

42903



ÉCOLE
NATIONALE
VÉTÉRINAIRE
TOULOUSE

6608_2005-099

ANNEE 2005

THESE : 2005 – TOU 3 – 409

ÉVALUATION *IN VITRO* DE L'EFFICACITÉ DU FIPRONIL SUR *Culex pipiens pipiens*

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

DIPLOME D'ÉTAT

*présentée et soutenue publiquement en 2005
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

Muriel, Gabrielle TORAL Y CARO
Née, le 3 décembre 1981 à PAMIERS (Ariège)

Directeur de thèse : Monsieur le Professeur Michel FRANC

JURY

PRESIDENT :
M. Jean-Paul SEQUELA

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEUR :
M. Michel FRANC
M. Philippe DORCHIES

Professeur à l'École Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
Professeur à l'École Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Evaluation in vitro de l'efficacité du
fipronil sur *Culex pipiens pipiens*.

6608-2005-099

1



Table des matières

TABLE DES MATIERES	9
TABLE DES ILLUSTRATIONS	10
INTRODUCTION	11
I- Présentation de <i>Culex pipiens</i>	12
I-1- Caractères morphologiques des différents stades	12
I-2- Le cycle de développement	18
I-3- Biologie de <i>Culex pipiens</i>	20
I-3-1- Biologie des stades pré-imaginaux	20
I-3-2- Biologie des stades imaginaux	21
I-4- Les principales nuisances causées par <i>Culex</i>	24
I-4-1- Piqûres	24
I-4-2- Transmission de maladies	24
II- Le fipronil	26
II-1- La molécule et ses propriétés physico-chimiques	27
II-2- Mode d'action sur les invertébrés	27
II-3- Efficacité	27
II-4- Utilisation	28
II-5- Toxicité	29
III- Matériel et méthodes	30
III-1- Elevage des moustiques	30
III-1-1- Le local d'élevage	30
III-1-2- La souche de <i>Culex</i> utilisée	30
III-1-3- L'élevage	30
III-2- Les expérimentations	31
III-2-1- Le dispositif utilisé	31
III-2-2- Technique	32
III-3- Résultats	34
III-3-1- Exposition des moustiques au fipronil pendant 1heure	34
III-3-2- Exposition durant 24h	35
III-4- Comparaison des méthodes et des résultats avec des données bibliographiques	36
III-4-1- Méthodes	36
III-4-2- Résultats	43
III-5- Discussion	45
CONCLUSION	46
ANNEXES	47

Table des illustrations

Figures :

Figure 1 : Morphologie du moustique adulte vu de profil	13
Figure 2 : Morphologie du moustique adulte vu de dessus	13
Figure 3 : Têtes de <i>Culex</i> mâles et femelles	14
Figure 4 : Têtes de <i>Culex</i> mâles	14
Figure 5 : Coupe de trompe d'un <i>Culicinae</i> femelle	14
Figure 6 : Aile d'un moustique adulte	16
Figure 7 : Larve de <i>Culex sp</i>	16
Figure 8 : Nymphe mobile de <i>Culex sp</i>	16
Figure 9 : Œufs de <i>Culex</i>	17
Figure 10 : Cycle de <i>Culex pipiens</i>	19
Figure 11 : Respiration de la larve de <i>Culex sp</i>	20
Figure 12 : Fonctionnement du siphon respiratoire de la larve de <i>Culex sp</i> : clapets ouverts et fermés vue de dessus et de profil	20
Figure 13 : Mécanisme de la piqûre	21
Figure 14 : Femelle <i>Culex</i> pondant ses œufs sur l'eau	23
Figure 15 : Formule chimique du fipronil	26
Figure 16 : Aspiration des moustiques	37
Figure 17 : Introduction des moustiques dans le tube d'observation	37
Figure 18 : Transfert des insectes du tube d'observation au tube d'exposition	37
Figure 19 : Période d'exposition des moustiques à l'insecticide	38
Figure 20 : Attente de 24h dans le tube de mise en observation	38
Figure 21 : Application directe de l'insecticide sur le moustique anesthésié	40
Figure 22 : Test des cônes en plastic pendant la période d'exposition des moustiques	40
Figure 23 : Schématisation du test d'irritabilité	42

Photos :

Photo 1 : Tube et pompe d'aspiration	32
Photo 2 : Introduction des femelles <i>Culex</i> dans un pot	32
Photo 3 : Mise en place du papier filtre circulaire	33
Photo 4 : Pot tel qu'il se présente durant la période de mise en contact des moustiques avec l'insecticide	33
Photo 5 : Dénombrement de la mortalité	33

Graphes :

Graphe 1 : Nombre de moustiques morts en fonction du log népérien de la dose à 1h	34
Graphe 2 : Nombre de moustiques morts en fonction du log népérien de la dose à 24h	35

INTRODUCTION

Les vétérinaires sont souvent confrontés au choix d'un antiparasitaire à prescrire pour une clientèle de plus en plus exigeante. Ainsi, les antiparasitaires les plus polyvalents sont ceux qui rencontrent actuellement le plus de succès.

Ils permettent en effet, outre de protéger le chien des nuisances causées par les insectes et acariens, de limiter la transmission de pathologies virales, bactériennes et parasitaires.

Le fipronil est une molécule très utilisée dans la lutte contre les puces et les tiques chez les carnivores domestiques. En effet, le Frontline® est depuis plusieurs années l'un des antiparasitaires externes les plus vendus dans le monde entier. Il nous a paru intéressant de tester son activité de contact sur les moustiques. Une action rapide permettrait de prévenir la transmission d'agents pathogènes

Nous avons testé l'efficacité du fipronil sur des moustiques du complexe *Culex pipiens*, lors d'une exposition *in vitro* par contact continu sur des périodes d'1 et de 24 heures.

Dans une première partie, nous présenterons les moustiques du complexe *Culex pipiens*, leur morphologie, leur biologie, ainsi que les nuisances dont ils sont responsables.

Une seconde partie sera consacrée à l'étude du fipronil, son mode d'action, son utilisation et sa toxicité chez l'homme et les petits mammifères.

Enfin, le protocole des essais, les résultats obtenus ainsi qu'une comparaison avec les méthodes décrites dans la bibliographie seront exposés dans une troisième et dernière partie.

I- Présentation de *Culex pipiens*

I-1- Systématique et caractères morphologiques des différents stades

Systématique :

Les moustiques sont des Insectes Ptérygotes holométaboles appartenant à l'ordre des Diptères et au sous-ordre des Nématocères. Leur corps est élancé et ils possèdent de longues antennes à plus de six articles. Leurs pattes sont fines et longues. Seules les femelles sont hématophages. La famille des culicidés -dont fait partie *Culex*- se caractérise par des ailes recouvertes d'écailles. La trompe des adultes est d'une taille égale à celle de la tête et du thorax combinés [31].

Culex appartient à la sous-famille des Culicidés, dont il possède les principales caractéristiques :

- palpes allongés chez le mâle (plus longs que la trompe) et légèrement recourbés vers le haut,
- palpes plus courts que la trompe chez la femelle (environ un quart de sa taille),
- au repos, l'abdomen des adultes est quasiment parallèle au support
- larves avec antennes allongées,
- siphon respiratoire des larves long.

Comprenant presque 800 espèces, on retrouve les *Culex* dans de nombreuses régions du globe, notamment dans les régions tropicales, en Australie et en Europe [5, 45].

Culex pipiens est une espèce relativement commune en France, et surtout en région méditerranéenne. On la retrouve également dans toutes les régions tempérées de l'hémisphère nord. Cette espèce rurale à activité nocturne est domestique, c'est-à-dire qu'elle hiverne dans les habitations. Zoophile, elle pique surtout oiseaux et batraciens, et semble ne jamais s'attaquer aux humains [31, 5, 34].

L'adulte :

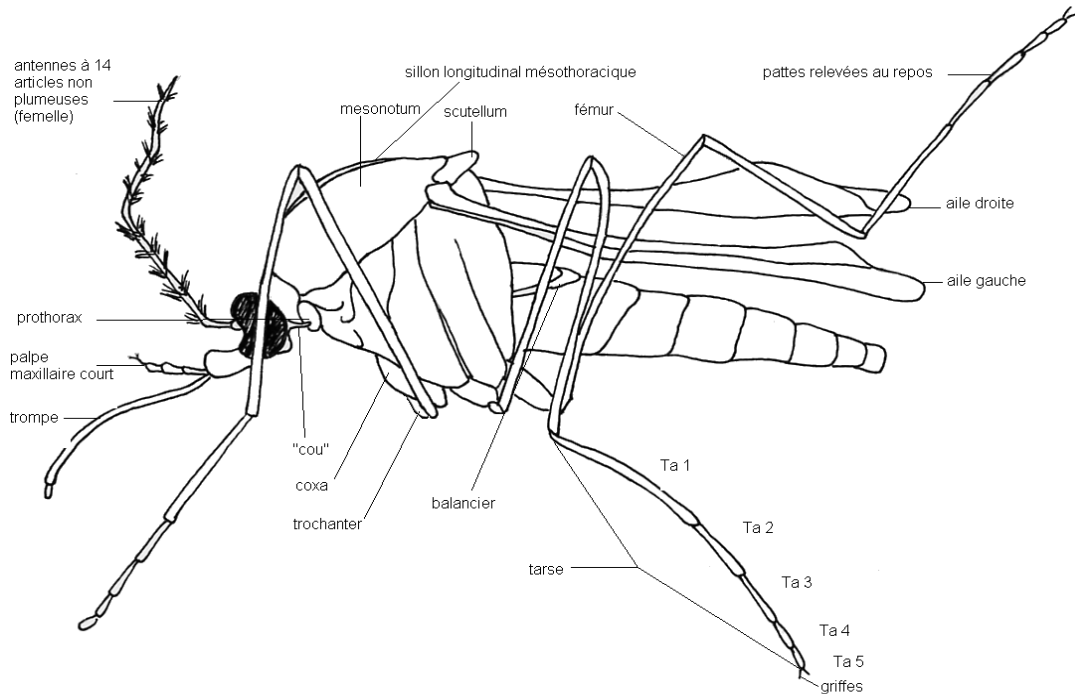
Il mesure 3 à 6 mm de long.

- **Tête :** Sa tête est sombre, couverte d'écailles fourchues dressées et sombres entre lesquelles sont situées des écailles blanches et des poils bruns. Sur les joues se trouvent des écailles plus courtes formant une tache blanche [1, 31].

Les antennes sont de calibre uniforme, très spumeuses et à 15 articles chez le mâle, peu spumeuses et à 14 articles chez la femelle, dont les soies sont plus courtes. Les mâles ont à la base de l'antenne un deuxième article dilaté comprenant des organes sensoriels disposés radialement : organe de Johnston, siège de l'audition [23, 27].

