrine semble toujours n'avoir aucun effet et reste totalement neutre. Par contre, la Deltaméthrine devient moyennement toxique. Entre 1h et 24 heures, la Deltaméthrine continue à agir mais reste moyennement toxique. Par contre, la Perméthrine devient toxique et semble à ce moment là devenir plus efficace que la Deltaméthrine.

3). Analyse de variance (ANOVA) Matière active (Temps/Doses) :

F-ratio = 5.196 ; P= 0.000 ; $p < 0,01\%$

Elle permet d'estimer et de mettre en évidence l'influence de la concentration des insecticides testés sur le taux de PR (**Figure 72**).

- Perméthrine :



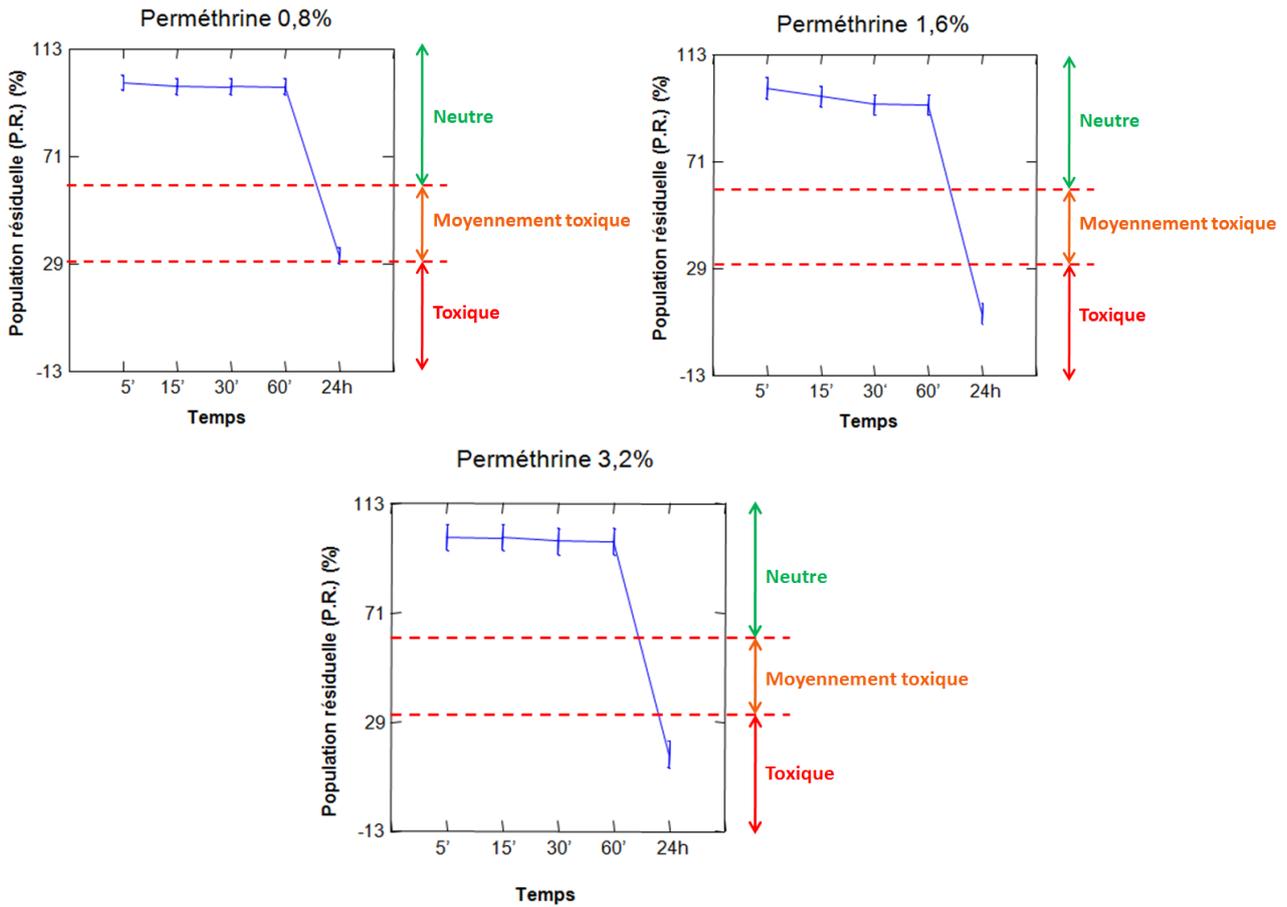


Figure 72 ► Réactions des puces aux différentes dilutions de Permethrine appliquées dans le temps.

Entre 5 minutes et 1 heure d'exposition, toutes les doses semblent agir de la même manière, en entraînant une variation extrêmement réduite du taux de P.R. Entre 1 heure et 24 heures le taux de P.R. diminue nettement pour toutes les dilutions, cependant, seules les doses 0,4%, 1,6% et 3,2% semblent toxiques pour les puces testées.

- Deltaméthrine :

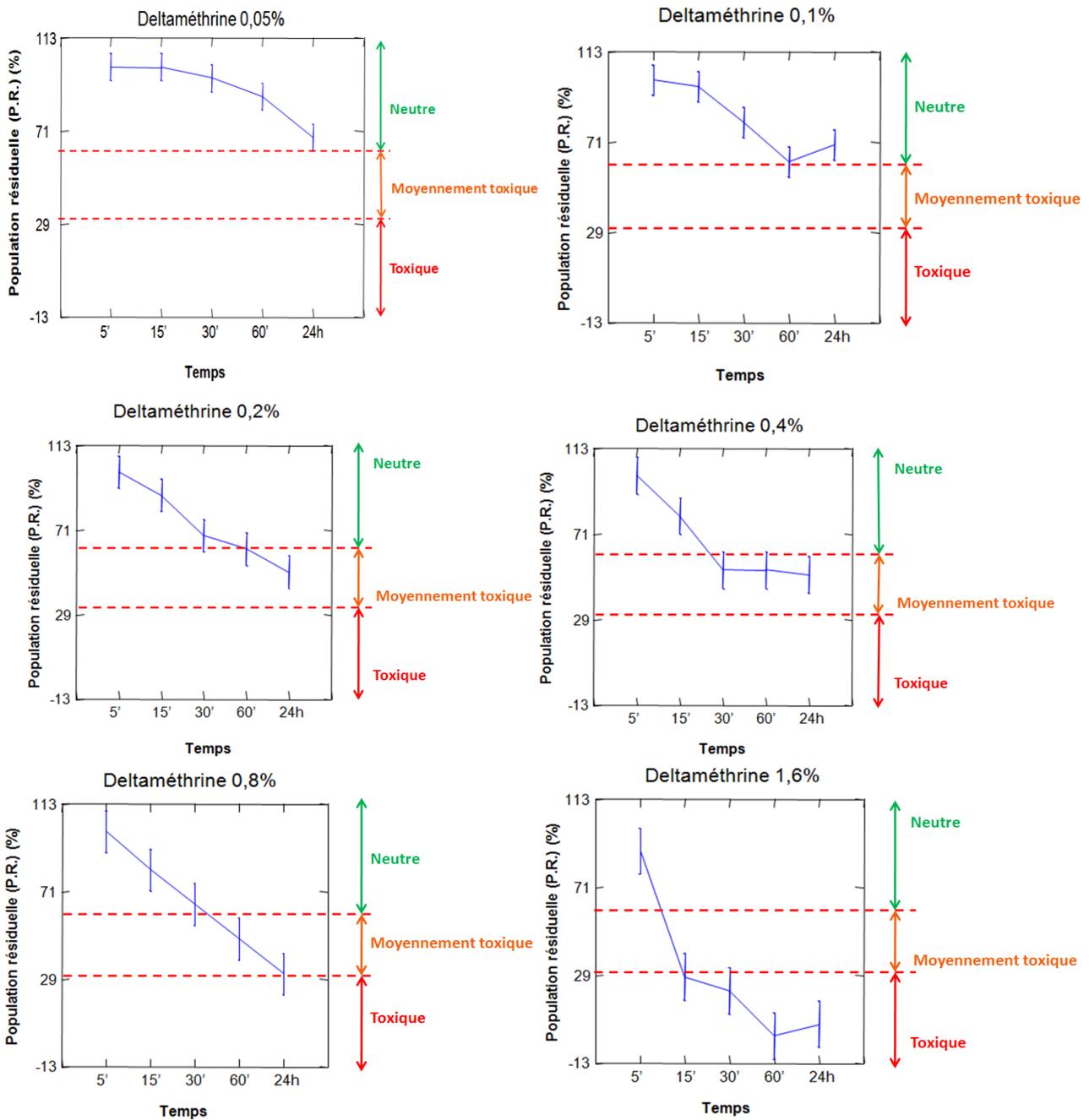


Figure 73 ► Réactions des puces aux différentes dilutions de Deltaméthrine appliquées dans le temps.

Le taux de P.R. évolue nettement en fonction du temps d'exposition et de la dilution. La dose 1,6% apparait clairement plus efficace que toutes les autres doses car elle est toxique pour les puces après seulement 15min d'exposition à la Deltaméthrine, c'est d'ailleurs la seule dose toxique.

III-2. Discussion :

III-2-1. Choix de la gamme de dilution et des manipulations des puces :

Lors de nos expérimentations nous avons suivi les recommandations de l'OMS. Cependant, en 1970 date de publication du protocole de l'OMS la Perméthrine et la Deltaméthrine n'existaient pas encore. Elles ont été créées respectivement en 1973 et en 1974 (**Ehrhardt, 2006**). Les dilutions à tester pour ces deux insecticides n'étaient donc pas connues. Dans la mesure où nous n'avons pas réussi à trouver un protocole plus récent, le choix des dilutions a donc été fait en prenant en considération les doses généralement utilisées dans les différentes études de sensibilité existantes sur les puces et les autres insectes (**Ratovonjato et al., 2000 (b)** ; **Ratovonjato et al., 2003** ; **Bassa et al., 2004** ; **Drali et al., 2012**).

Les solvants comme les supports sur lesquels les insecticides sont imprégnés sont très importants et donnent lieu à des résultats parfois bien différents (**Ehrhardt, 2006**) c'est pourquoi il serait intéressant de refaire ces expériences avec des solvants et des supports différents. Dans notre cas, l'eau distillée nous a servi de solvant et le papier WATTMAN de support pour la confection des bandelettes. Cependant, le support peut également être des morceaux de tissu (**Drali et al., 2012**) et les dilutions peuvent être préparées avec de l'acétone, de l'huile d'olive, ou du trichloréthylène. L'huile de silicone est la plus appropriée pour les dilutions de pyréthriinoïdes, mais aussi plus difficile à se procurer (**Ehrhardt, 2006**).

L'utilisation de tubes transparents permet une lecture précise des effets nerveux. La réalisation des tests dans les bocaux (ou des bacs) initialement, utilisés pour l'élevage, ne permettent pas d'identifier précisément le nombre de puces paralysés, ni d'observer les symptômes et notamment leur délai d'apparition. Il aurait fallu dans ce cas examiner la litière pour dénombrer les puces mortes ce qui représente un temps de travail important. Bien que cette méthode se rapproche plus des conditions de la nature (**Baltazard et Eftekhari, 1957**), elle reste plus difficile à mettre en œuvre.

Aucune étude visant à déterminer s'il y a une différence de sensibilité entre les puces des deux sexes n'a été réalisée jusqu'à présent. Les puces étant très mobiles, la distinction des sexes et la vérification de leur état de gorgement sont donc difficiles à l'œil nu. Il n'a donc pas été possible de tester les mâles et les femelles séparément. Il aurait fallu pour cela une observation sous loupe

binoculaire. Cependant, cette manipulation supplémentaire des puces prend non seulement beaucoup de temps mais pourrait également les fragiliser et conduire à une mort prématurée qui pourrait être attribuée à tort à l'effet de l'insecticide et fausser ainsi les résultats. Le nombre de lots a été limité à trois pour ne pas alourdir le test et pouvoir dénombrer les puces en respectant les temps d'exposition et pour que le test puisse être réalisé au cours d'une seule journée.

III-2-2. Exposition des puces aux insecticides :

III-2-2-1. Comportement des puces exposées aux insecticides :

Les molécules utilisées (la Perméthrine et la Deltaméthrine) ne semblent pas empêcher le contact des puces (*Archaeopsylla erinacei* et *Xenopsylla cheopis*) avec les bandelettes traitées. Elles ne paraissent donc pas avoir d'effet répulsif même aux dilutions les plus concentrées. Nous avons même pu constater chez plusieurs individus un mouvement des pièces buccales laissant supposer qu'ils tâtent la surface pour prendre le repas sanguin (ils tentent de piquer le papier imbibé). Ces puces prennent probablement la bandelette pour une proie. D'ailleurs la technique utilisée pour récupérer des puces dans un terrier de rongeur consiste à introduire un morceau de tissu blanc accroché sur un fil de fer et de le tirer doucement. Les puces le prennent pour une proie et sautent dessus et peuvent ainsi être sorties hors du terrier et être récupérées (**Duchemin et al., 2006**). Ce comportement laisse supposer que ces insecticides n'empêcheraient peut être pas les puces de prendre leur repas sanguin sur un hôte traité ce qui ne réduit pas le risque vectoriel. Cependant ce risque dépend de plusieurs paramètres notamment le temps de contact et la durée du repas sanguin et cela n'a pas pu être évalué lors de nos expérimentations.