Les femelles possèdent des pièces buccales de type piqueur-suceur qui font saillie devant la tête, et sont composées de 7 articles : acérée en biseau, la trompe comprend, entre autres, les six pièces vulnérantes (labium-épipharynx, hypopharynx, 2 mandibules, 2 mâchoires). Le tout est protégé par une enveloppe souple : le labium. Les mandibules et les maxilles, en forme de piquet, sont bien adaptées à la fonction de

piqueur. Le labre pointu et l'hypopharynx pénètrent également dans la plaie. Le labre est creusé en gouttière, et avec l'hypopharynx, forme le canal alimentaire par lequel le sang est aspiré. Chez le mâle, les maxilles et mandibules sont réduits. Enfin, à la base de chaque mâchoire se trouve un palpe maxillaire à 4-5 articles, plus long que la trompe chez les mâles [1, 8, 28, 30].



Figures 1 : Morphologie du moustique adulte vu de profil (modifié d'après 27)

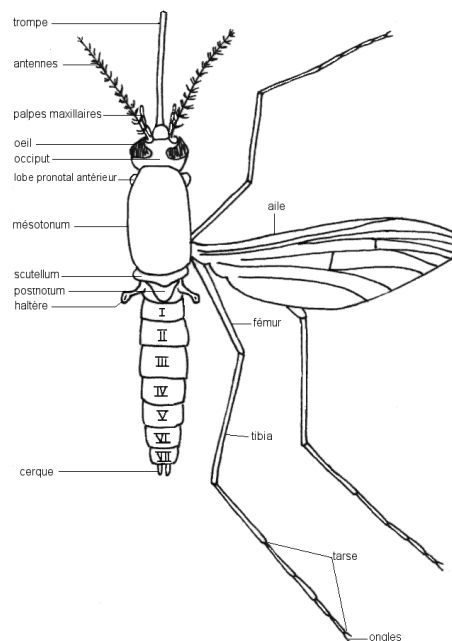
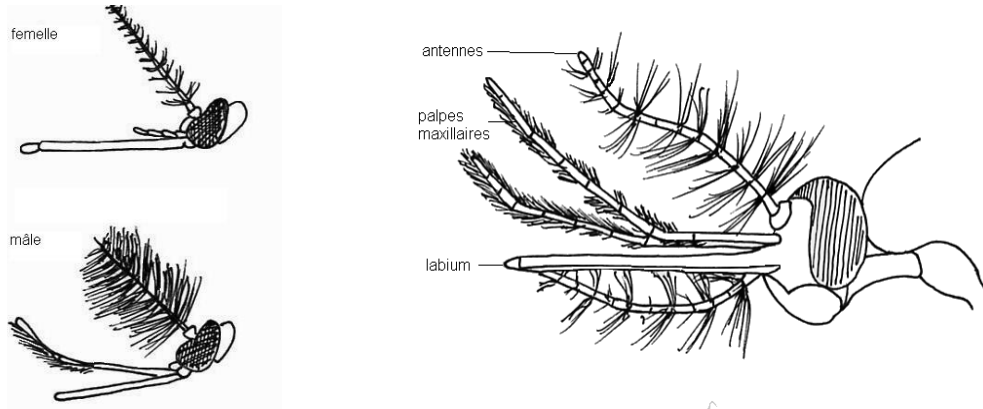


Figure 2 : Morphologie d'un Culex adulte vu de dessus (modifié d'après 5)



Figures 3 et 4 : A gauche, tête de *Culex* mâle et femelle (modifié d'après 27 et 34). A droite, tête de *Culex* mâle.

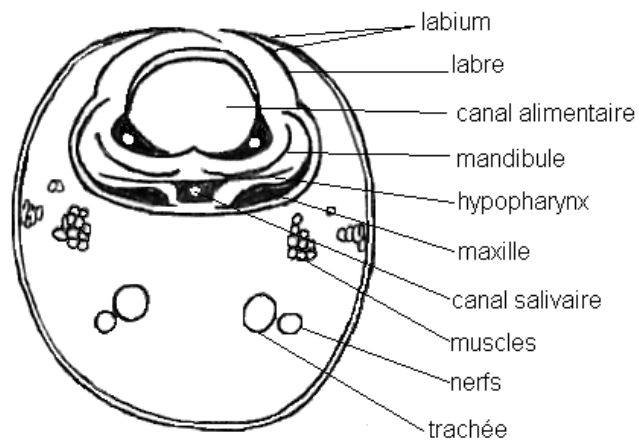


Figure 5 : Coupe de trompe d'un *Culicinae* femelle (modifié d'après 5)

- **Thorax** : Composé de trois segments soudés (le prothorax, le mésothorax et le métathorax), il porte les ailes et les pattes. Le thorax est brun recouvert d'écailles fauves foncées avec quelques écailles claires sur les côtés.
Les pattes grêles sont brunes et non annelées, le fémur est noir au dessus et blanc au dessous, et on peut distinguer une tache blanche au niveau du genou. Elles sont formées de 5 pièces en tout, et le tarse, à 5 articles, porte 2 griffes.
Les ailes sont non tachées. Comme le corps et les pattes, les ailes sont recouvertes d'écailles fixées sur les nervures et sur le bord postérieur. Au repos, elles sont repliées sur l'abdomen. En arrière des ailes se trouvent les balanciers, qui sont de petits organes sensoriels oscillatoires servant au contrôle du vol [5, 6].

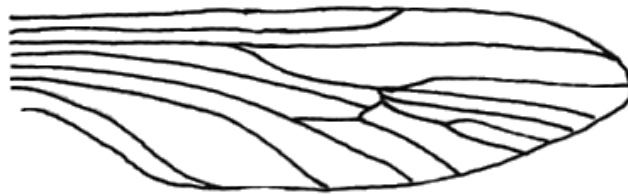


Figure 6: Aile d'un moustique adulte (modifié d'après 45)

- **Abdomen** : Grêle et allongé, il est composé de 9 segments terminés par 2 cerques, appendices courts protégeant l'anus et l'orifice génital. Il est recouvert d'écailles claires, brunes et blanches avec de longs poils sur la face dorsale. Une ligne longitudinale sombre ainsi que quelques taches sombres sur les cotés ornent la face ventrale. Chez les mâles, l'abdomen se termine en une armature génitale servant à maintenir la femelle durant l'accouplement. Chez les femelles, on trouve un oviscapte qui intervient lors de la ponte [5, 6, 34].

La larve : Celle de *Culex pipiens pipiens* se développe indifféremment dans les eaux claires ou polluées . D'aspect vermiforme, son corps se divise en trois segments : tête, thorax trapu et dépourvu d'appendices locomoteurs, abdomen souple. Sa taille varie de 2mm à 12 mm en moyenne en fonction des stades. Elle est dépourvue d'appareil locomoteur, ce qui ne signifie pas qu'elle soit immobile. Son extrémité caudale est munie d'un siphon, ou tube respiratoire (dans le prolongement de l'abdomen), long et étroit affleurant à la surface de l'eau ; ce tube est muni de 5 clapets qui s'ouvrent sur deux orifices par où l'air pénètre à l'intérieur quand la larve monte à la surface de l'eau, et se rabattent quand elle gagne les profondeurs [27, 28].

Ses pièces buccales sont de types broyeur, adaptées à un régime saprophyte (alimentation de type particulière) [1, 31].

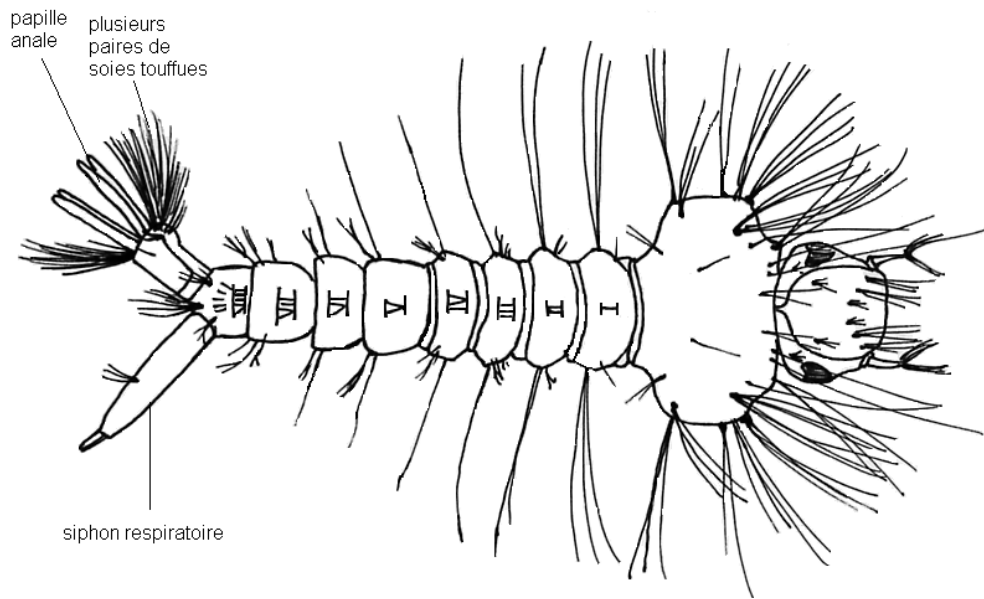


Figure 7 : Larve de *Culex sp.* (modifié d'après 27 et 31).

La Nympe : La tête et le thorax fusionnent pour donner un céphalo-thorax sur lequel on trouve deux trompes qui permettent à la nympe de respirer. Sa forme globale rappelle celle d'un point d'interrogation. Les orifices anal et buccal étant bouchés, la nympe ne se nourrit pas. Ses palettes natatoires, situées sur l'abdomen, lui permettent de se déplacer [1, 6, 28].

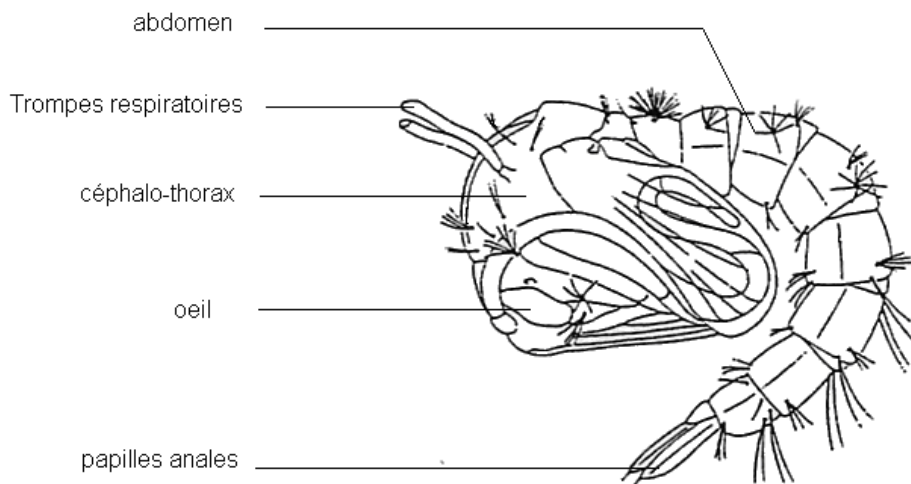


Figure 8: Nympe mobile de *Culex sp.* (modifié d'après 6).

Les œufs : Fusiformes, ils mesurent environ 1mm de long. Blanchâtres au moment de la ponte, ils s'assombrissent dans les heures qui suivent. Une corolla est présente au niveau du pôle inférieur de l'œuf. Ils sont pondus dans l'eau, réunis par 200 à 400 en nacelle dont l'arrangement leur permet d'être insubmersibles [27, 28].

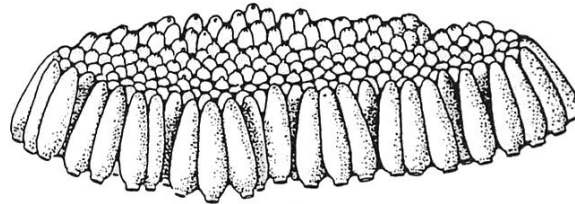


Figure 9 : Œufs de *Culex sp* (d'après 6).

I-2- Cycle de développement

Les moustiques sont des Insectes à métamorphose complète, c'est-à-dire que les larves sont très différentes des adultes.

Contrairement à la femelle, le mâle ne prend pas de repas sanguin, indispensable à cette dernière pour porter ses œufs à maturité. Cela lui est possible grâce à des pièces buccales adaptées (cf. morphologie).

Les œufs sont pondus dans l'eau, claire en général, mais on en trouve également dans les eaux polluées, avec des matières organiques qui permettront aux larves de se nourrir. Ils sont déposés en paquets formant une nacelle qui flotte sur l'eau. Cette nacelle mesure 3-4 mm de long et 2-3 mm de large. L'éclosion se produit environ 24h à 48h après l'oviposition. [29, 31].

Les larves ont un mode de vie exclusivement aquatique, d'une durée de 5 à 6 jours.

Dans certaines conditions, la densité larvaire est telle que les larves peuvent occuper la totalité de la surface d'un plan d'eau. Elles subiront 3 mues avant de se transformer en nymphe. Au cours de ces mues, la tête de la larve va grossir de façon spectaculaire (+ 50% à chaque mue). La fin du développement larvaire se caractérise par la lyse des muscles, première étape permettant le passage de la vie en milieu aquatique à la vie en milieu terrestre. La L4 ne se nourrit pas, puis mue en nymphe [5, 6, 28, 29, 31, 34].

La nymphe vit 2-3 jours dans l'eau, le temps que s'opèrent de profondes modifications anatomiques ; puis elle entame sa mutation en s'immobilisant à la surface de l'eau. D'abord relativement mobile, elle finit par s'immobiliser à la surface de l'eau [28, 45]. La métamorphose s'accomplit en 1-2 jours si la température est suffisamment élevée.

Quand l'adulte est complètement formé dans son enveloppe nymphale, l'insecte reste en surface et commence à respirer. Le tégument se dessèche alors au contact de l'air et il se forme une déchirure en T sur sa face dorsale sous l'effet de l'augmentation de la pression interne. L'imago se dégage progressivement en se gonflant d'air pour s'envoler après un temps nécessaire au déplissage des ailes et des pattes (par augmentation de la pression de l'hémolymphe) [5, 23, 29, 31].

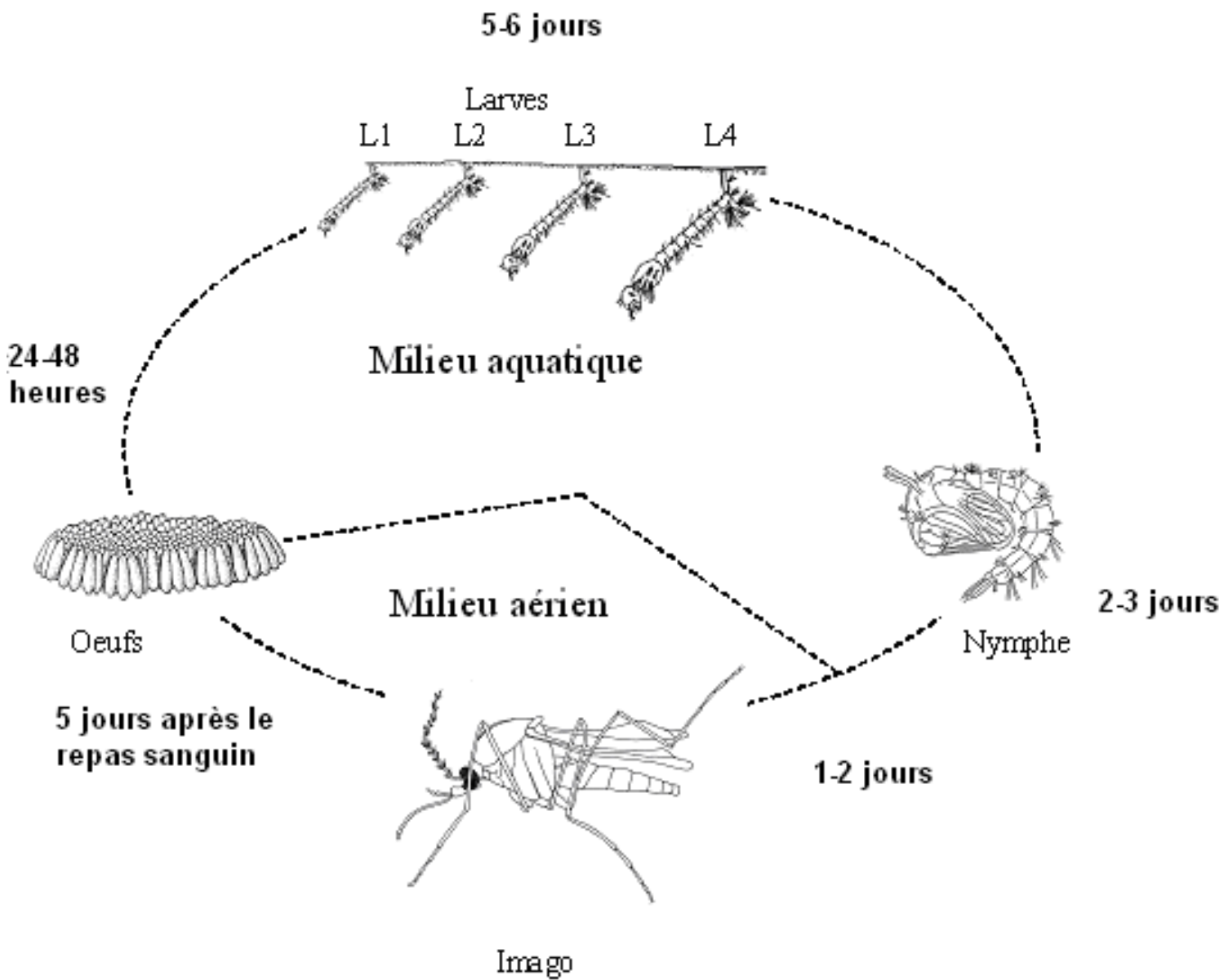


Figure 10 : Cycle de *Culex pipiens*

I-3- Biologie de *Culex pipiens*

I-3-1- Biologie des stades pré-imaginaux

○ Les œufs

Chaque œuf est protégé par une coque étanche à l'eau et résistante à la dessiccation .
Pour sortir de l'œuf, les larves utilisent un bouton d'éclosion, petite dent située en arrière de leur tête. [6, 28, 45].

○ Les larves

Elles se nourrissent de bactéries et de plancton, ce qui leur prend 95% de leur temps. Elles sont mobiles et respirent grâce à leur siphon respiratoire. Pour respirer, les larves des culicinés se tiennent obliquement par rapport à la surface de l'eau, tête en bas.
Elles peuvent se déplacer par mouvements saccadés grâce à de brusques contractions de leur corps [43].

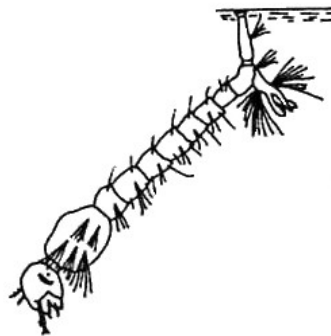


Figure 11 : Respiration de la larve de *Culex sp* (modifié d'après 5 et 18).

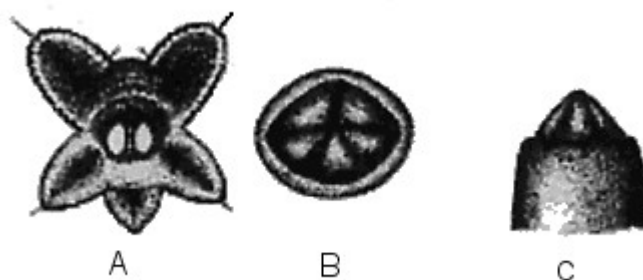


Figure 12: Fonctionnement du siphon respiratoire de la larve de *Culex sp* : clapets ouverts (A) et fermés vue de dessus (B) et de profil (C) (modifié d'après 27).

○ Les nymphes

La nymphe ne se nourrit pas, mais puise dans les réserves stockées au stade larvaire. Elle reste généralement à la surface de l'eau mais plonge dès qu'elle est dérangée, en déployant et reployant brusquement l'abdomen terminé par deux palettes natatoires. En outre, une bulle d'air emprisonnée dans ses appendices lui permet de flotter lorsqu'elle est au repos.

I-3-2- Biologie des stades imaginaux

○ Habitat et nutrition

Les *Culex* sont surtout abondants dans les pays chauds, où on les retrouve toute l'année. Dans les pays tempérés, ils abondent surtout en été et automne. Très hygrophiles, ils ont une activité principalement nocturne, et leur développement est lié à la présence d'eau [5, 34].

Durant les premiers jours de leur existence, les adultes mâles et femelles sont au repos dans des lieux abrités. Leur premier repas, pris au crépuscule, est composé de nectar. Il permet, entre autres, la maturation des organes génitaux ainsi que la constitution de réserves énergétiques pour le vol.

Après la reproduction, les femelles prendront un repas sanguin nécessaire à l'élaboration des œufs. Cependant, les femelles de *Culex pipiens* peuvent produire une première ponte sans repas : elles sont dites autogènes. Elles utilisent les réserves accumulées par la larve [23, 28, 31].