Des phénomènes digestifs ont été observés à plusieurs reprises sur quelques puces traitées aux deux insecticides. En effet, nous avons remarqué des traces de sang sur les bandelettes et sur les parois des tubes, ce qui laisse supposer que les spasmes musculaires provoqués par les insecticides entraîneraient une régurgitation chez les puces gorgées. Ces observations ont également été faites lors d'une étude réalisée sur des mouches hématophages (**Petit, 2002**).

III-2-2-2. Taux de mortalité :

Après une courte phase de latence, les puces présentent une incoordination motrice d'intensité variable, suivie plus ou moins rapidement selon la dose d'une phase de décubitus latéral avec ou

sans mouvements des pattes. Ce qui est conforme à ce qui est décrit dans la littérature pour décrire l'effet des pyréthriinoïdes sur l'ensemble des arthropodes (Ehrhardt, 2006 ; Berrah, 2011). Une stimulation des puces entraîne souvent un retour d'activité et parfois un rétablissement en position normale pendant quelques minutes. Certaines puces récupèrent peu à peu leurs fonctions motrices, d'autres pas.

D'autre part, il y aurait des suppositions qui pourraient expliquer le fait que dans certains tests nous ayons obtenu des taux de mortalité moins élevés pour des doses plus concentrées par rapport aux moins concentrées. Les bandelettes les plus concentrées exerceraient peut être, dans certains cas, un effet répulsif contrairement aux dilutions les plus faibles ce qui fait que les puces auraient peut être passé plus de temps sur ces dernières et serraient par conséquent en contact prolongé avec l'insecticide.

L'étude réalisée sur *X. cheopis* par Ratovonjato et al., 2000 (b) ayant utilisé des temps d'exposition plus longs, ils ont pu calculer la DL₅₀ et la DL₉₀. Dans notre étude, étant donné que nous avons suivi le protocole préconisé par l'OMS, le temps d'exposition s'est limité à une heure, et ces doses (la DL₅₀ et la DL₉₀) n'ont donc pas pu être calculées, car le taux de mortalité final lors de cette période n'atteint pas les 100%.

Par ailleurs, il ne faut pas négliger le fait que ces tests aient été réalisés *in vitro*, les puces étaient donc emprisonnées dans des tubes à essai d'une surface réduite. Dans la nature, l'épandage de ces insecticides pourrait conduire à la fuite des puces ce qui peut représenter une résistance comportementale qui augmenterait le nombre de puces résistantes d'une manière non négligeable. Nous avons donc obtenu un taux de mortalité probablement nettement plus important que si les tests avaient été réalisés dans la nature. Le contact imposé par les conditions d'expérimentation n'est donc pas toujours représentatif du contact normal. Cependant, il est également variable dans les conditions naturelles.

Selon l'OMS (1970), toute épreuve au cours de laquelle la mortalité des témoins dépasse 20% doit être invalidée et recommencée. Lors d'une des épreuves nous avons noté une mortalité importante des témoins (30%), ce qui est bien supérieure aux 20% tolérés par l'OMS, cette mortalité a tout de même été corrigée par la formule d'ABBOTT, car nous avons choisi de ne pas invalider le test par manque de temps pour le refaire. Les facteurs pouvant être mis en causes sont nombreux, notamment la taille des tubes. Les manipulations des puces lors des tests ont été réalisées avec

précaution afin de ne pas occasionner de mortalité. Il n'a cependant pas été possible de supprimer ni réduire cette mortalité de façon constante. Ces observations représentent un biais dans nos expériences mais il est en défaveur de l'efficacité des produits et ne peut donc que nous faire sous-évaluer leur action. La proportion de puces mortes observées dans notre étude est donc peut-être majorée par ce biais.

III-2-2-3. Dissipation de l'effet K.D. :

Lors de la réalisation des tests insecticides pour les épreuves d'essai, nous avons remarqué que certaines puces réussissaient à survivre après 24 heures d'exposition à l'insecticide, il a été également remarqué que certaines puces retrouvaient un comportement normal après avoir été éloignées de l'insecticide, c'est ce qui nous a motivé (en plus des recommandations de l'OMS) à réaliser des tests de récupération dans la deuxième partie du travail.

Selon certains auteurs, l'effet **knock-down**, peut être réversible (**Beugnet, 2004 ; Simon, 2009**). Cela expliquerait la dissipation de l'effet K.D. remarquée pour les deux espèces de puces entre 1h et 24h (après éloignement de l'insecticide). Nous n'avons pas pu vérifier la significativité de cette dissipation, car l'analyse de variance n'a pas donné de résultats, cela est probablement dû au fait que le dénombrement des puces mortes n'a été fait qu'en deux points : le premier au bout de 1h et le deuxième au bout de 24h. Il aurait été certainement préférable de compter les puces mortes à des points intermédiaires, dans cet intervalle de temps (par exemple toutes les heures). Mais cela n'a pas été possible lors de notre étude.

Lors des tests d'essais, toutes les puces paralysées (qui ne bougeaient plus du tout) après 1heure d'exposition à l'insecticide ont été observées sous loupe binoculaire au grossissement x 40 et nous avons constaté qu'elles gardaient une activité respiratoire et digestive. Donc, même si elles semblaient mortes en apparence, elles étaient en réalité toujours vivantes mais paralysées par l'effet de l'insecticide, c'est ce qui pourrait expliquer le fait qu'elles peuvent parfois récupérer une activité quasi-normale après avoir été éloignées de ce dernier (**Simon, 2009**). Cependant pour une partie de ces puces l'effet paralysant est irréversible et conduit à la mort surtout pour les dilutions les plus concentrées. Toute fois, nous avons constaté lors de nos expérimentations que même pour les concentrations les plus fortes les puces pouvaient parfois se rétablir de leur paralysie. Dans l'environnement les puces paralysées étant soumises à la prédation elles ont généralement peu de chance de survivre.

Le fait de nourrir les puces après l'exposition aux insecticides pourrait, peut être, augmenter le taux de récupération en fournissant l'énergie nécessaire à la métabolisation du produit. Cependant aucune étude n'a été réalisée pour le prouver, néanmoins selon **Duchemin et al., 2006**, des puces continuellement nourries survivent plus longtemps et résistent mieux aux conditions environnementales.

III-2-3. Estimation de la sensibilité des puces aux différentes dilutions des insecticides testés :

Aucune étude sur la sensibilité des puces aux insecticides n'a été réalisée auparavant en Algérie, cette étude est donc la première en son genre. Et selon l'OMS (1970), quand l'épreuve aura été exécutée quatre (4) fois sur une même population de puces, nous disposerons normalement de données suffisantes pour l'étude de sensibilité. Nos tests seront considérés comme des épreuves préliminaires qui, associés à d'autres études subséquentes sur la même population de puces, permettront d'obtenir l'ordre de grandeur du degré de sensibilité de cette population de puces vis-à-vis de chaque insecticide à prendre en considération dans la suite des opérations. Toutefois, étant donné qu'il n'y a pas de standardisation ni de souche de référence (**Duchemin et al., 2006**), nous ne pouvons pas conclure avec certitude à une résistance et encore moins généraliser ces résultats à l'ensemble de la population de puces. Dans ce cas seule la biologie moléculaire pourrait transformer ces suppositions en certitudes.

Très peu d'études existent concernant les bio-essais d'insecticides sur les puces appartenant à l'espèce *Xenopsylla cheopis*. La seule étude que nous pouvons citer est celle qui a été faite par une équipe de l'Institut Pasteur de Madagascar (qui est une zone pestigène) (**Ratovonjato et al., 2000 (b)**). Par ailleurs, aucune étude n'a été faite dans ce sens sur *A. erinacei* qui reste une espèce de puce très peu étudiée. Etant donné que les pays occidentaux ne sont plus confrontés à la peste, la majeure partie des études sur la sensibilité des puces aux insecticides concernent *C. felis*, et portent sur des essais de produits directement sur les animaux (principalement chiens et chats) après infestation artificielle, comme c'est le cas de l'étude réalisée par **Simon en 2009**.

La résistance *in vitro* à cette catégorie d'insecticides a déjà été signalée dans d'autres régions du monde, comme cela a été le cas au Madagascar pour *Xenopsylla cheopis* vis-à-vis de la Deltaméthrine 0,025%. Cette même étude a également mis en évidence une tolérance de cette puce

à un autre pyréthrianoïde : la cyfluthrine 0,15% et une résistance au DDT 4%. Ces résistances ont été rapportées pour la première fois en 1998 (**Ratovonjato et al., 2000** (b)).

Une résistance aux pyréthrianoïdes liée à une mutation du gène Kdr a déjà été mise en évidence chez des souches de laboratoire appartenant à l'espèce *Ctenocephalides felis*, originaires des Etats-Unis, d'Allemagne et du Royaume Unis (**Bassa et al., 2004**). Cette mutation a été également mise en évidence chez d'autres insectes, notamment chez des poux de corps *Pediculus humanus corporis* collectés sur deux patients à Marseille en France (**Drali et al., 2012**).

Des tests de sensibilité *in vitro* ont également été réalisés sur d'autres insectes comme les moustiques, notamment au Madagascar sur *Anopheles arabiensis* et *An. funestus* qui se sont révélées généralement sensible aux pyréthrianoïdes (la perméthrine 0,250%) (**Ratovonjato et al., 2003**), et les mouches hématophages vis-à-vis de la Deltaméthrine à la réunion (**Ehrhardt, 2006**).

Il est envisageable que comme pour certaines espèces de diptères, les puces résistantes aient une prolificité et une capacité de survie inférieure à celle des puces sensibles ; la proportion des individus résistants pouvant ainsi diminuer au fil des générations, principalement lorsqu'elles sont en élevage, sous l'effet des conditions de laboratoire (espace restreint, température fixe, alimentation particulière) et que les pontes soient issues des femelles sensibles ce qui conduit à sous estimer le taux de puces résistantes dans la population d'origine. Par exemple, le suivi de la DL₅₀ pour une souche de *Musca domestica* multirésistante montre une disparition de la résistance à la perméthrine à partir de la 30^{ème} génération produite en insectarium (**Ehrhardt, 2006**). Si les puces réagissent de la même manière que ces diptères, il serait alors possible que nos puces d'élevage puissent constituer des souches de référence pour les études à venir. Mais pour vérifier cela, il faudrait réaliser des tests sur les générations successives pour les deux espèces (*A. erinacei* et *X. cheopis*). Il faut néanmoins prendre en considération le fait que parfois les gènes de résistance s'installent de façon définitive dans une population (**Ehrhardt, 2006**).

III-2-4. Effet toxique des insecticides :

III-2-4-1. L'estimation du taux de population résiduelle (P.R.) :

Il est important de signaler qu'il n'y a pas de souche de référence pour les puces qui permettrait de standardiser les données et à laquelle nous pourrions comparer nos résultats, ce qui fait qu'on s'est penché sur l'étude des populations résiduelles qui nous renseignent sur la toxicité du produit.

La Perméthrine n'a pas eu un comportement conforme au mode d'action connu de cette molécule, car selon ce qui est décrit dans la littérature, elle tue presque instantanément les insectes par effet choc neurotoxique (**Berrah, 2011**). Cependant, la Perméthrine utilisée dans nos tests était sous forme de microcapsules. Selon **Franc, 1994**, les microcapsules sont des capsules en polyamide ou en polyuréthane renfermant le principe actif et permettant ainsi d'augmenter sa stabilité à l'eau et à la lumière et de réguler son re-largage, puisqu'une faible partie du produit diffuse à travers la paroi. Elles peuvent selon leur taille (3 à 60 μ) être ingérées par l'insecte, ou bien se rompre à son contact et libérer tout le principe actif, ou encore s'accrocher aux soies de l'arthropode ou adhérer à son tégument et entraîner sa mort en libérant progressivement le principe actif. Les avantages des microcapsules sont leur faible toxicité comparativement au produit de départ, et une plus grande rémanence. Leurs inconvénients sont l'absence d'effet choc, et le fait que les variations de température peuvent modifier l'activité des formulations appliquées dans le milieu extérieur. Cela explique très bien le fait que lors de nos tests la Perméthrine n'a provoqué qu'une diminution très limitée du taux de P.R. entre 5 minutes et 1h, pour augmenter brusquement entre 1h et 24h. Après éloignement de l'insecticide des microcapsules sont probablement restées accrochées aux soies présentes sur la carapace des puces et ont continué à libérer progressivement la molécule active.