La femelle de *Culex pipiens pipiens* est zoophile, c'est-à-dire qu'elle prend ses repas sanguins préférentiellement sur les animaux. Elle repère son hôte par les mouvements, les formes et les couleurs de celui-ci (sombre en particulier), puis par l'odeur de substances chimiques, comme le gaz carbonique, qu'il dégage en respirant. Ce repérage se fait grâce à ses palpes maxillaires. Certaines odeurs, telle que la transpiration, poussent la femelle à piquer. En outre, les moustiques sont sensibles aux radiations infrarouges, qui les guident vers les animaux à sang chaud [1, 29].

La piqûre se fait par introduction des six stylets ; le labium, non perforant, se replie à la surface de la peau. Les stylets pénètrent directement dans un capillaire (solénophagie), dans lequel la salive est injectée à plusieurs reprises au cours du repas. Cette salive contient une substance inhibant l'hémostase ainsi que l'agrégation plaquettaire. La salive est également composée de substances immunogènes responsables des réactions cutanées caractéristiques secondaires à la piqûre. Elle constitue également, le cas échéant, le support à la transmission vectorielle (protozoaires, virus). En 20 minutes maximum, la femelle peut ingérer jusqu'à quatre fois son poids en sang, soit $10,2 \text{ mm}^3$. Une fois repue, elle se sert du labium comme d'un levier pour retirer ses stylets de la plaie. Alourdie et donc plus vulnérable, elle se repose à faible distance du lieu du repas [5, 6, 31].

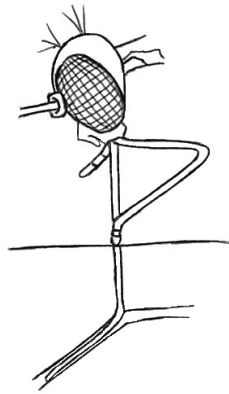


Figure 13 : Mécanisme de la piqûre, montrant l'insertion des pièces buccales dans un capillaire et le repli du labium à la surface de la peau (modifié d'après 22 et 34)

○ Reproduction :

Deux à quatre jours après leur sortie de l'eau, les moustiques partent en quête d'un partenaire sexuel. Le moustique mâle est attiré par les vibrations des ailes de la femelle en vol (200 à 400 battements par seconde), ainsi que par des phéromones sexuelles. La perception des phéromones par le mâle est rendue possible par des soies sensibles situées sur les antennes. Les battements d'ailes, quant à eux, sont perçus grâce à l'organe de Johnston, lui aussi formé de soies spéciales et situé sur les antennes [27, 29]

Culex pipiens pipiens est hétérodynamique, c'est-à-dire que la reproduction est saisonnière.

Après l'accouplement, les mâles ne tardent pas à mourir. Il n'y a généralement qu'un seul accouplement au début de la vie de l'adulte, le sperme étant stocké dans les spermathèques de la femelle où il est conservé tout au long de la vie de celle-ci.

La fécondation des œufs a lieu au fur et à mesure de la ponte [1, 5, 6, 28].

Les femelles nées à l'automne ne se reproduisent pas ; elles se nourrissent de substances sucrées ce qui leur permet ensuite de survivre tout l'hiver sans s'alimenter. [1, 31].

○ Ponte :

Une fois gorgée de sang, la femelle se réfugie dans un abri jusqu'au développement complet des œufs, puis elle cherche un endroit pour pondre. Le nombre d'œufs varie en fonction de la quantité de sang absorbé, les pontes autogènes étant toujours composés d'un nombre relativement réduit d'œufs [27, 28]. Les œufs sont déposés en nacelle à la surface de l'eau, perpendiculairement à celle-ci, et arrangés de façon à ce que la larve ait la tête en bas et émerge par le dessous de l'œuf [1]. Une femelle peut pondre 800 à 2500 œufs répartis en pontes de 100 à 400 [1, 31].

Les pontes ont généralement lieu au crépuscule [28].

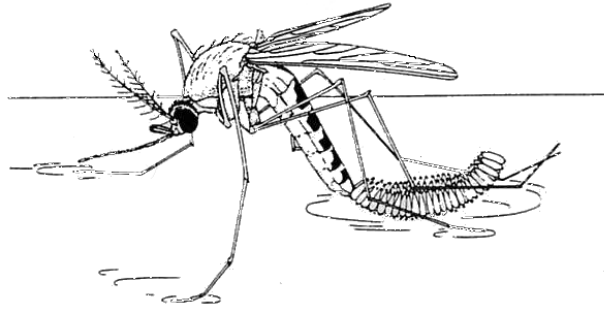


Figure 14 : Femelle *Culex* pondant ses œufs sur l'eau (d'après 6)

- Vol et dispersion :

Culex pipiens pipiens est une forme campagnarde de *Culex*. Cette espèce est dite « sociale et domestique ».

Les capacités de vol varient en fonction des conditions météorologiques et de milieu. La distance parcourue dépend de la réserve d'énergie fournie par le glycogène, synthétisé à partir du nectar et stocké dans le corps gras et les muscles. La distance maximale parcourue après un repas de nectar est d'environ 30 km mais pas forcément en une seule fois ni en une seule direction. Des vols de dispersion se produisent à différentes périodes de la vie du moustique (quête d'un hôte, propagation de l'espèce...) et concernent principalement les femelles.

Il existe également une dispersion passive par le vent et les moyens de transports (avions) [5, 28].

- Le rythme circadien :

Les moustiques possèdent un rythme endogène d'activité et de repos. Cela concerne tant la ponte que les repas de nectar et de sang. Ce rythme circadien se maintient même si l'activité ne peut pas avoir eu lieu : température trop basse, absence d'hôte pour le repas de sang [28, 31]...

- Durée de vie des adultes

Chez *Culex pipiens*, les adultes ne vivent pas plus de deux à trois semaines pour les mâles, et jusqu'à trois mois pour les femelles.

Les femelles nées à l'automne peuvent survivre durant l'hiver [1, 28].

I-4- Les principales nuisances causées par *Culex*

I-4-1- Piqûres :

Chez l'homme comme chez l'animal, la piqûre du moustique femelle provoque une lésion ronde de quelques mm à 2 cm de diamètre souvent prurigineuse [28]. Des réactions allergiques à ces piqûres peuvent apparaître, dues à l'injection d'antigènes salivaires, mais pouvant aussi être dues au simple contact avec le moustique ou ses excréments [7]. L'expression de cette allergie chez le chien peut être aussi bien locale que généralisée, et se manifeste par des plaques érythémateuses très prurigineuses [40].

I-4-2- Transmission de maladies :

Les moustiques sont vecteurs de nombreuses maladies [1, 9, 18, 41]. En règle générale, la transmission des agents pathogènes se fait selon un cycle peu varié : contamination du moustique sur un hôte 1 porteur de la maladie, maturation et parfois multiplication de l'agent pathogène dans le corps du moustique (pour les parasites), puis inoculation à un hôte n°2 lors d'un second repas sanguin.

Les principaux agents pathogènes sont :

➤ **Des virus** : West Nile, fièvre jaune, dengue...

➤ **Des parasites**, notamment des filaires :

- *Wucheria bancrofti*, responsable de la filariose lymphatique chez l'homme ;

- *Dirofilaria immitis*, responsable de la dirofilariose cardio-pulmonaire chez le chien mais aussi le coyote, le loup, le renard, des chats, des ursidés, des pinnipèdes [19]...

Le parasite adulte, qui mesure 15 à 30 cm de long pour la femelle, et 12 à 18 cm pour le mâle, vit essentiellement dans le cœur droit et l'artère pulmonaire du chien. Lorsque les filaires se localisent dans la veine cave postérieure, elles peuvent être à l'origine d'une congestion hépatorenale, qui provoque des troubles aigus. L'embolisation de parasites au niveau de l'artère pulmonaire peut déterminer de l'endartérite, ainsi que de la fibrose de l'intima artérielle [9, 17, 19]. Une cardiopathie décompensée peut être observée dans certaines formes graves.

Les larves, ou microfilaires, qui mesurent 0,2 à 0,3 mm de long, passent dans la circulation sanguine, d'où elles pourront contaminer les moustiques prenant leur repas sanguin. Une maturation de 15j à l'intérieur du moustique (passage de L1 à L3) leur permet de devenir infestantes et de contaminer un nouvel animal lors d'un second repas sanguin du moustique. Chez l'hôte définitif L4 puis L5 (qui atteignent la longueur de 8 à 11 cm), migrent dans le tissu sous cutané, les veines, le cœur droit, l'artère pulmonaire où elles séjournent pendant 7 à 8 semaines. Puis par voie rétrograde elles atteignent le cœur droit où elles se transforment en adultes. Ces migrations peuvent provoquer des inflammations locales [19, 24].

Ce parasite est présent sur tous les continents, dans les zones où le vecteur est suffisamment présent. En Europe, on le trouve notamment en Grèce, en Italie, dans les pays de l'Est, au

Portugal et en France [18, 37]. En France, les zones les plus atteintes sont la chaîne des Pyrénées, le pourtour Méditerranéen, la Corse et la Normandie [18].

D. repens, plus petite que *D. immitis*, est aussi moins pathogène. Les adultes siègent dans le tissu conjonctif sous cutané. Les microfilaires sont sanguicoles. Généralement asymptomatique, la filariose sous cutanée peut provoquer chez le chien des nodules d'où l'on peut extraire le parasite. Les microfilaires circulantes peuvent également provoquer des lésions cutanées prurigineuses. On peut enfin trouver l'adulte en région oculaire (humeur vitrée, conjonctive), ou périoculaire (paupières : nodule prurigineux).

Les filarioses peuvent se transmettre à l'homme, ce qui justifie une lutte contre le parasite mais aussi son vecteur [9, 18].

Ces nuisances, non négligeables, sont le principal moteur de la lutte anti- moustiques.

De nombreuses méthodes sont employées, parmi lesquelles la lutte chimique. Le fipronil, qui fait l'objet de notre étude, pourrait être l'une de ces molécules.

II- Le fipronil

Le fipronil est un antiparasitaire de la famille des phényls pyrazolés. Cet insecticide est issu de la recherche de Rhône- Poulenc, découvert et développé dans les années 80, et commercialisé pour la première fois en 1993.

II-1- La molécule et ses propriétés physico-chimiques

La molécule a pour formule brute $C_{12}H_4Cl_2F_6N_4OS$, et son nom exact est le 5-amino-1-[2,6 dichloro-4(trifluorométhyl)phényl]-4-1-H-pyrazole-3-carbonitrile. Sa structure s'articule autour d'un cycle benzénique et d'un cycle pyrazole qui sont multisubstitués. Sa masse moléculaire est de $437,1g.mol^{-1}$.

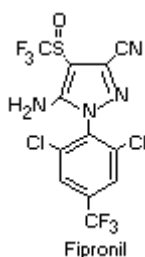


Figure 15: Formule chimique du fipronil (d'après [32]).

Le fipronil se présente sous la forme d'une poudre blanche à 23°C, sa température de fusion est de 201°C. Cette poudre est stable à des températures moyennes durant 1 an, mais devient instable en présence d'ions métalliques [42]. Sa solubilité dans l'eau varie de 1,9 à 2,4 mg/L à 20°C, ce qui est relativement faible [11]. Par contre sa solubilité dans les solvants organiques est élevée (solubilité dans l'acétone : 549,9g/L) [44].

II-2- Mode d'action sur les invertébrés

Le fipronil agit par inhibition non compétitive de l'acide gamma amino-butyrique (GABA), neuromédiateur principal des invertébrés. Ce neuromodulateur permet la régulation des flux ioniques des cellules nerveuses périphériques *via* des pompes à chlore. En bouchant le canal chlore des cellules nerveuses des invertébrés, le fipronil empêche la régulation du flux électrique, conduisant à une hyperexcitation du parasite arthropode, puis à sa mort. [8, 30]. Il agit par contact avec l'insecte ou par ingestion [11, 25].

II-3- Efficacité

Le fipronil se concentre dans les glandes sébacées, et est présent dans le film lipidique superficiel. Son action contre les tiques peut durer jusqu'à 3 semaine[3], voire 30 jours selon le fabricant. L'action annoncée contre les puces persiste 60 à 90 jours chez le chien et 40 jours chez le chat. Des études de laboratoire ont démontré une efficacité allant jusqu'à 5 semaines chez des chats [40].

La diffusion du fipronil sur l'épiderme a été démontrée par autoradiographie. La sécrétion continue par les glandes sébacées permet un effet durable, de plus de trois mois contre les puces, et un mois contre les tiques chez le chien. Des traces de fipronil [¹⁴C] ont été détectées jusqu'à 56 jours après traitement au niveau des zones d'application. Le produit ne diffuse pas jusqu'au derme (absence de radioactivité détectée) [12].

Cependant, il faut noter que l'effet du fipronil n'étant pas immédiat, il n'a aucun effet anti-gorgement [20].

II-4- Utilisation

De part ses effets insecticides et acaricides, le fipronil est très utilisé comme produit phytosanitaire pour le traitement des semences contre les insectes nuisibles (criquets, sauteriaux...). Pour l'hygiène publique, le fipronil permet de lutter contre les mouches et les blattes [22].

Dans le domaine de la médecine vétérinaire, il est utilisé comme antiparasitaire externe chez le chien et le chat, dans le cadre de la lutte contre les puces et les tiques. Cet antiparasitaire, développé par Merial, est commercialisé sous le nom de Frontline®. Il existe désormais une nouvelle formulation, qui associe le fipronil au (S)-méthoprène, commercialisé sous le nom de Frontline combo®, qui permet une lutte contre tous les stades de développement des puces [49].

Son utilité a en outre été démontrée dans le traitement d'ectoparasitoses particulières du chien et du chat (utilisation hors AMM). Ainsi, son efficacité a été démontrée pour le traitement de la cheyletiellose [8], la trombiculose (*Trombicula autumnalis*) [35], la pédiculose (*Trichodectes canis*) [13], et même la gale sarcoptique (*Sarcoptes scabiei*) [15].

Chez le cheval, l'administration hors AMM de fipronil permet le contrôle de l'infestation par les tiques durant huit à quinze jours. Elle permet également de lutter contre les poux mallophages (*Damalinia equi*) en rompant le cycle de cet ectoparasite [30].

Chez les bovins, son efficacité a été démontrée hors AMM contre les tiques (*Boophilus microplus*), les puces (*Ctenocephalides felis felis*) [2, 16], mais aussi contre certaines larves de mouches (*Cochliomyia hominivorax*) [33].

Son usage est contre-indiqué chez le lapin, qui ne tolérerait pas l'excipient du Frontline® [14].

II-5- Toxicité

La configuration des GABA- récepteurs des Insectes et celle des Mammifères étant différente, l'action du produit agit sélectivement, ce qui en fait un produit très sûr, avec une dose létale nettement supérieure à la dose thérapeutique.

Il faut cependant noter que la toxicité observée sur les Mammifères semble impliquer les interférences avec le fonctionnement normal des récepteurs GABA [42].

La dose létale chez le rat est de 100 mg/kg par voie orale, et de 2000mg/kg par voie dermique, et 0,4 mg/L par inhalation. Les doses préconisées chez le chien et le chat varient de 7,5 à 15 mg/kg pour les sprays et de 6,7 à 33,5 mg/kg pour les spots-on. Des études ont montré qu'aucun effet anormal ne se produisait sur des animaux traités durant plus de six mois avec des doses cinq fois supérieures à la posologie habituelle. Chez le chien, des signes de neurotoxicité apparaissent à partir d'une dose de 2 mg/kg/j.

En cas d'intoxication aiguë, l'animal va présenter des signes de neurotoxicité, comme une ataxie. Une intoxication chronique à de fortes doses peut entraîner des convulsions cloniques, mais aussi une diminution de taille du thymus et une pâleur du foie à l'autopsie [42]. De plus, la membrane basale des Mammifères agit comme une barrière, ce qui empêche la diffusion de la molécule jusqu'au derme, prévenant ainsi d'éventuels effets systémiques.

Cependant, une éventuelle salivation en cas de léchage du produit après application est notifiée par le fabricant. Il a été également signalé par des propriétaires des vomissements sans gravité d'une durée inférieure à une journée chez des animaux traités au Frontline® spray [32, 44]. Le bichon frisé semble développer facilement des réactions cutanées à l'application du spot-on [42].

Chez l'homme, des nausées, des maux de têtes, des vertiges, et de la fatigue de façon passagère ont été décrits chez une personne exposée lors d'épandage de fipronil sur ses champs [10], mais aucun effet secondaire n'a été décrit aux doses utilisées dans le Frontline®.

III- Matériel et méthodes :

III-1- Elevage des moustiques :

III-1-1- Le local d'élevage :

Les moustiques sont élevés dans une pièce dont l'éclairage est contrôlé (12 heures d'obscurité puis 12 heures d'éclairage).

La température pour la durée de l'essai a varié entre 18°C et 24°C, pour une humidité de 43 à 46%.

III-1-2- Souche de *Culex* utilisée:

Les moustiques utilisés sont nés et élevés dans notre laboratoire, et proviennent d'une souche initialement fournie par l'E.I.D. (Entente Interdépartementale pour la Démoustication) en 2001. Il s'agit de la souche S.LAB., appartenant à l'espèce *Culex quinquefasciatus* (du complexe *Culex pipiens*). Cette souche est homozygote sensible, et anautogène. Normalement maintenue sur cobaye, cette souche a été adaptée au chien et au lapin dans notre laboratoire.

III-1-3- L'élevage :

Les œufs sont récoltés et placés dans des bacs remplis d'eau, dans lesquels les larves après éclosion vont se développer. Les larves sont alimentées avec des croquettes pour chien, en poudre pour les premiers stades, et entières à partir du stade L3.

Les nymphes sont régulièrement récoltées et placées dans des petits récipients contenant de l'eau. Ces récipients sont disposés dans des cages cubiques de 30cm de côté qui abritent les adultes provenant des nymphes. Ces derniers sont nourris d'eau et de miel exclusivement pour ceux utilisés pour nos essais. Une partie des moustiques ne sont pas utilisés pour les essais et sont transférés dans des cages de 60cm x 60cm x 90cm où ils pourront se gorger sur un chien anesthésié puis pondre dans des récipients remplis d'eau.

III-2- Les expérimentations :

III-2-1- Le dispositif utilisé :

Ces tests sont réalisés dans le but de déterminer *in vitro* la concentration de fipronil tuant 50% et 90% des moustiques exposés durant 24 ou 1 heure.

Le local utilisé est indemne de toute contamination par des insecticides, qui fausserait les résultats. Le même local est utilisé pour tous les essais, de manière à avoir les mêmes conditions d'humidité et de température.

Des lots de 25 moustiques femelles à jeun âgées d'un dizaine de jours sont placés dans un dispositif leur imposant un contact permanent avec l'insecticide pendant le temps souhaité. Etonnamment les résultats seraient identiques si nous avions utilisé des femelles gorgées [46].

Sept concentrations différentes sont testées lors de chaque essai, avec en plus 4 lots témoins. Les concentrations ont été déterminées à partir de la concentration recommandée par le fabricant du Frontline® chez le chien, ainsi que par des pré-essais. Les dilutions de Frontline® ont été réalisées au laboratoire, ainsi que l'imprégnation des papiers filtres.

Le dispositif comprend:

- 1 papier filtre Whatmann® de 90g/m² N°5, d'un diamètre de 185mm coupé en 2. Ce papier, après imprégnation et séchage, est roulé de manière à former un cône qui sera placé dans un pot. Les diamètres du pot et de la base du cône coïncident parfaitement.
- 1 papier filtre Whatmann® de 90g/m² N°5 d'un diamètre de 90mm. Ce papier est imprégné, séché, puis placé sur le dessus du pot immédiatement après l'introduction des moustiques. Le pot est ensuite refermé.
- 1 pot en matière plastique de 530 mm de diamètre et 115mm de haut, avec 1 couvercle (en plastique également) se vissant dessus. 1 pot ne sert que pour 1 seul papier filtre, car même lavé, des traces de produits pourraient persister et fausser les résultats [36].
- Les dilutions sont faites à partir de Frontline® et d'alcool modifié à 70°. Les demi-cercles de 185 mm de diamètre sont imprégnés avec 2mL de solution. Pour les cercles de 90mm de diamètre, on utilise 0,946mL de solution. Les concentrations de produit sont exprimées en mg/m².
- L'imprégnation des papiers filtre est réalisée sous hôte aspirante, à l'aide d'une micropipette. La solution est répartie de façon homogène sur le papier filtre. Les papiers sèchent sous la hôte durant une trentaine de minutes, puis sont placés dans des enveloppes (une enveloppe par dilution) fermées jusqu'au jour de l'essai. Les demi-cercles sont roulés et placés dans des pots quelques jours avant l'essai. Le tout est stocké dans une pièce fermée, à l'abri de l'humidité et de la lumière.
- Pour l'aspiration des moustiques : 1 tube coudé en verre d'1cm de diamètre, relié par un tube en plastique souple à une pompe à aspiration réversible (cf. photo1).
- 1 plaque en PVC avec au milieu un trou dont le diamètre correspond à celui du tube d'aspiration (cf. photo 2).

Les essais sont réalisés dans une pièce obscure, dont la température et l'humidité sont maîtrisées. La température est d'environ 22°C, l'humidité de 30 à 38%. La température est notée à chaque essai car nous savons qu'elle influence les taux de mortalité. En effet, la mortalité est moins importante à des températures basses qu'à des températures élevées [46].