Cette formulation de Perméthrine (en microcapsules) ne sera donc pas d'un grand secours ou d'une grande utilité en cas d'épidémie de peste par exemple, où il faut agir dans l'urgence. Sa libération lente ne lui permet pas de réduire le contact Homme/vecteur. On lui préférera donc dans ce cas une autre formulation qui serait peut être plus efficace dans un laps de temps plus court ou carrément une autre molécule, cela doit être vérifié par d'autres expérimentations. Cette formulation peut néanmoins être très utile pour maintenir l'insecte en dessous du seuil de nuisibilité en dehors des périodes de danger. Mais étant donné sa toxicité pour les organismes aquatiques, pour les auxiliaires de l'agriculture (dont les abeilles) (**Berrah, 2011**) ainsi que pour les chats (**Delhaye, 2008**) il serait sans doute préférable d'utiliser des régulateurs de croissance notamment les « Inhibiteurs de synthèse de la chitine » qui ont une action plus spécifique.

III-2-4-2. L'analyse de variance :

L'analyse de variance du taux de P.R. a montré que les deux espèces de puces testées réagissent de la même manière aux deux insecticides, ce qui est très important dans le cadre de la lutte car le même principe actif pourra être utilisé pour détruire les deux espèces, ce qui est moins contraignant, plus économique et moins toxique pour l'environnement.

Cependant, les insecticides (la Perméthrine et la Deltaméthrine) ne semblent pas être efficaces sur les puces *Archaeopsylla erinacei* et *Xenopsylla cheopis* aux concentrations et formulations testées. Ces résultats sont contradictoires avec ce qui est généralement décrit dans la littérature. En effet, les pyréthrinoïdes sont des molécules connues pour leur effet knock-down (paralysie des insectes) après un court contact et leur grande efficacité (**Challier et Salles, 1976 ; Quinlan et al., 1981**).

En plus des observations liées au comportement des puces lors du test d'exposition aux insecticides, plusieurs hypothèses pourraient expliquer la faible toxicité de la Perméthrine et de la Deltaméthrine vis-à-vis des puces testées (*X. cheopis* et *A. erinacei*) :

D'une part, il faut savoir que le gorgement des puces peut influencer la sensibilité à l'insecticide (**Ehrhardt, 2006**). Lors de nos tests, les puces gorgées auraient peut-être disposé de plus de réserves énergétiques pour faire face et métaboliser l'insecticide. Cette hypothèse n'a pas pu être vérifiée, du fait du nombre important de puces nécessaires pour chaque test et de leur capacité au saut rendant toute manipulation difficile. Cela pourrait également être dû à une résistance résultant d'une modification au niveau biochimique ou physiologique comme une sur-production des enzymes de détoxification permettant de métaboliser la molécule insecticide, ou d'une modification au niveau cuticulaire permettant une diminution de la pénétration des insecticides, ou bien une augmentation de l'excrétion de la molécule insecticide (**Haubruge et Amichot, 1998**).

D'autre part, la Perméthrine et la Deltaméthrine sont utilisées dans de nombreux domaines : notamment dans la protection des cultures, dans l'hygiène publique pour l'imprégnation des moustiquaires dans la lutte contre les moustiques (vecteur du Paludisme) et les phlébotomes (vecteurs de Leishmaniose) et également en usage domestique contre les mouches et les blattes. Beaucoup d'antiparasitaires externes à usage vétérinaire sont également à base de perméthrine et de Deltaméthrine. Ces produits sont parfois en vente libre et leur utilisation abusive peut également expliquer la diminution de la sensibilité des puces vis-à-vis de ces insecticide et l'apparition de cette résistance (**OMS, 1999 ; Petit, 2002**). La faible toxicité des molécules testées pourrait donc être liée à une « accoutumance » vis-à-vis du produit. L'augmentation des doses et l'utilisation d'autres formulations que celles testées donneraient probablement une meilleure efficacité. Cependant, les doses ne peuvent pas être éternellement revues à la hausse, car cela risque d'avoir un effet néfaste sur l'environnement. D'autant plus, que plusieurs études ont révélé que ces molécules étaient plus toxiques qu'elles ne paraissent.

Perspectives

- ✓ Toutes les puces testées ont été soigneusement conservées dans des Cryotubes avec des étiquettes sur les quelles ont été notées toutes les informations importantes comme la date, l'espèce de puce l'insecticide testé et la concentration. Pour chaque dilution, les puces vivantes et mortes ont été séparées dans des Cryotubes différents. Ces Cryotubes sont regroupés par test, emballés et placé dans un congélateur à $- 20^{\circ}\text{C}$, ils sont ainsi conservés pour une éventuelle utilisation ultérieure notamment pour des tests génétiques permettant la recherche d'une éventuelle mutation du **gène kdr** responsable de la résistance.
- ✓ Dans le souhait de compléter cette étude par des tests sur des puces sauvages, des pièges grillagés ont été déposés dans différents endroits dans la ville de Blida et de Ouled yaich dans le but de capturer des rongeurs. Des appâts composés de petits morceaux de pain imbibé d'huile d'olive ainsi que de quelques dattes ont été utilisés. Ces pièges ont permis la capture de 3 rats (1de grande taille et 2 de taille moyenne) dans une cité de Ouled Yaich. Le piège contenant les rats encore vivants a été placé dans un sac en plastique correctement fermé et transporté au laboratoire. Dès l'arrivée au laboratoire, les rats ont été anesthésiés en utilisant un coton imbibé avec de l'éther qui a été placé dans le sac en plastique. Après quelques minutes seulement, le piège a été retiré du sac puis les rats assommés ont été soigneusement inspectés à la recherche d'ectoparasites éventuels, et principalement de puces. Après une inspection minutieuse, aucune puce n'a été retrouvée sur ces 3 rats. Les rats peuvent également être tués par dislocation cervicale, ce procédé n'affecte en aucun cas les puces et elles peuvent ainsi être récupérées vivantes sur le pelage des rats.
- ✓ L'approche chimique doit aussi être couplée à une approche écotoxicologique afin de pouvoir conclure sur l'impact toxique potentiel des insecticides. Des tests de toxicité sur des souris blanches de laboratoire doivent être réalisés afin de documenter le lien présence/toxicité.
- ✓ Les inquiétudes croissantes de la population à l'égard des effets potentiellement néfastes des insecticides chimiques pour l'environnement ont amené la communauté scientifique à chercher des solutions de rechange à la lutte chimique. Dans ce contexte, des tests d'efficacité d'autres produits à effet insecticide, comme les huiles essentielles, peuvent éventuellement être réalisés sur les puces. Les huiles essentielles se sont révélées être très efficaces dans la lutte contre de nombreux insectes nuisibles. Par ailleurs, ce sont des produits qui ne sont nocifs pour l'environnement. L'efficacité de ces produits pourrait également être comparée à celles des insecticides chimiques.

Conclusion

Les puces *Xenopsylla cheopis* et *Archaeopsylla erinacei* restent un groupe d'insectes relativement peu étudié actuellement. Elles sont pourtant vectrices de maladies émergentes ou réémergentes dangereuses pour l'homme comme la peste et la fièvre boutonneuse à puces.

La Perméthrine et la Deltaméthrine sont des insecticides largement utilisés dans la lutte contre les puces et d'autres arthropodes partout dans le monde. L'apparition de résistance des puces à ces insecticides dans certaines régions du monde et le contexte favorable à l'apparition de résistance en Algérie ont motivé l'étude réalisée.

Le travail réalisé au cours du stage a permis dans l'ensemble de mettre en évidence après 1heure d'exposition, une résistance des deux espèces de puces *Xenopsylla cheopis* et *Archaeopsylla erinacei* à toutes les doses testées pour la Perméthrine (0,2%, 0,4%, 0,8%, 1,6% et 3,2%) et à toutes les dilutions (0,05%, 0,1%, 0,2%, 0,4% et 0,8%) sauf la 1,6% pour la Deltaméthrine. D'autres tests sur la même population de puces devraient permettre de confirmer les tendances mises en évidence lors de nos expérimentations. Cependant, en l'absence de référence objective de sensibilité cela ne permet donc pas de statuer sur l'état de la résistance en Algérie. Et afin de pouvoir conclure sur l'existence d'une résistance, il faudra recourir à la biologie moléculaire qui permettrait de détecter des mutations associées au gène kdr à l'origine de la résistance aux pyréthrinoïdes. Nos expérimentations ont également permis de constater une réversibilité de l'effet knock-down, mais la significativité de cette constatation n'a pas pu être vérifiée statistiquement.

D'autre part, l'analyse statistique de l'évolution du taux de population résiduelles a permis de montrer que les insecticides (Deltaméthrine et Perméthrine) aux doses et formulations testées seront peu toxiques voir inefficaces en cas d'épidémie où il faut une action rapide et durable. En revanche, ils peuvent contribuer à maintenir ces deux espèces de puces en dessous du seuil de nuisibilité.

Par ailleurs, ces résultats nous confortent dans l'idée que compte tenu de l'évolution croissante vers la résistance, il devient impératif que l'utilisation des insecticides de la famille des pyréthrinoïdes en Algérie soit accompagnée d'une surveillance étroite de la sensibilité de ces espèces de puces. Au laboratoire, cette surveillance est rendue laborieuse par la difficulté d'avoir des puces adultes en

grand nombre et la nécessité de la mise en élevage des puces, ainsi que l'absence de souches bien caractérisées sur le plan des résistances pour standardiser les résultats. Enfin, les études d'efficacité sur le terrain sont primordiales. La réalisation de telles études nécessite des équipes expérimentées aussi bien en mammalogie (piégeage, détermination des mammifères) qu'en entomologie. En effet, les quelques études sur ce sujet, réalisées sur d'autres insectes uniquement sur le terrain, ont souvent montré la difficulté d'appréhender ces phénomènes biologiques *in natura* du fait des nombreux facteurs confondants à prendre en compte et des variations biologiques inhérentes aux études de terrain.

Références bibliographiques

-  **Baltazard M. et Eftekhari M.** (1957). Techniques de récolte, de manipulation et d'élevage des puces de rongeurs par, Institut Pasteur de l'Iran, Téhéran. *Bulletin of the World Health Organization* ; 16 (2): 436–440.
-  **Bassa C., Schroederb I., Turbergb A., Fielda L.M. et Williamson M.S.** (2004). Identification of mutations associated with pyrethroid resistance in the para-type sodium channel of the cat flea, *Ctenocephalides felis*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 34 : 1305–1313.
-  **Beaucournu J.C. et Launay H.** (1990). *Les Puces (Siphonaptères) de France et du Bassin Méditerranéen occidental, Faune de France et des régions limitrophes*. Ed. Fédération Française des sociétés de sciences naturelles, Paris : 511p.
-  **Bensignor E., Guaguère E.** (2002). *Thérapeutique dermatologique du chien*. Ed. Masson, Paris : 259 p.
-  **Berrah A.** (2011). *Etude sur les pesticides*. Mémoire de Master, Université de Tébessa, Algérie. **Lien** : <http://www.memoireonline.com/11/12/6459/Etude-sur-les-pesticides.html>
-  **Beugnet F.** (2004). Antiparasitaires externes chez les carnivores domestiques. *EMC Vétérinaire*, 1 (4) : 138-153.
-  **Bitam I., Parola P., De La Cruz K.D., Matsumoto K., Baziz B., Rolain J.M., Belkaid M. et Raoult D.** (2006). First molecular detection of *Rickettsia felis* in fleas from Algeria. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 74 (4): 532–535.
-  **Bitam I., Baziz B., Kernif T., Harrat Z., Parola P. et Raoult D.** (2009). Molecular detection of *Rickettsia typhi* and *Rickettsia felis* in fleas from Algeria. *Clinical Microbiology and Infection*, 15 (2): 255–256.
-  **Bitam I., Ayyadurai S., Kernif T., Chetta M., Boulaghman N., Raoult D., et Drancourt M.** (2010) (a). New Rural Focus of Plague, Algeria. *Emerging Infectious Diseases*, 16 (10): 1639-1640. **Site**: www.cdc.gov/eid
-  **Bitam I., Dittmar K., Parola P., Whiting M.F. et Raoult D.** (2010) (b). Fleas and flea-borne diseases. *International Journal of Infectious Diseases*, 14: 667–676.
-  **Bitam I.** (2011). Les Puces et Maladies Transmises. Présentation orale. *Cours entomologie médicale, PHARO*.
-  **Bitam I., Rolain J.M., Nicolas V., Tsai Y.L., Parola P., Gundi V.A., Chomel B.B., Raoult D.** (2012). A multi-gene analysis of diversity of bartonella detected in fleas from Algeria. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* ; 35(1): 71-76.
-  **Bitar I.** (1998). *Contribution à la lutte contre les principaux ectoparasites du mouton au Sénégal: utilisation de la Doramectine (DectomaxND)*. Thèse de Doctorat d'état, Université Cheikh Anta Diop, Dakar, 85p.

- 📖 **Bordeau W.** (2000). *Atlas des parasites cutanés du chien et du chat*. Ed. Med'Com, 134 p.
- 📖 **Bork K., Honomichl K., Hoede N.** (1987). Flea bites caused by *Archaeopsylla erinacei*, the hedgehog flea. *Hautarzt*, 38 (11): 690-692.
- 📖 **Boudes A., Parola P.** (2007). Rickettsia. *Revue francophone des laboratoires*, 391 : 23-32.
- 📖 **Bough M.** (2000). Permethrin toxicosis in cats. *Veterinary Technician*, 21 (9): 506-507.
- 📖 **Boulouis H.J., Haddad N., Maillard R., Marignac G., Vayssier-Taussat M.** (2007). Les infections à Bartonella chez l'homme et l'animal : aspects diagnostiques et thérapeutiques. *Revue francophone des laboratoires*, 391 : 33-40.
- 📖 **Burgat-Sacaze V.** (1993). Les antiparasitaires externes chez le chat : pharmacologie et toxicologie. *Pratique médicale et chirurgicale de l'animal de compagnie*, 28 : 225-234.
- 📖 **Challier A., Salles S.** (1976). Sensibilité des *Glossina palpalis gambiensis* Vanderplank au Décis (OMS 1998) et étude préliminaire de l'effet knock-down. *Bobo-Dioulasso, O.C.C.G.E.* (Doc. techn. n°6154).
- 📖 **Cilek J.E. et Knapp F.W.** (1993). Enhanced diazinon susceptibility in pyrethroid resistant horn flies (Diptera, Muscidae) Potential for insecticide resistance management. *Journal of economic entomology*, 86 (5): 1303-1307.
- 📖 **Civen R., Ngo V.** (2008). Murine typhus: an unrecognized suburban vectorborne disease. Clinical practice. *Clinical Infectious Diseases*, 46 : 913-918.
- 📖 **Dao B.B.** (1991). *Etude de l'efficacité du BUTOX® (deltaméthrine) dans le contrôle des Trypanosomoses animales et des Glossines pendant la saison des pluies au Togo*. Thèse de Doctorat, Université Cheikh Anta-Diop, Dakar, 114p.
- 📖 **Davoust B., Mediannikov O., Marié J.L., Socolovschi C., Parola P. et Raoult D.** (2010). Les animaux vertébrés sont-ils réservoirs de Rickettsies? *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*, 163 (4/5) : 291-302.
Site : www.academie-veterinaire-defrance.org/
- 📖 **Delhaye D.** (2008). *Effets indésirables et intoxications dus à l'utilisation de médicaments à base de Permethrine chez le chat. Etude épidémiologique*. Thèse de Doctorat, Université Claude-Bernard, Lyon I : 151p.
- 📖 **Dorman D.C. et Beasley V.R.** (1991). Neurotoxicology of pyrethrin and pyrethroid insecticides. *Veterinary and Human Toxicology*, 33 (3): 238-243.
- 📖 **Drali R., Benkouiten S., Badiaga S., Bitam I., Rolain J.M. et Brouqui P.** (2012). Detection of a Knockdown Resistance Mutation Associated with Permethrin Resistance in the Body Louse *Pediculus humanus corporis* by use of Melting Curve Analysis Genotyping. *Journal of Clinical Microbiology*, 50 (7): 22-29.
- 📖 **Dryden M.W.** (1989). Host association on host longevity and egg production of *Ctenocephalides felis felis*. *Veterinary Parasitology*, 34 : 117-122.

- 📖 **Duchemin J.B., Fournier P.E. et Parola P.** (2006). Les Puces et les maladies transmises à l'homme. *Médecine Tropicale*, 66 (1) : 1-9.
- 📖 **Duchemin J.B.** (2003). Clé d'identification des puces.
- 📖 **Durand F.** (1993). *Risques toxiques des insecticides pyréthroïdes pour les carnivores domestiques. Etude épidémiologique d'après les cas du Centre antipoison vétérinaire de Lyon (1990-1992)*. Thèse de doctorat, Université de Lyon : 139 p.
- 📖 **Ehrhardt N.** (2006). *Etude de l'activité d'une formulation à 50 % de deltaméthrine sur Stomoxys calcitrans à la Réunion: résistance et rémanence*. Thèse de Doctorat, Université Paul-Sabatier, Toulouse, 89p.
- 📖 **Franc M.** (1994). Puces et méthodes de lutte. *Revue Scientifique et Technique de l'Office International des Epizooties*, 13 (4) : 1019-1037.
- 📖 **Franc M.** (2006). Les puces du chien et du chat. *Insectes*, 143 (4) : 11-13.
- 📖 **Gleadhill A.** (2004). Permethrin toxicity in cats. *Veterinary Record*, 155 (20) : 648.
- 📖 **Gray A.** (2000). Permethrin toxicity in cats. *Veterinary Record*, 147, (19): 556.
- 📖 **Haubruge E., Amichot M.** (1998). Les mécanismes responsables de la résistance aux insecticides chez les insectes et les acariens. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*, 2 (3), 161–174.
- 📖 **Hemingway J. et Hilary R.** (2000). Insecticide resistance in insect vectors of human disease. *Annual Reviews of Entomology*, 45: 371-391.
- 📖 **Hansen S.R.** (2006). Pyrethrins and pyrethroids. In: *Small Animal Toxicology* (Peterson M.E., Talcott P.A.): 1002 - 1008. Ed. Elsevier Saunders (2nd Edition), St Louis.
- 📖 **Héripret D.** (1999). Dermatite par Allergie aux Piqûres de Puces. *Actualités pharmaceutiques, Pharmacothérapie et dispensation vétérinaire*, 374 : 17-21.
- 📖 **Institut Pasteur d'Algérie (IPA).** Archives photographiques (2011, 2012).
- 📖 **Kernif T., Socolovschi C., Bitam I., Raoult D., Parola P.** (2012). Vector-Borne Rickettsioses in North Africa. *Infectious disease clinics of North America*, 26 (2): 455–478.
- 📖 **Khalidi M., Socolovschi C., Benyettou M., Barech G., Biche M., Kernif T., Raoult D. et Parola P.** (2012). Rickettsiae in arthropods collected from the North African Hedgehog (*Atelerix algirus*) and the desert hedgehog (*Paraechinus aethiopicus*) in Algeria. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 35: 117-122.
- 📖 **Krämer F. et Mencke N.** (2001). *Flea Biology and Control, the Biology of the Cat Flea Control and Prevention with Imidacloprid in Small Animals*. Ed. Springer, 205 pages.
- 📖 **Loftis A.D., Reeves W.K., Szumlas D.E., Abbassy M.M., Helmy I.M., Moriarity J.R. et Dasch G.A.** (2006). Surveillance of Egyptian fleas for agents of public health significance:

Références Bibliographiques.

Anaplasma, Bartonella, Coxiella, Ehrlichia, Rickettsia, and Yersinia pestis. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 75 (1): 41–48.

-  **Lockwood J.A., Byford R.L., Story R.N., Sparks Th.C., Quinsberry S.S.** (1985). Behavioral resistance to the pyrethroids in the horn fly, *Haematobia irritans* (Diptera Muscidae). *Environmental Entomology*, 14: 873-880.
-  **Lumaret (1962)**. Protocole d'éclaircissement et de montage des puces.
-  **Martin A. et Campbell A.** (2000). Permethrin toxicity in cats. *Veterinary Record*, 147 (22): 639.
-  **Marvy M.** (1989). Blattes, poux, puces et gales: description, moyens de protection et de destruction mis en œuvre à l'hôpital (à l'exception des traitements humains). *Le pharmacien hospitalier*, 97 : 9-21.
-  **Ménier K., Beaucournu J.C.** (2001). Importance médico-vétérinaire des puces de notre environnement. *Revue Française des Laboratoires*, 338 : 59-63.
-  **Merck.** (2002). *Le manuel vétérinaire Merck*, 2ème édition. Ed. d'Après, 2297 p.
-  **Metzger M.E. et Rust M.K.** (1997). Effect of temperature on cat flea (Siphonaptera: Pulicidae) development and overwintering. *Journal of Medical Entomology*, 34 : 173-178.
-  **Mokrani K., Tebbal S., Raoult D., Fournier P.E.** (2012). Human rickettsioses in the Batna area, eastern Algeria. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 3(5-6): 364-366.
-  **Mouffok N., Parola P. et Raoult D.** (2008). Murine typhus, Algeria. *Emerging Infectious Diseases*, 14 (4): 676–678.
-  **Moulinier C.** (2002). *Parasitologie et mycologie médicales, éléments de morphologie et de biologie*. Ed. Médicales Internationales, 796 pages.
-  **Muguet-Chanoit A.** (2007). Intoxication du chat à la perméthrine : prévenir et traiter. *Dépêche Vétérinaire*, 955 :10 p.
-  **Nolan J.** (1985). Mechanisms of resistance to chemicals in arthropod parasites of veterinary importance. *Veterinary Parasitology*, 18: 135-145.
-  **OMS (Organisation mondiale de la santé).** (1970). Résistance aux insecticides et lutte antivectorielle. Dix-septième rapport du comité OMS d'expert des insecticides. *Série de rapports techniques*, N° 443 : 152 pages.
-  **Petit L.M.I.** (2002). *Efficacité comparée, en laboratoire, du Fipronil et de la Deltaméthrine par contact tarsal sur Glossina morsitans morsitans et Glossina palpalis gambiensis*. Thèse de Doctorat, l'Université Paul-Sabatier, Toulouse, 101p.
-  **Pomykal J.** (1985). A case of infestation of humans with fleas *Archaeopsylla erinacei* (Siphonaptera, Pulicidae). *Folia Parasitologica (Praha)*, 32 (4): 348.

- 📖 **Quinlan R.J., Gatehouse A.G.** (1981). Characteristics and implications of a knock-down of the tsetse fly *Glossina morsitans morsitans* Westwood by deltamethrine. *Pesticide Science*, 12: 439-442.
- 📖 **Ratovonjato J., Duchemin J.B., Chanteau S.** (2000) (a). Méthode optimisée d'élevage de pulicidés (*Xenopsylla cheopis* et *Synopsyllus fonquerniei*). *Archives de l'Institut Pasteur Madagascar*; 66 (1,2) : 75-77.
- 📖 **Ratovonjato J, Duchemin JB, Duplantier JM, Chanteau S.** (2000) (b). *Xenopsylla cheopis* (*Siphonaptera* : *Xenopsyllinae*), puces des foyers ruraux de peste des Hautes Terres malgaches : niveau de sensibilité au DDT, aux pyréthriinoïdes et aux carbamates après 50 années de lutte chimique. *Archives de l'Institut Pasteur Madagascar*; 66 (1,2) : 9-12
- 📖 **Ratovonjato J., Le Goff G., Rajaonarivelo E., Rakotondraibe E.M., Robert V.** (2003). Données récentes sur la sensibilité d'*Anopheles arabiensis* et d'*Anopheles funestus* aux pyréthriinoïdes et au DDT sur les Hautes Terres Centrales de Madagascar -Résultats préliminaires montrant une absence de la mutation *kdr* chez *An. Arabiensis*. *Archives de l'Institut Pasteur de Madagascar*; 69 (1,2) : 63-69.
- 📖 **Razik F., Mouffok N., Belmadani D., Bellal R., Bekoucha S. et Carniel E.** (2005). *Épidémie de peste dans l'Ouest algérien après 57ans de silence*. Présentation Orale. Centre hospitalo-universitaire d'Oran. 6^{èmes} Journées de pathologies infectieuses (Nice : 08 - 09 - 10 juin 2005).
- 📖 **Richardson J.A.** (2000). Permethrin spot-on toxicoses in cats. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 10: 103-106.
- 📖 **Service M.** (2012). *Medical Entomology for Students*. 5ème édition, Cambridge University press, New York, USA: 303 p.
- 📖 **Simon M.** (2009). *Eradication des Puces : De la Biologie au traitement*. Thèse de Doctorat, Université Henri Poincaré, Nancy 1, 180 p.
- 📖 **Stevenson H.L., Labruna M.B., Montenieri J.A., Kosoy M.Y., Gage K.L., Walker D.H.** (2005). Detection of *Rickettsia felis* in a New World flea species, *Anomiopsyllus nudata* (*Siphonaptera*: *Ctenophthalmidae*). *Journal of Medical Entomology*, 42 (2): 163-167.
- 📖 **Valentine W.M.** (1990). Pyrethrin and Pyrethroid Insecticides. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 20: 375-385.
- 📖 **Volmer P.A.** (2004). Pyrethrins and pyrethroids. In: *Clinical Veterinary Toxicology* (Plumlee K.H.). Ed. Mosby, Missouri: 188-192.
- 📖 **Whittem T.** (1995). Pyrethrin and Pyrethroid Insecticide Intoxication in Cats. *Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian*, 17 (4): 489-495.
- 📖 **WHO (World Health Organisation).** (1992). Vector resistance to pesticides : Fifteenth report of the expert committee on vector biology and control. *Technical Reports Series* Ed. WHO. Genève, 818 : 58p.
- 📖 **WHO (World Health Organisation).** (2011). Permethrin (25:75 *cis:trans* isomer ratio) 3-phenoxybenzyl (1*RS*,3*RS*;1*RS*,3*SR*)-3-(2,2 dichlorovinyl)- 2,2-dimethyl-cyclopropane

carboxylate. Specifications and evaluations for public health pesticides. *Technical Reports Series* Ed. WHO. Genève: 30p.