III-2-2- Technique :

- Les moustiques femelles sont aspirés grâce au tube d'aspiration et à la pompe, par lots de 25.

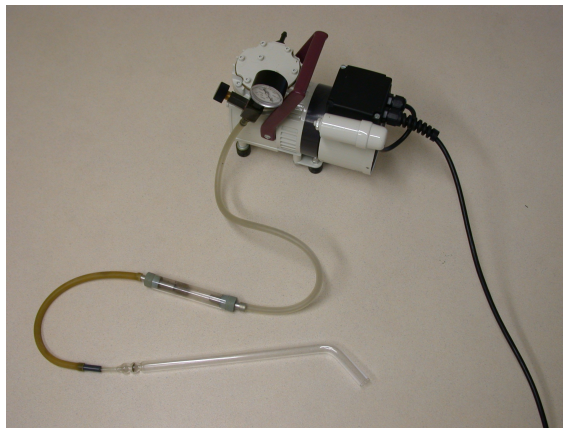


Photo 1 : Tube et pompe d'aspiration

- Elles sont immédiatement placées dans le pot contenant le cône de papier imprégné, en plaçant l'extrémité du tube d'aspiration sur le trou de la plaque en PVC, et en mettant la pompe en mode « soufflerie ».

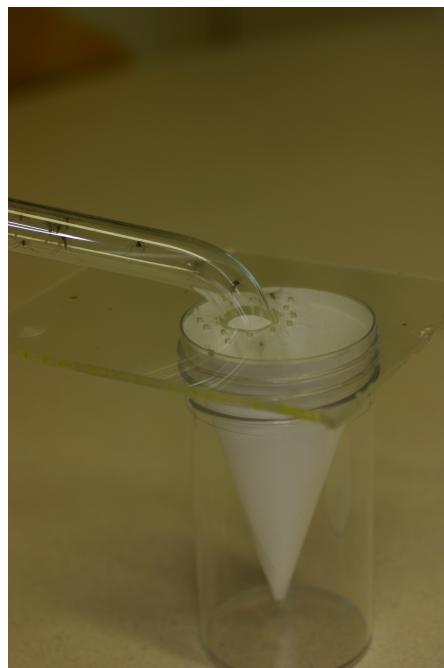


Photo 2: Introduction des femelles *Culex* dans un pot

- On retire le tube d'aspiration et on met en place le papier circulaire imprégné.

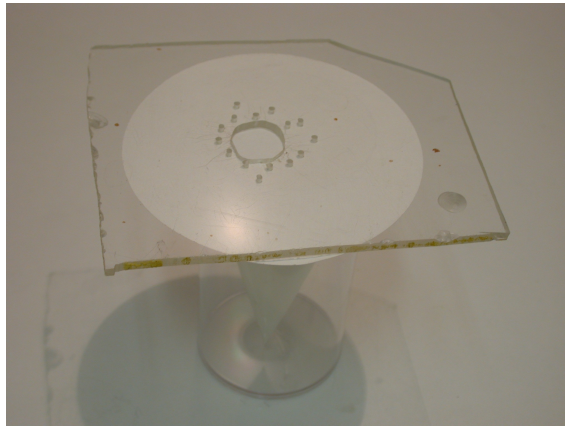


Photo3: Mise en place du papier filtre circulaire

- On rebouche le pot, on le met de côté en le retournant couvercle vers le bas.



Photo 4 : Pot retourné et stocké pendant 1 ou 24 heures

- Pour la lecture, après le temps souhaité (1 ou 24 heures), on débouche les pots dans une cage cubique de 30 cm de côté, disposant d'une face transparente en PVC, à travers laquelle on pourra compter les morts (les moustiques incapables de se déplacer ou ayant des mouvements incoordonnés sont comptés comme morts) et les vivants.



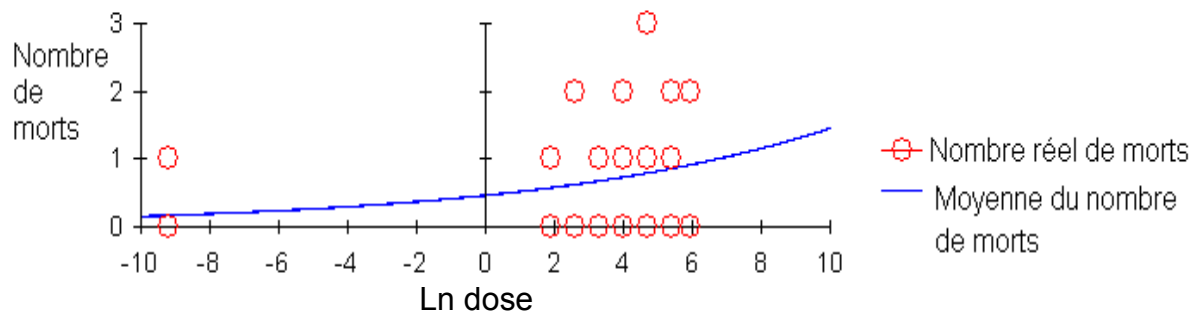
Photo 5 : Dénombrement de la mortalité

III-3- Résultats

III-3-1- Exposition des moustiques au fipronil durant 1 heure

Les essais pour lesquels l'exposition des *Culex* avec l'insecticide a duré 1h ont été réalisés les 18/02/05 (essai n°1), 23/02/05 (n°2), 31/03/05 (n°3) et 05/04/05 (n°4). Des pots différents ont été utilisés pour chacun d'entre eux.

Les résultats par essai et par concentration (cf. annexe 1) sont rapportés dans le graphe 1 produit par le logiciel WinNonlin Compartmental Modeling Analysis ® Version 4.0.1.



Graphe 1 : Nombre de moustiques morts en fonction du log népérien de la dose à 1 heure

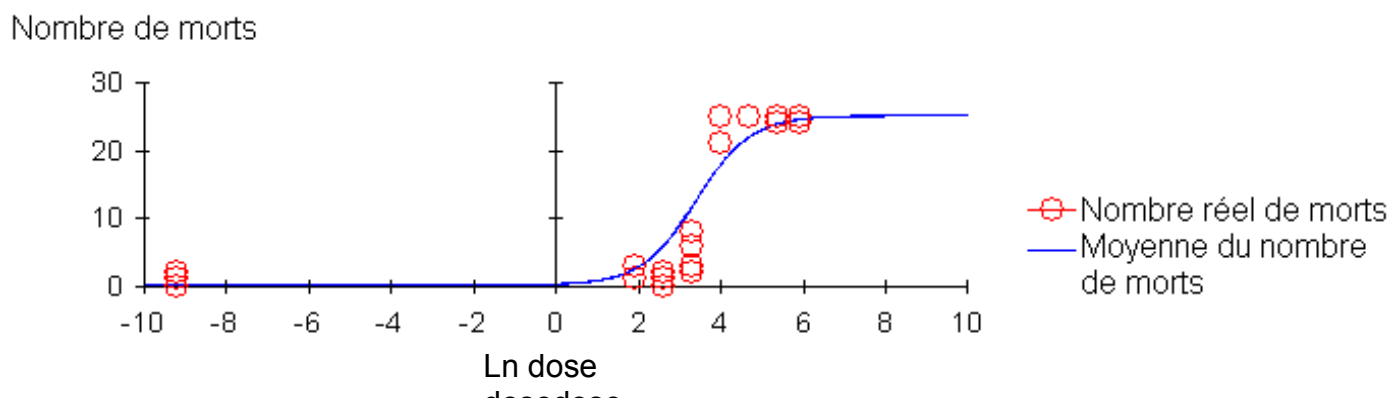
Très peu de moustiques sont morts même lors d'un contact prolongé avec des concentrations très supérieures à la dose recommandée par le fabricant de Frontline® pour la lutte contre les puces et les tiques.

La plus importante concentration testée (372 mg/m²) ne tue pas plus de 2 insectes en 1 heure, et est donc bien inférieure à la dose létale 50 (DL50) à 1 heure.

III-3-2- Exposition durant 24 heures

Les dates auxquelles ont été réalisés les essais sont les 23 (essai n°5) et 31 mars 2005 (n°6,7 et 8). Les pots et les cônes des essais à 1h ont été réutilisés.

Le graphe 2 schématise les résultats obtenus (pour les détails, cf. annexe 2)



Graphe 2 : Nombre de moustiques morts en fonction du log népérien de la dose à 24 heures

Ces résultats nous permettent de constater que le nombre de moustiques tués a commencé à devenir significatif à partir de la concentration de 26,7 mg/m². Puis nous avons une portion de ligne droite au cours de laquelle l'effet est proportionnel à la dose. Enfin la mortalité des moustiques atteint 100% dès la concentration de 53,5 mg/m² de produit.

Le calcul des DL50 et des DL 90 a été effectué automatiquement par le logiciel WinNonlin Compartmental Modeling Analysis ® Version 4.0.1.

Les résultats sont :

DL50 du fipronil à 24 heures : 30,24 mg/m², déviation standard : 2.143

DL90 du fipronil à 24 heures : 130 mg/m², déviation standard : 15,23

III-4- Comparaison des méthodes et des résultats avec des données bibliographiques :

III-4-1-Méthodes [26, 46, 47, 48]:

➤ Méthode standardisée OMS (contact tarsal):

La méthode utilisée dans la majorité des essais testant l'efficacité d'un insecticide sur les moustiques adultes est la méthode officielle recommandée par l'OMS.

Description de la « méthode OMS » :

- Matériel :
 - 8 tubes cylindriques en plastique de 125mm de long et 44 mm de diamètre : 2 tubes témoins (pas d'exposition des moustiques à l'insecticide), 2 tubes permettant l'exposition des moustiques à l'insecticide, 4 tubes de mise en observation (insectes préalablement sélectionnés et observés après l'exposition).
 - 4 manchons filetés aux 2 extrémités, traversés perpendiculairement à leur axe d'une plaque coulissante percée d'un orifice de 20 mm de diamètre.
 - 16 feuilles de papier vierge de 12cm x 15cm pour doubler intérieurement les tubes de mise en observation
 - 8 bagues métalliques pour maintenir les papiers contre les parois des tubes
 - 2 tubes d'aspiration en verre de 12cm de diamètre intérieur, et un tube souple de 60cm de longueur
 - Les papiers imprégnés sont stockés par 8 dans des boîtes, le tout étant fourni par l'OMS, avec les papiers témoins.
- Technique :
 - La paroi des tubes de mise en observation est doublée intérieurement par une feuille de papier vierge roulée en cylindre, qui est ensuite fixée grâce à une bague métallique. Un manchon fileté est adapté à chaque tube. On procède de la même manière pour les tubes d'exposition, mais en utilisant du papier imprégné.
 - Les moustiques femelles sont capturées par lots de 10 grâce au tube d'aspiration (avec une manipulation douce pour éviter les morts par traumatismes) et transférées dans le tube de mise en observation par l'orifice ménagé dans la plaque coulissante. Il faut un total de 15 à 25 moustiques par tube.