 **WHO (World Health Organisation).** (2012). Deltamethrin (S)-a-cyano-3-phenoxybenzyl (1R,3R)-3-(2,2-dibromovinyl)-2,2 dimethylcyclopropane carboxylate. Specifications and evaluations for public health pesticides. *Technical Reports Series* Ed. WHO. Genève: 85p.

 **Zerba E.** (1988). Insecticidal activity of pyrethroids on insects of medical importance. *Parasitology Today*, 14(7): 53-57.

* **Sites internet :**

 **De Campos Pereira M.** (1998). (Pages consultées le 07 Juin 2013). *Ctenocephalides felis felis*. University of São Paulo, Institute of Biomedical Sciences, Departament of Parasitology. <http://www.icb.usp.br/~marcelcp/Ctenocephalidesfelis.htm>

 **Organisation Mondiale de la Santé (OMS).** (2005). (Pages consultées le 11 Juin 2013). La peste, Aide-mémoire N°267. <http://who.int/mediacentre/factsheets/fs267/fr/print.html>

 **RasWin Moléculair Graphic**
<http://molecules.gnu-darwin.org>
http://molecules.gnu-darwin.org/html/00175001_00200000/181421/181421.png

 **Wuest J.** (2006). (Pages consultées le 05 Juin 2013). Les insectes. Université de Genève, sur Association des Etudiants en Biologie, [PDF]. http://www.asso-etud.unige.ch/aeb/docs/cours/stm/stm_wuest_insectes.pdf

Annexe 1 :

Identification des puces (Duchemin, 2003)

- 1 - Pas de cténidie ou cténidie génale vestigiale (**Fig.1**).....2
 - Deux cténidies (une génale et une prothoracique) (**Fig.2**).....6

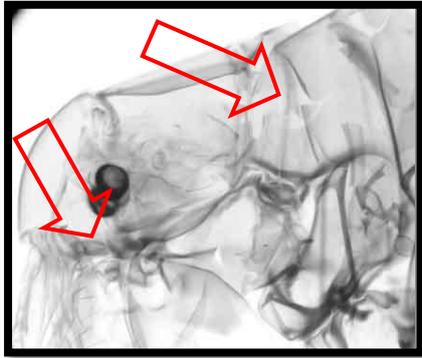


Fig.1

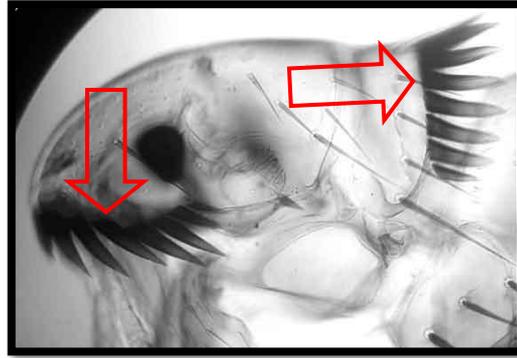


Fig.2

- 2 - Thorax étroit dont la largeur des trois segments réunis est largement inférieure à la largeur du segment abdominal voisin (**Fig. 3**).....3
 - Thorax dont la largeur des trois segments réunis est supérieure à la largeur du segment abdominal voisin (**Fig. 4**).....4

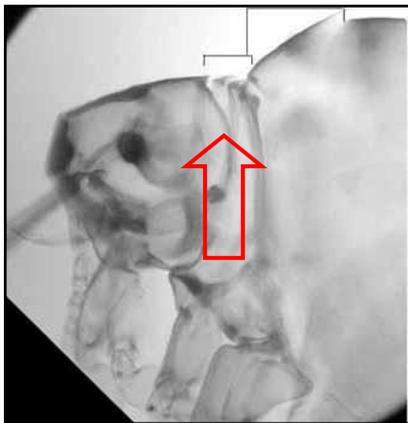


Fig. 3

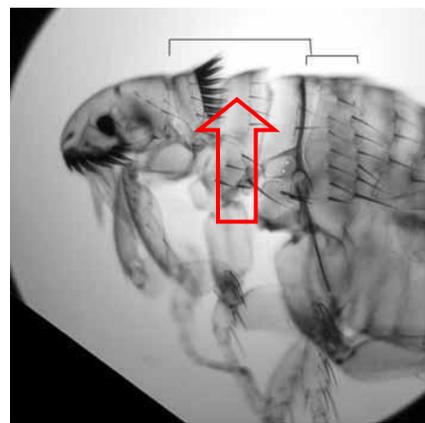


Fig. 4

- 3 - Une plage de petites soies spiniformes à la face interne de la coxa III (**Fig. 5**)
genre *Echidnophaga* = *Echidnophaga gallinacea*.
 - Pas de plage de petites soies spiniformes à la face interne de la coxa III (**Fig. 6**)
genre *Tunga* = *Tunga penetrans*.

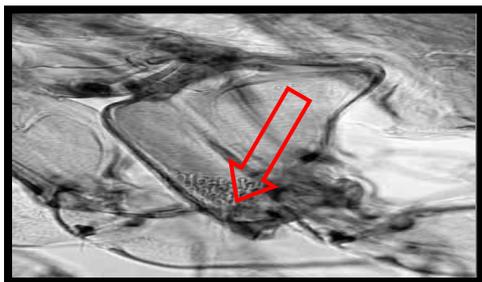


Fig.5

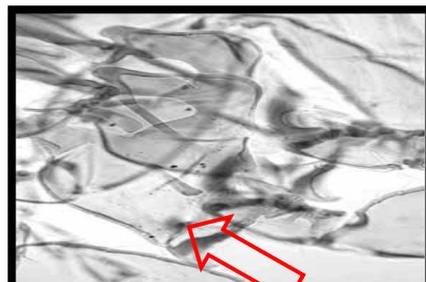


Fig.6

- 4 - Epaissement pleural du mésothorax absent ; une dent sur la gena souvent peu visible (=cténidie génale vestigiale) (**Fig. 7**).....genre *Pulex* = *Pulex irritans*.
 - Epaissement pleural mésothorax présent (**Fig. 8**).....5

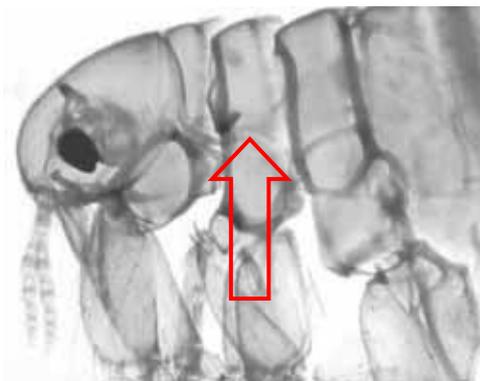


Fig.7



Fig.8

- 5 - Métasternite et métépisternite sont totalement ou partiellement séparés (**Fig. 9 - 10**)genre *Xenopsylla*.
 - Métasternite et métépisternite sont totalement fusionnés (**Fig. 11**).....genre *Synopsyllus*.

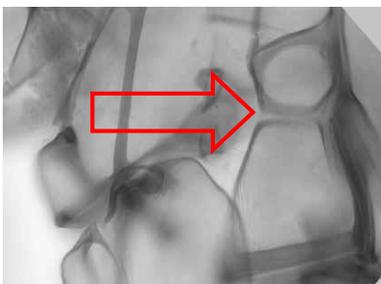


Fig.9



Fig.10

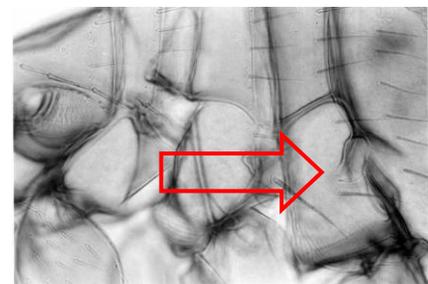


Fig.11

- 6 - Cténidie génale de 2 dents (**Fig. 12**).....7
 - Cténidie génale de 4 à 8 dents (quelquefois 1 ou 2 surnuméraires et de petite taille dans ce dernier cas) (**fig. 13**)..... 11

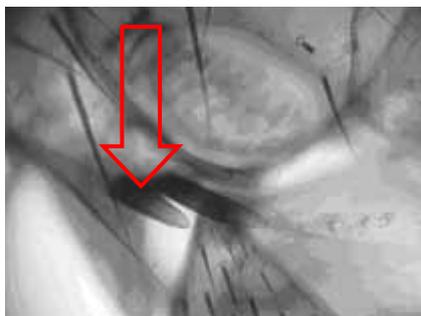


Fig.12



Fig.13

- 7 - Cténidie en position préorale (**Fig. 14**)8
 - Cténidie située au niveau ou en arrière des pièces buccales (*laciniae*) (**Fig. 15**).....9

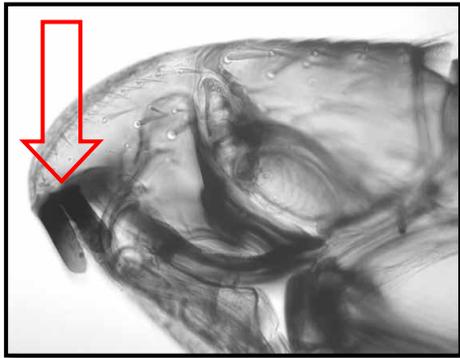


Fig. 14

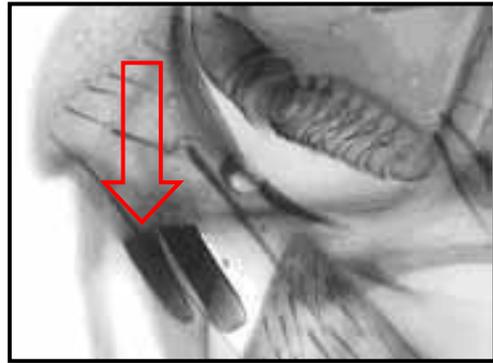


Fig. 15

8 - Des soies spiniformes à la partie postéro-ventrale de la capsule céphalique. (**Fig.16**).....
genre *Araeopsylla* = *Araeopsylla martialis*.
 - Pas de soies spiniformes à cet emplacement. (**Fig. 17**).....genre *Lagaropsylla*.

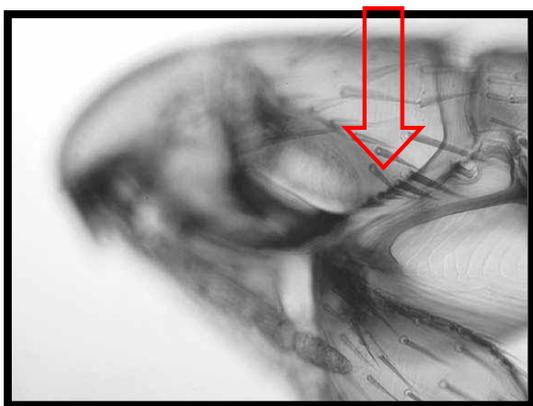


Fig. 16



Fig. 17

9 - Une plage de petites soies spiniformes à la face interne de la coxa III. (**Fig. 18**)
genre *Centetipsylla* = *Centetipsylla madagascariensis*.
 - Pas de plage de petites soies spiniformes à la face interne de la coxa III (**Fig. 19**).....10



Fig.18



Fig.19

- 10** - 3 soies sur le bord inférieur du fémur postérieur. (**Fig.20**).....genre *Tsaractenus*.
genre *Paractenopsyllus*.
 - 2 soies sur le bord inférieur du fémur postérieur. (**Fig.21**).....

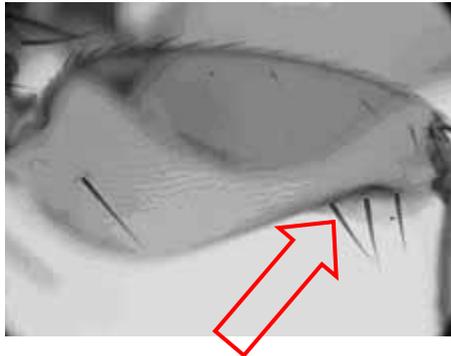


Fig. 20

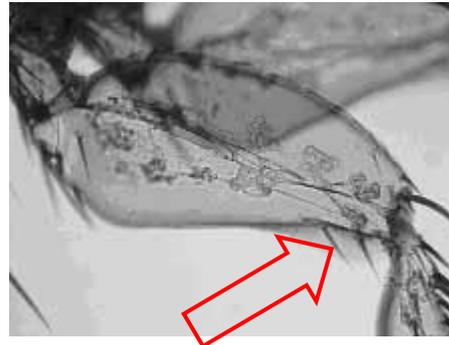


Fig. 21

- 11** - Deux soies spiniformes frontales ; cténidie génale de 4 dents. (**Fig. 22**).....Genre *Leptopsylla* = *Leptopsylla segnis*.
12
 - Pas de soies spiniformes frontales ; cténidie génale de plus de 4 dents.....



Fig. 22

- 12** - Cténidie génale verticale de 5 dents (**Fig. 23**).....genre *Dinopsyllus*
 - Cténidie génale horizontale de 8 dents en général (**Fig. 24**).....genre *Ctenocephalides*.



Fig. 23

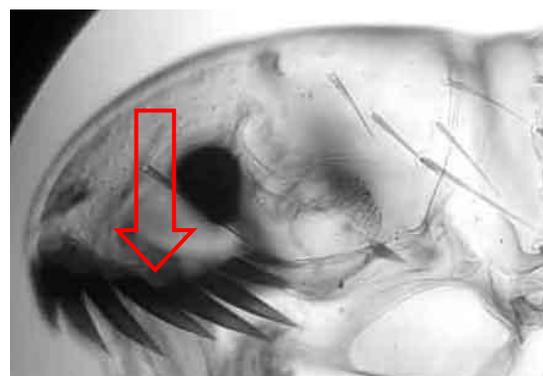


Fig. 24

Annexe 2 : Les puces retrouvées en Algérie :



Archaeopsylla erinacei (femelle)
(Photo originale, 2013)



Xenopsylla cheopis (mâle)
(Photo originale, 2013)



Ctenocephalides felis (femelle)
(Photo originale, 2013)



Stenoponia tripectinata (mâle)
(Photo Originale, 2013)



Puce du genre *Ischnopsyllus*
(IPA 2012)



Ctenocephalides canis (mâle)
(Photo originale, 2013)



Leptopsylla segnis (femelle)
(Photo originale, 2013)



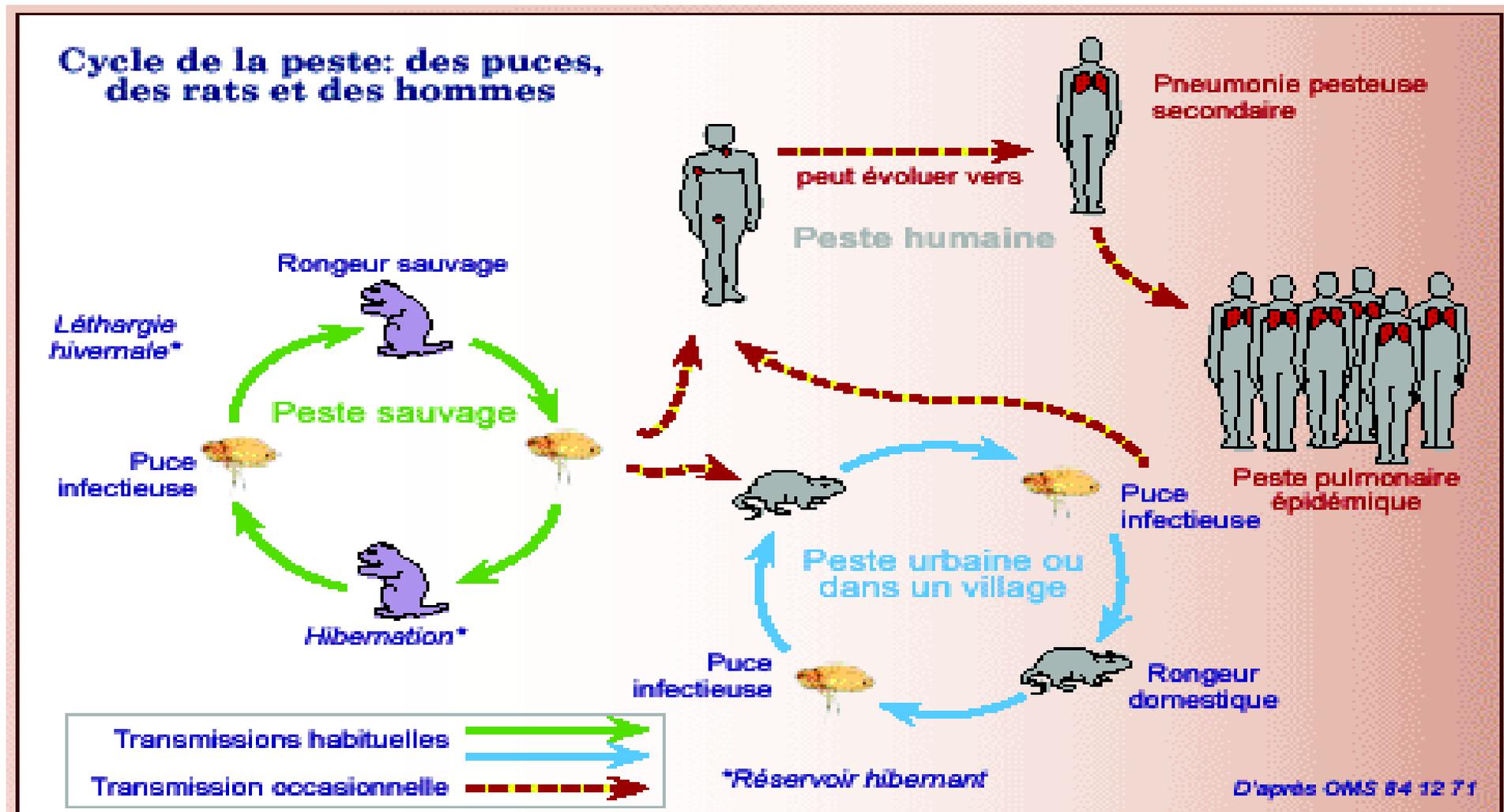
Nosopsyllus fasciatus (femelle)
(Photo originale, 2013)



Pulex irritans (mâle)
(Photo originale, 2013)

Quelques puces retrouvées en Algérie, observées sous loupe binoculaire Gr x 40.

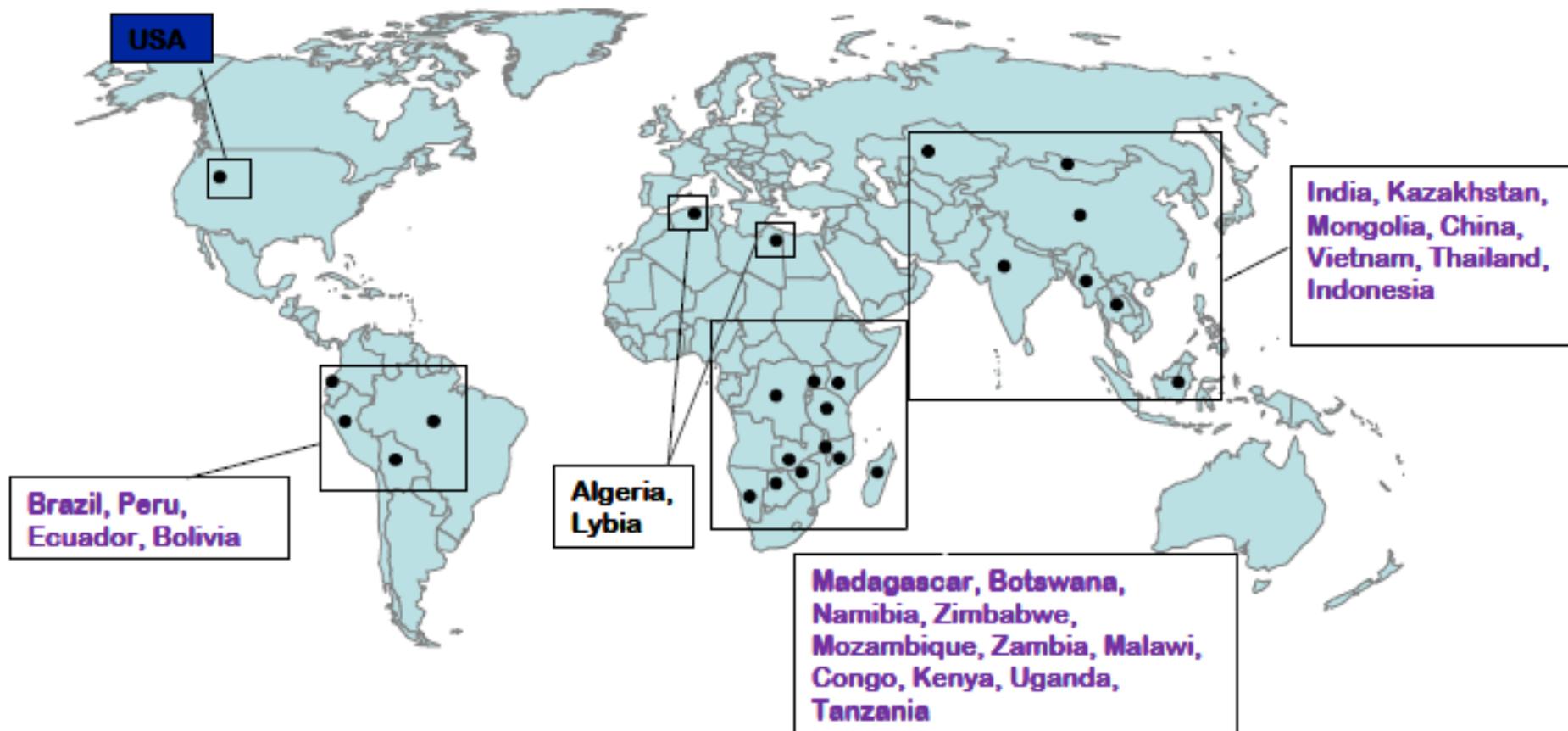
Annexe 3 :



Cycle de la peste.
(Simon M., 2009)

Annexe 4 :

Annexe 4A :

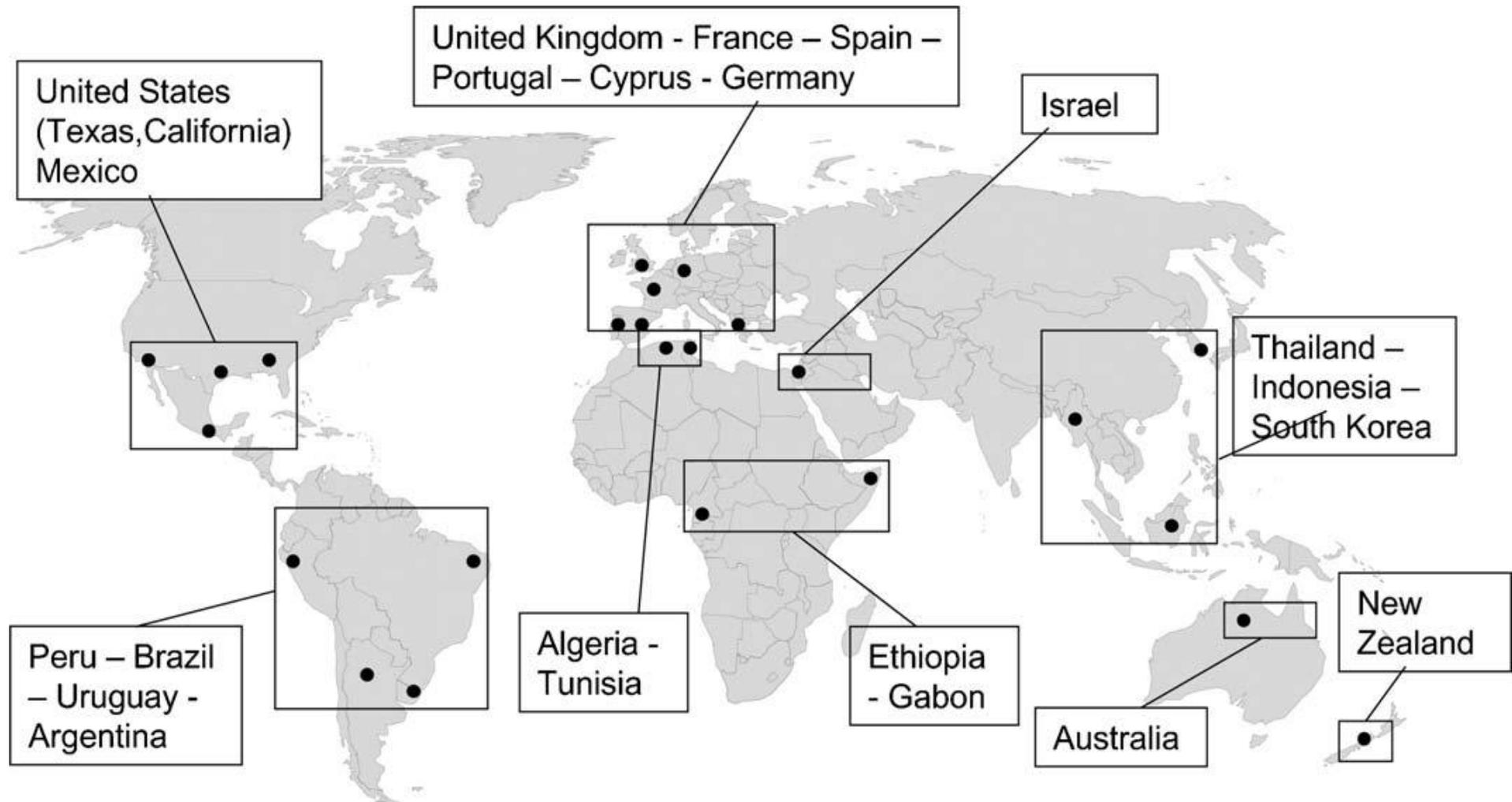


Répartition géographique de la peste dans le monde, 1989–2003

(Source World Health Organization).