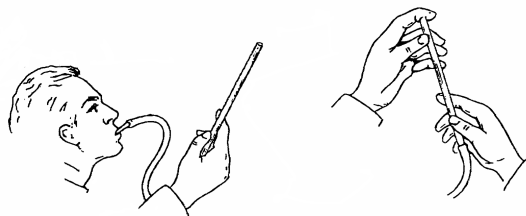


Figure 16: Aspiration des moustiques (schéma d'après [48, 46])

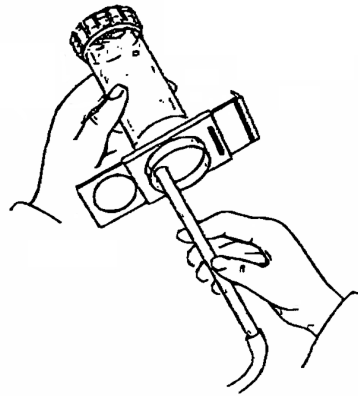


Figure 17 : Introduction des moustiques dans le tube d'observation (schéma d'après [48, 46])

- Après une éventuelle période d'attente préliminaire (destinée à détecter et retirer les insectes traumatisés), les moustiques sont introduits dans les tubes d'exposition préalablement vissés sur l'extrémité libre du manchon. L'ouverture est dégagée en faisant coulisser la plaque, et il faut souffler pour transférer les moustiques du tube d'observation au tube d'exposition. Ce dernier est refermé en repoussant la plaque. Le tube de mise en observation est ensuite détaché et mis de côté.

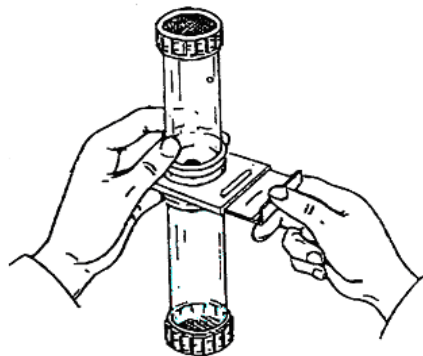


Figure18 : Transfert des insectes du tube d'observation au tube d'exposition (schéma d'après [48, 46])

- Les tubes d'exposition sont placés à la verticale, tamis en haut, durant une heure sous éclairage diffus modéré.

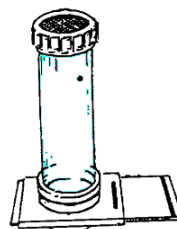


Figure 19: Période d'exposition des moustiques à l'insecticide
(schéma d'après [48, 46])

- A la fin de cette période, les moustiques sont à nouveau placés dans le tube d'observation en refaisant les manipulations décrites ci-dessus à l'envers. Un coton humide est placé sur le tamis.

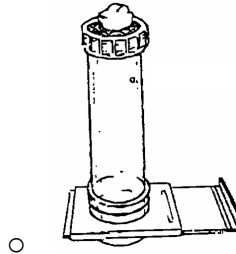


Figure 20 : Attente de 24h dans le tube de mise en observation
(schéma d'après [48, 46])

- Les tubes de mise en observation sont conservés durant 24 heures à l'ombre, et à une température inférieure à 30°C.
 - Les insectes morts sont dénombrés à la fin de cette période. Les insectes incapables de se déplacer sont comptés comme morts.
 - 4 épreuves identiques doivent être réalisées pour chaque concentration. Si la mortalité des témoins est supérieure à 20%, l'épreuve n'est pas comptabilisée.
- Avantages/ inconvénient de la méthode OMS par rapport à notre méthode :
- Avantages:
 - Les moustiques traumatisés sont écartés de l'expérience grâce au tube de mise en observation. On évite ainsi de surestimer l'effet de l'insecticide, car après exposition, il est impossible de déterminer lesquels sont morts lors des manipulations, et lesquels ont bien été tués par l'insecticide. Cela permet également de détecter immédiatement les moustiques traumatisés. En effet, avec notre méthode, du fait de notre inexpérience, les premières manipulations étaient trop brutales. Nous découvrons la mortalité élevée des témoins en fin d'essai, l'essai n'était pas validé, et devait être entièrement recommencé, ce qui équivaut à une perte de temps, et un gaspillage de matériel.
 - Cette méthode permet également d'évaluer la mortalité 24 heures après l'exposition. Nous aurions pu faire pareil avec notre méthode en

laissant les moustiques 24 heures dans les cages dans lesquelles nous procédions au comptage. Mais nous nous intéressons, dans le cadre de notre étude, à l'efficacité immédiate de l'insecticide, puisque l'objectif est d'avoir un effet anti-gorgement pour prévenir la transmission de maladie et l'apparition d'hypersensibilité aux piqûres, et n'avons donc pas jugé utile de la faire.

- Le matériel est un kit standard fourni par l'OMS, qui ne nécessite pas de montage particulier. Il y a ainsi une bonne répétabilité des résultats même si les manipulateurs et les laboratoires menant les essais sont différents.
- Inconvénients :
 - En comparaison avec la méthode que nous avons utilisé, la méthode OMS nécessite un matériel plus spécifique, plus important en quantité et plus coûteux.
 - La méthode OMS multiplie les manipulations de moustiques, ce qui amplifie considérablement les risques de mortalité par traumatismes.
 - En outre, l'expérience nous a montré que l'aspiration à la pompe était beaucoup moins traumatisante pour les moustiques que l'aspiration à la bouche. Ainsi, une fois la technique maîtrisée, nous avons constaté une mortalité très faible voire nulle dans les témoins de tous les essais, ce qui a compensé le fait de ne pas pouvoir écarter en début d'essai les moustiques traumatisés.
 - Pour la méthode officielle, l'efficacité de l'insecticide est plutôt sous-estimée puisque les moustiques ont accès à 2 zones non recouvertes par les papiers imprégnés qui sont les extrémités : le contact avec l'insecticide n'est donc pas permanent.
 - Le nombre de principes actifs fournis et de concentrations sont limités.

➤ Application topique :

- Méthode :
 - Les moustiques femelles utilisés sont âgés de 3 à 5 jours.
 - Pour les manipulations, elles subissent une brève anesthésie au CO₂ et sont maintenues sur une surface froide.
 - Le principe actif pur est dilué dans de l'acétone. Une micro-dose de 0,1μL est déposée à l'aide d'un micro-capillaire calibré sur le pronotum dorsal de chaque moustique.
 - Après le traitement, les femelles sont maintenues dans des bacs en plastique par lots de 25, à une température de 28°C et une humidité de 80%, avec du sucre pour s'alimenter.
 - La mortalité est relevée à 1h et 24h après le traitement.
 - Pour chaque test, 2 lots de 25 femelles sont utilisés par concentration, avec 5 concentrations testées provoquant une mortalité comprise entre 5 et 100%. Chaque test est répété 3 fois.



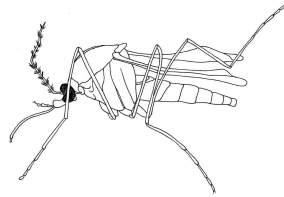


Figure 21 : Application directe de l'insecticide sur le moustique anesthésié

- Avantages/ inconvénients :

- Avantages :
 - Les manipulations, une fois maîtrisées, sont relativement courtes et simples
 - La dose définie est appliquée sur l'insecte.
- Inconvénients :
 - L'anesthésie des moustiques, même brève, influence probablement sur leur réceptivité à l'insecticide et constitue une source de mortalité supplémentaire.
 - Les manipulations sont très délicates, car elles se font moustique par moustique
 - Les doses utilisées sont infimes : permettent elles une réelle précision ?
 - *In vivo*, le contact du moustique avec l'insecticide se fait par les tarses ce qui constitue une surface très limitée. Le protonum dorsal n'est jamais touché. Il est vraisemblable que la sensibilité des moustiques à un insecticide varie en fonction de la surface mise en contact, et les résultats obtenus avec cette méthode ne pourront pas être extrapolés aux résultats qu'on obtiendrait *in vivo*.

➤ Le test des cônes en plastique :

- Méthode :

- Utilisé pour déterminer l'efficacité d'un insecticide pulvérisé sur une surface, en exposant les moustiques à la surface traitée quelques jours, semaines ou mois après le traitement. Elle est aussi utilisée pour évaluer l'efficacité résiduelle d'un insecticide appliqué sur les filets.
- Le matériel est fourni sous forme d'un kit comprenant : les cônes en matière plastique, du papier adhésif, un tube souple pour l'aspiration des moustiques, et le tube souple reliant ce dernier au cône.
- Les cônes en plastique sont fixés avec le papier adhésif sur la surface traitée. Pour les cônes de contrôle, un papier vierge de tout insecticide est posé entre la surface traitée et le cône (cf. figure 22).
- 10 moustiques femelles sont transférés *via* le tube d'aspiration à l'intérieur des cônes, dans lesquels ils restent 30 minutes. La partie supérieure du cône est bouchée hermétiquement avec un coton.

- Les moustiques sont ensuite délicatement transférés dans des boîtes en papier. On procède à un premier comptage des morts, sans les retirer de la boîte car il arrive qu'ils soient simplement choqués et se réveillent par la suite.
- Un coton humide est placé à une extrémité de chaque boîte en papier, qui est isolée dans un endroit fermé, sec, et dont la température est contrôlée.
- Les morts sont recomptés après 24 heures.
- L'essai est invalidé si la mortalité dans les boîtes de contrôle excède les 20%.