(Bitam *et al.*, 2010 (a) ; Bitam, 2011).

Annexe 4B :

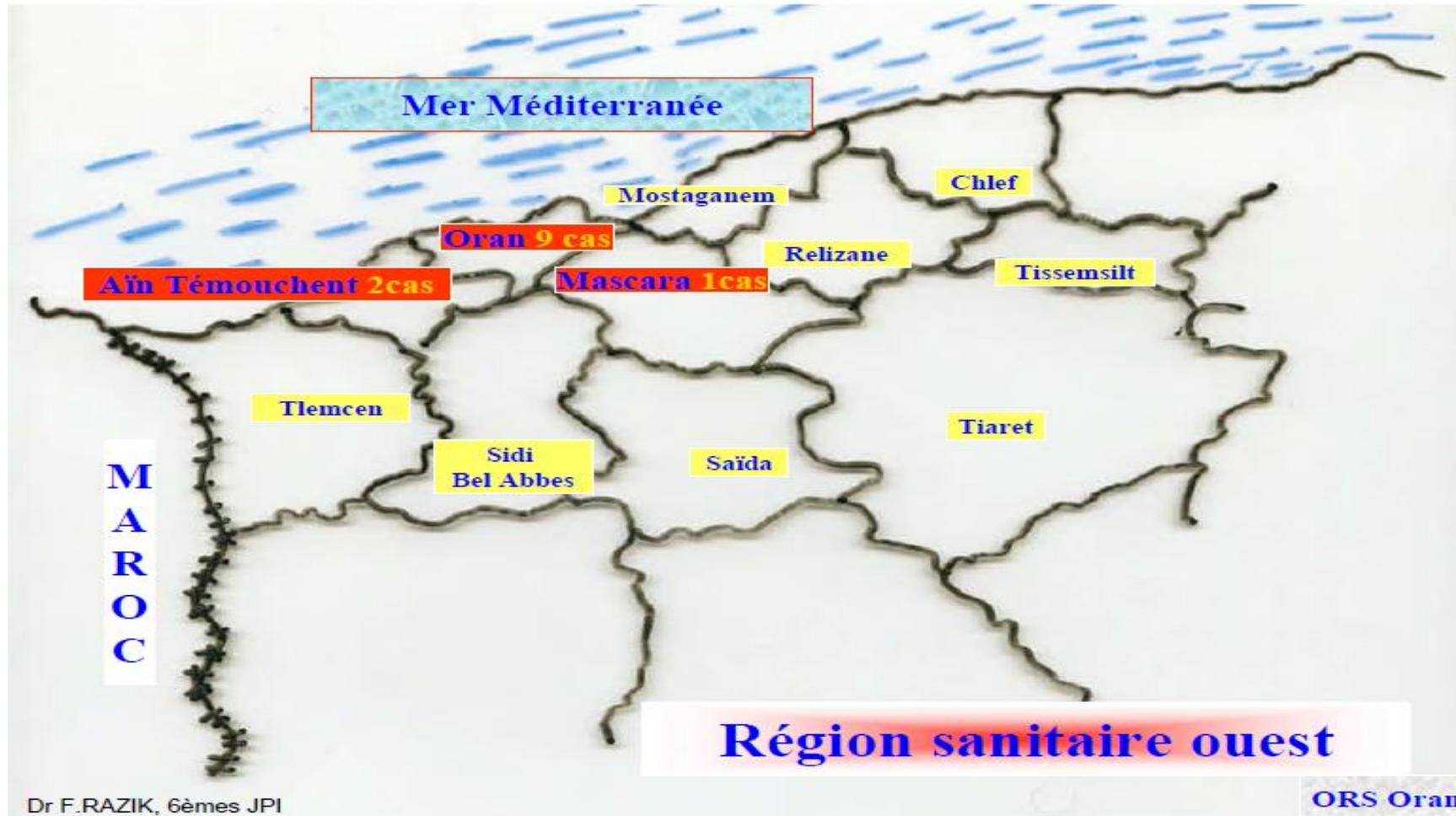


Distribution géographique de *Rickettsia felis* détectée dans des puces, et des cas rapportés de fièvre boutonneuse à puces.

(Bitam *et al.*, 2010)

Annexe 5 :

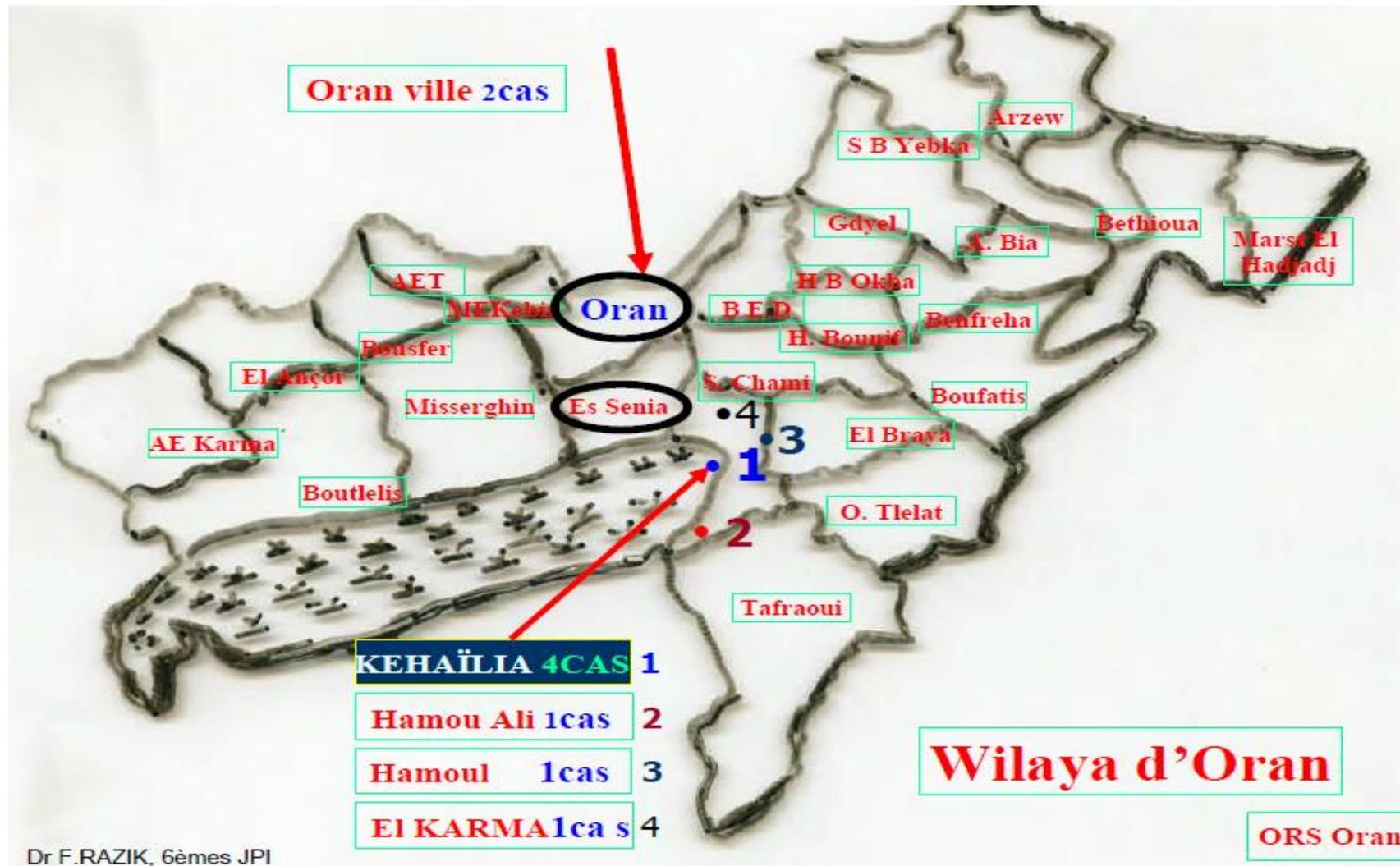
Annexe 5A :



Répartition géographique des cas de peste en 2003 dans la région sanitaire Ouest de l'Algérie.

(Razik et *al.*, 2005)

Annexe 5B :



Répartition géographique des cas de peste dans la wilaya d'Oran en Algérie en 2003.

(Razik et al., 2005)

Annexe 6 : Matériel non biologique :

1. Appareillage :



Thermo-hygromètre.



Agitateur.



Balance électronique.



Loupe binoculaire



Microscope photonique



Caméra

2. Insecticides :



Perméthrine à 8%.



Alphythrine à 2%® (Deltaméthrine).

*** La Permethrine 8% :**

Vital Cap 1- Insecticide en forme de micro capsules.

Matière active dans 100 g

8 g de Permethrine

8 g de Piperonyl Butoxide

84 g Excipients, co-formateurs et eau.

Fabriquée par : ZAPI INDUSTRIES CHIMICHE S.p.A. (Italie)

Importé et distribué par Eurl Agrivil BAHA (Alger)

*** L'Alphythrine® (Deltaméthrine) 2% ULV :**

Echantillon témoin.

Fabriquée par : Entreprise Publique Economique Algérienne des Phytosanitaire (ALPHYT).

3. Verrerie :



Bocaux d'élevage en verre.



Erlenmeyer.



Becher.



Eprouvette de 100 ml + Eprouvette de 50 ml.



Flacons en verre stériles.



Petits bocaux.



Boites de Petri.



Tubes à essai en verre (20 cm).

4. Produits et réactifs :



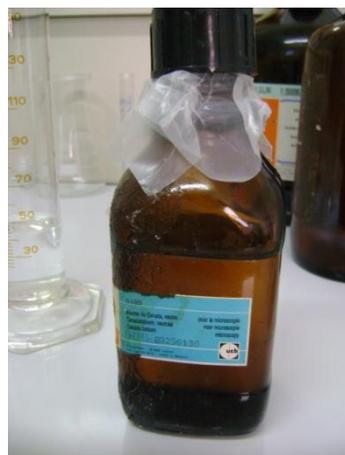
Alcool absolu.



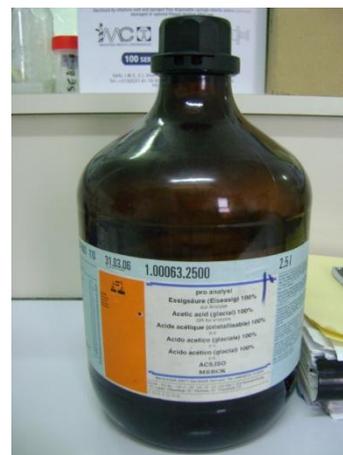
Eau distillée.



Eau distillée pour laver la verrerie.



Baume de Canada.



Acide Acétique.



KOH.



Cristaux de KOH.

5. Autres :



Aspirateur à Pucés.



Coupons de tissu.



Bandelettes en papier WATTMAN
(5cm x 1,5cm).



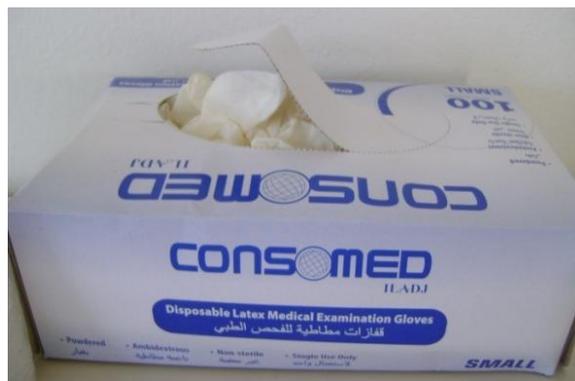
Ciseaux.



Barreau.



Masques.



Gants en latex.



Carton.



Safty Box.



Lames.



Lamelles.



Cryotubes.



Sable.



Sciure de bois.



Bassines.



Elastiques.



Etiquettes.



Parafilm.



Embouts pour micropipette + Portoir.



Micropipette de 1000 µl.



Papier hygiénique.



Papier glacé.



Cotton.



Pinces brucelles.



Pince.



Pince fine.



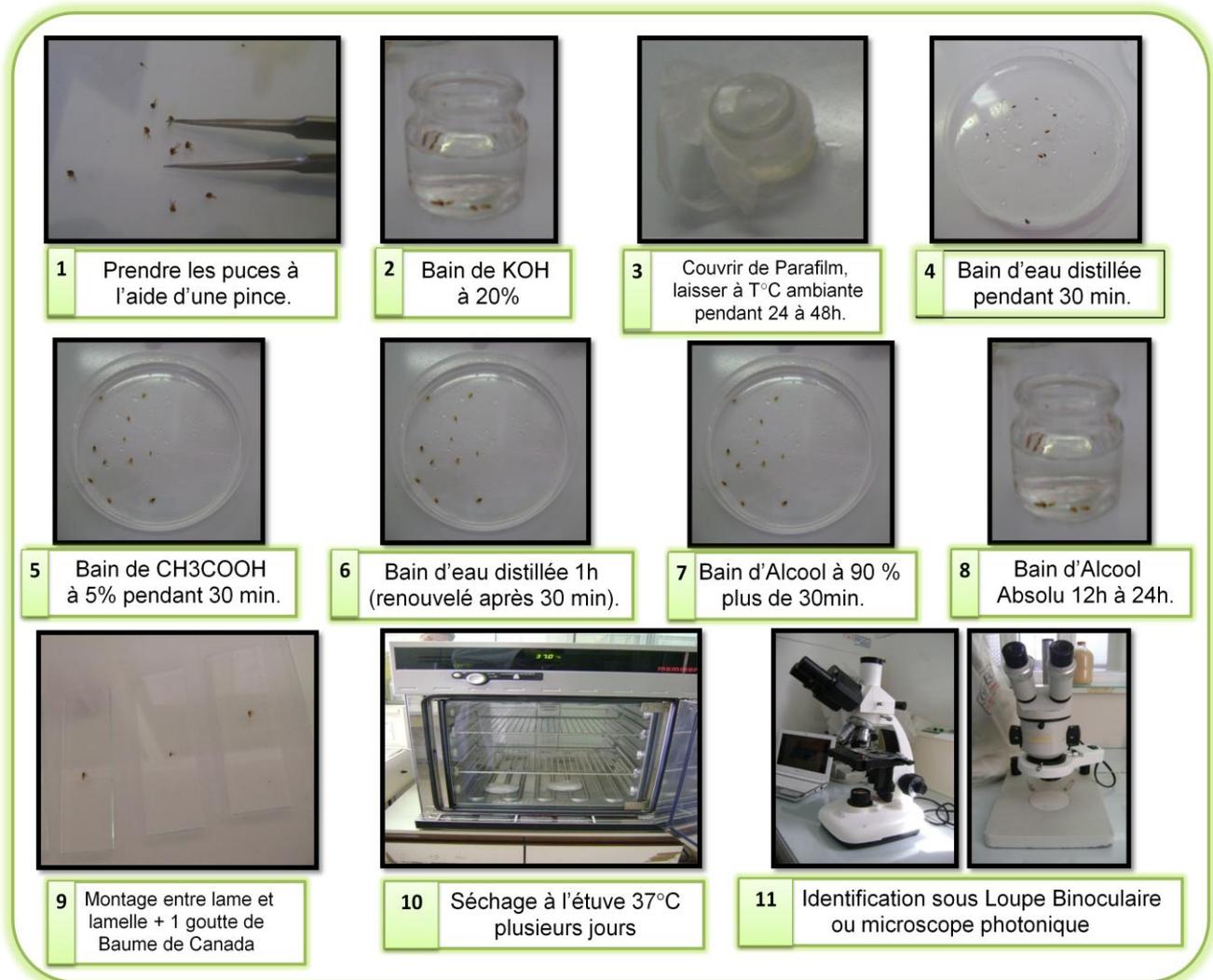
Portoir.



Portoir en mousse.

Annexe 7 :

* Annexe 7A : Eclaircissement et montage des puces :



1 Prendre les puces à l'aide d'une pince.

2 Bain de KOH à 20%

3 Couvrir de Parafilm, laisser à T°C ambiante pendant 24 à 48h.

4 Bain d'eau distillée pendant 30 min.

5 Bain de CH₃COOH à 5% pendant 30 min.

6 Bain d'eau distillée 1h (renouvelé après 30 min).

7 Bain d'Alcool à 90 % plus de 30min.

8 Bain d'Alcool Absolu 12h à 24h.

9 Montage entre lame et lamelle + 1 goutte de Baume de Canada

10 Séchage à l'étuve 37°C plusieurs jours

11 Identification sous Loupe Binoculaire ou microscope photonique

Eclaircissement et montage des puces (d'après Lumaret, 1962).

(Photos originales, 2013)

* Annexe 7B : Préparation des dilutions :

✓ **Perméthrine à 8% :**

Pour cet insecticide, une gamme de cinq (5) dilutions a été préparée de la manière suivante :

- **Pour préparer la dilution de perméthrine à 3,2% :**

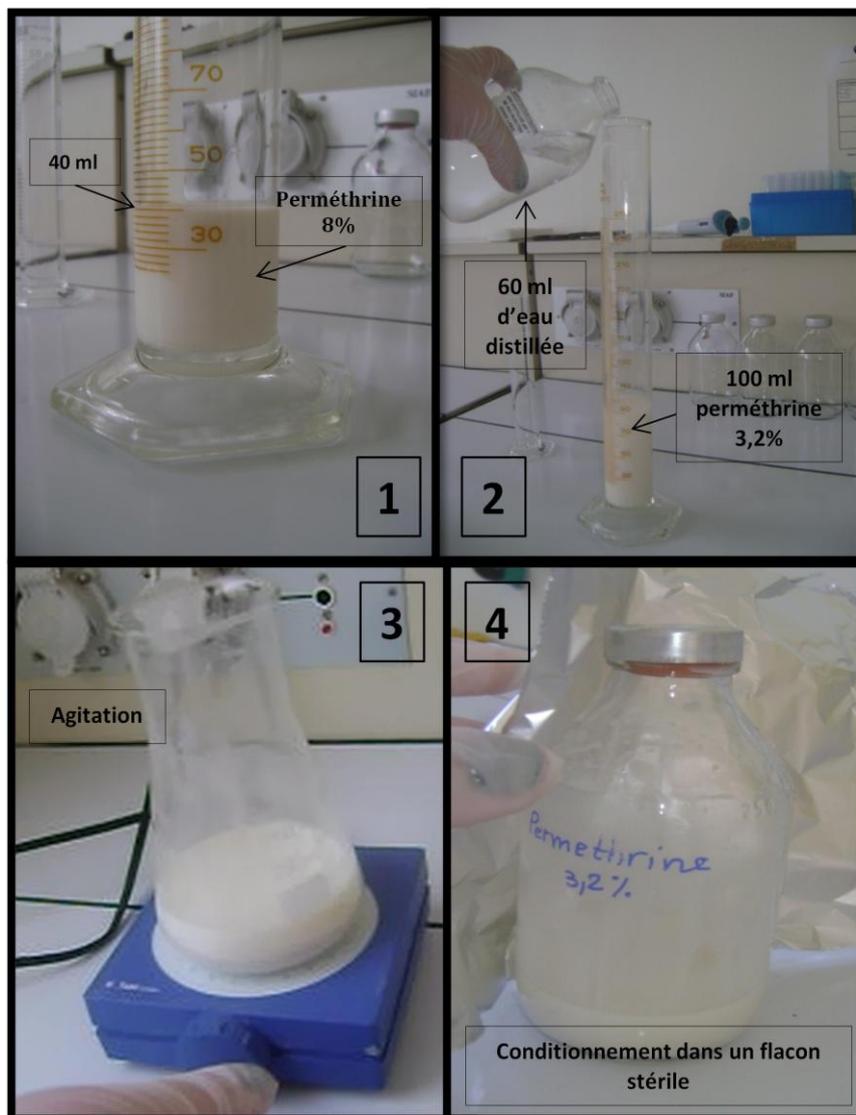
Il suffit d'appliquer la règle de trois pour connaître le volume de Perméthrine à 8% à utiliser pour obtenir 100 ml de solution :

8% ———> 100 ml

3,2% ———> X

$$X = \frac{3,2 \times 100}{8} = 40 \text{ ml}$$

C'est-à-dire que pour avoir une solution d'un volume de 100 ml de perméthrine à une concentration de 3,2 %, il faut ajouter 40 ml de perméthrine à 8% à 60 ml d'eau distillée.

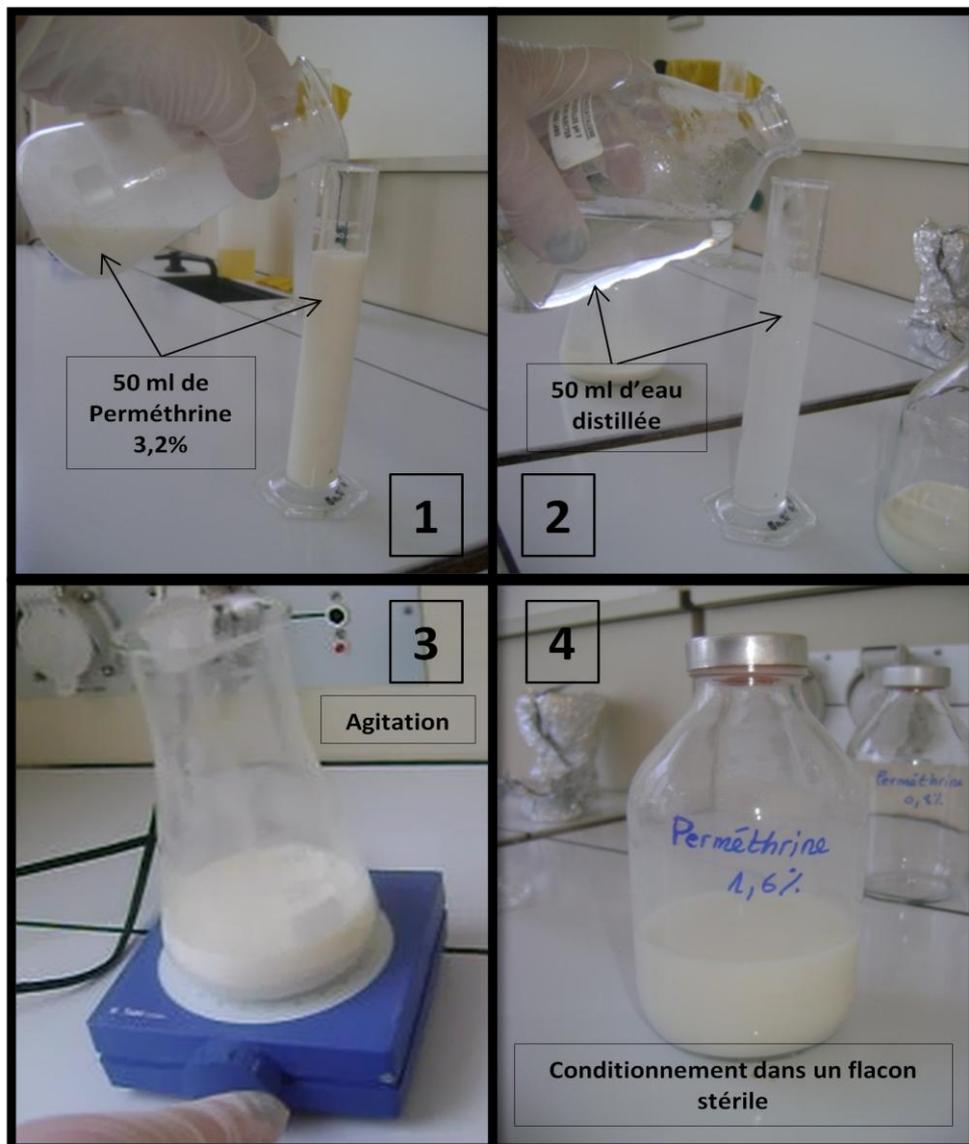


Préparation de la dilution de Perméthrine à 3,2%.

(Photos originales, 2013)

- Pour préparer les dilutions suivantes : il suffit de diluer à chaque fois de moitié la dilution précédente.

Exemple : Pour préparer la dilution de perméthrine à 1,6% il faut 50 ml de la dilution 3,2% à laquelle il faut ajouter 50 ml d'eau distillée.



Préparation de la dilution à 1,6% de Perméthrine.

(Photos originales, 2013)

✓ **Deltaméthrine à 2% (Alphythrine®) :**

Pour cet insecticide, une gamme de six (6) dilutions a été préparée de la manière suivante :

- **Pour préparer la dilution à 1,6% :**

On applique la règle de trois pour connaître le volume d'Alphythrine à 2% à utiliser pour obtenir 100 ml de solution :

$$\begin{array}{l} 2\% \longrightarrow 100 \text{ ml} \\ 1,6\% \longrightarrow X \end{array}$$

$$X = \frac{1,6 \times 100}{2} = 80 \text{ ml}$$

C'est-à-dire que pour avoir une solution d'un volume de 100 ml de Deltaméthrine à une concentration de 1,6 %, il faut ajouter 80 ml de Deltaméthrine 2% à 20 ml d'eau distillée et ce en suivant le même protocole que pour la Perméthrine.

- **Pour préparer les dilutions suivantes** : Il suffit de diluer à chaque fois de moitié la dilution précédente.

Exemple : Pour préparer la dilution d'Alphythrine à 0,8%, il faut 50 ml de la dilution 1,6% à laquelle il faut ajouter 50 ml d'eau distillée.

* **Annexe 7C : Stérilisation des tubes** :



Stérilisation des tubes.

(Photos originales, 2013)

Introduction

Chapitre I :
Partie
Bibliographique

Chapitre I I :
Matériel et
Méthodes

Chapitre I I I :
Résultats et
Discussion

Conclusion

Et

Perspectives

Références

Bibliographiques

Annexes