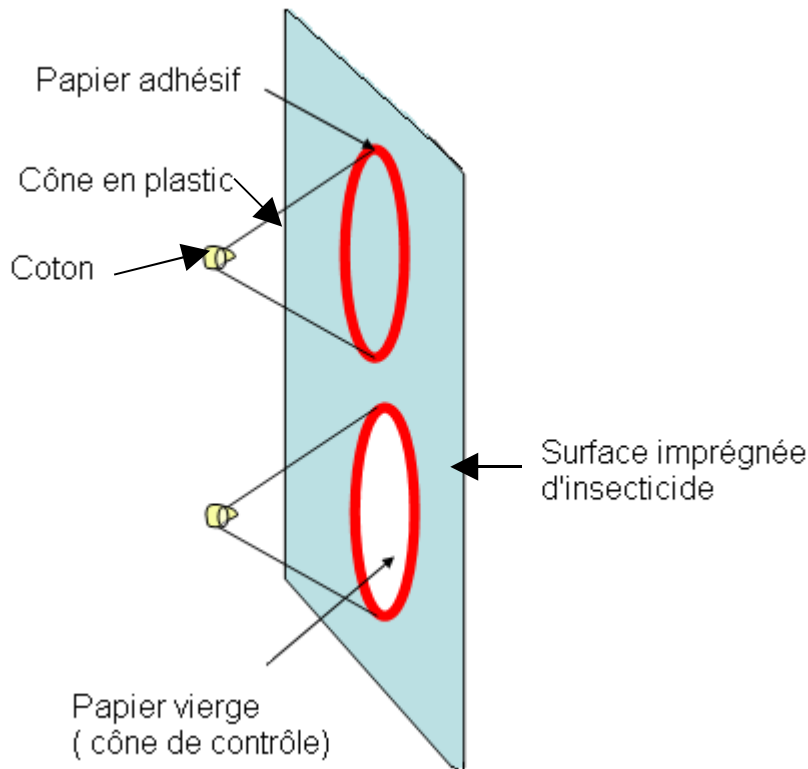


Figure 22: Test des cônes en plastique pendant la période d'exposition des moustiques

- Avantages/ inconvénients :

- Avantages :
 - Méthode standardisée grâce à l'existence de kits
 - Comptage possible des moustiques directement après l'exposition à l'insecticide
- Inconvénients :
 - Plusieurs manipulations des moustiques sont nécessaires, ce qui les fragilise.
 - Comme pour la méthode standardisée de l'OMS, les moustiques peuvent facilement éviter le contact avec la surface traitée : ce n'est donc pas un contact continu.

➤ Test d'irritabilité :

- Méthode:

- Les moustiques femelles sont lâchées dans des cônes en plastique fixés sur des papiers imprégnés ou non (contrôle) de principe actif (cf. figure 23).
 - Le temps entre le premier atterrissage des femelles sur le papier et le premier décollage est noté. A partir de ces données, les temps que mettent 50% et 95% des moustiques à décoller sont calculés à partir des fréquences cumulatives.
- Avantages/ inconvénients :
- Avantages :
 - La mesure de l'effet irritant d'un produit est permise par cette méthode. On peut assimiler les résultats obtenus à un éventuel effet « anti-feeding » si le temps est court.
 - C'est une méthode rapide et répétable
 - Les manipulations sont brèves et simples
 - C'est une méthode beaucoup plus simple et rapide que l'évaluation de l'effet anti-gorgement d'un produit *in vivo*.
 - Inconvénients :
 - Cette méthode ne permet pas de mesurer des doses létales
 - Les moustiques normalement se posent indifféremment sur la paroi du cône et sur le papier. Tous ne se poseront pas sur le papier, sans être influencés par l'effet répulsif du papier.
 - Il est nécessaire de travailler qu'avec un seul insecte à la fois.

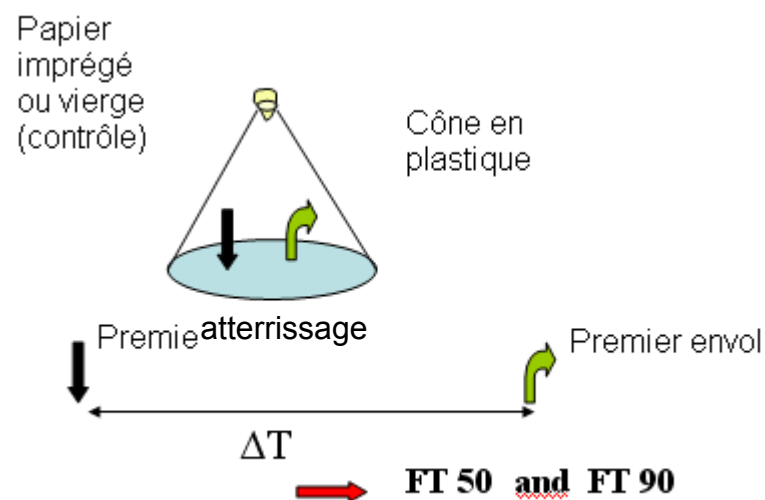


Figure 23 : Schématisation du test d'irritabilité

III-4-2-Résultats [21, 26] :

- Résultats d'essais sur l'efficacité du fipronil avec la méthode standardisée OMS :

Les données bibliographiques concernant l'activité du fipronil sur les moustiques sont peu nombreuses et concernent surtout des études de résistances. Les tests se font généralement sur les stades larvaires et rarement sur des moustiques adultes.

Une étude menée par l'IRD (Institut de Recherche pour le Développement) nous a servi de point de comparaison. La méthode utilisée est la méthode standardisée de contact tarsal recommandée par l'OMS, et le fipronil est mélangé non pas avec de l'alcool comme nous l'avons fait, mais avec un mélange d'acétone et de silicone (dans les proportions d'1,3mL d'acétone pour 0,7mL de silicone).

Le but de cette expérimentation est d'évaluer la résistance des moustiques au fipronil.

Des lots de 25 femelles sont utilisés. Les résultats sont lus après des expositions d'1h et une observation de 24 heures. Chaque essai est répété 3 fois.

Selon des résultats obtenus par l'IRD, la souche de laboratoire (non résistante) subit une mortalité de 94,2% à 24 heures pour une concentration de 91,8 mg/m² de fipronil. A 100 mg/m², la mortalité est de 94,9% à 24 heures, et 96,9% à 48 heures. A 250 mg/m², on obtient une mortalité de 98,2% à 24h et 99,2% à 48 heures. Les DL50 et 90 n'ont pas été établies par l'auteur, et les données fournies ne nous permettent pas de les calculer.

Nous pouvons déduire de cette expérimentation que le fipronil est bien efficace sur les moustiques, même après une exposition d'une heure seulement.

En complétant ces résultats avec ceux obtenus par notre méthode, nous pouvons constater que cette efficacité n'est pas immédiate, puisque la mortalité est nulle lorsque l'on dénombre les morts immédiatement après l'exposition d'une heure.

On ne peut pas comparer les résultats obtenus dans ces 2 méthodes puisque les délais d'observation sont différents. Pour que la comparaison soit objective, il nous faudrait ajouter une période d'observation de 24 heures après la période d'exposition. Cependant, notre objectif est uniquement de connaître l'efficacité immédiate du fipronil sur les moustiques, car nous recherchons un effet anti-gorgement. Le délai de 24 ou 48 heures entre le contact et la période d'observation n'est pas nécessaire pour nous.

- Résultats d'essais sur l'efficacité de la deltaméthrine et de la perméthrine utilisant notre méthode [21]:

Dans cette étude, les essais ont été réalisés avec des conditions et du matériel exactement similaire à notre étude. L'efficacité des produits est évaluée sur des moustiques femelles après 1 heure et 24 heures d'exposition.

Les concentrations testées sont exposées dans le tableau 1.

Concentration en principe actif en mg/m ²
--

Deltamethrine	Permethrine
56.0	800.0
28.0	400.0
14.0	200.0
7.0	100.0
3.5	50.0
1.75	25.0
0.8	12.5
0.0	0.0

Tableau 1 : Concentrations de deltaméthrine et perméthrine testées lors des essais à 24 et 1 heure.

Après une exposition de 24 heures des femelles *Culex*, la mortalité varie entre 97 et 100% quelle que soit la concentration en deltaméthrine, et à partir de 25 mg/m² pour la perméthrine.

Avec un contact d'une durée d'une heure, la mortalité obtenue permet de calculer les DL 50 et 90 qui sont :

- pour la perméthrine :

DL 50 : 39.05 mg/m² - Déviation standard 2.50

DL 90 : 99.60 mg/m² - Déviation standard 10.08

- pour la deltaméthrine :

DL 50 : 5.75 mg/m² - Déviation standard 0.63

DL 90 : 58.92 mg/m² - Déviation standard 13.61

Les *Culex* semblent très sensibles aux effets de ces 2 insecticides, et meurent rapidement. La deltaméthrine semble être le produit pour lequel les concentrations nécessaires à tuer 50% des moustiques sont les moins grandes. Le fipronil est beaucoup moins toxique pour ces insectes que le sont deltaméthrine et perméthrine.

En outre, ces résultats nous permettent de constater que notre test permet d'évaluer l'activité à long terme d'un insecticide, mais aussi son activité à court terme. En effet, l'absence totale de mortalité lors du test réalisé avec du fipronil sur une exposition d'une heure, pouvait nous en faire douter. Le doute est désormais écarté.

III-5- Discussion :

Les essais que nous avons réalisés ont permis de déterminer *in vitro* l'efficacité du fipronil sur les moustiques du complexe *Culex pipiens*. L'objectif était de savoir si le fipronil, utilisé pour la lutte antiparasitaire des animaux de compagnie dans le Frontline®, peut être prescrit dans le cadre de la prévention de la dirofilariose, et de l'hypersensibilité aux piqûres de moustiques.

Pour parvenir à cet objectif, nous avons mis au point un test qui nous a paru plus simple et plus précis que celui habituellement utilisé et validé par l'OMS. La méthode employée, bien que différente de la méthode officielle de l'OMS, permet d'obtenir des résultats comparables, crédibles et répétables. Elle permet en outre de simplifier les manipulations des insectes et diminuer ainsi la mortalité des lots témoins : l'efficacité du fipronil n'est ainsi pas surestimée ni sous-estimée. L'utilisation de 4 lots de 25 femelles pour chaque concentration et de 4 témoins pour chaque essai donne aux résultats obtenus un caractère non aléatoire et significatif.

L'espèce de moustique choisie est relativement facile à élever, ce qui a permis d'obtenir rapidement la quantité de moustiques nécessaire aux besoins des essais. La reproduction est en effet bien contrôlée du fait de la nécessité pour les femelles de prendre un repas sanguin avant chaque ponte. L'accouplement possible en milieu restreint ainsi que la facilité de développement des larves dans des bacs d'élevage rendent cette espèce idéale pour l'élevage.

Les études portant sur l'efficacité du fipronil sur les moustiques sont rares, et visent habituellement à détecter une résistance de souches exposées à de grandes quantités de fipronil (utilisation phytosanitaire). Ces essais sont rarement réalisés sur des adultes, mais plutôt sur des larves, pour lesquelles les manipulations lors des essais sont simplifiées.

Nos résultats semblent concorder avec les résultats déjà publiés. L'efficacité du fipronil (à la dose recommandée par le fabricant pour lutter contre les puces et les tiques chez le chien) sur les moustiques est réelle, mais le délai d'exposition pour obtenir une mortalité maximale est relativement long.

On peut ainsi supposer que le fipronil ne prévient pas le gorgement des moustiques sur les chiens, et donc n'empêche pas la transmission de zoonoses.

CONCLUSION

Pour lutter contre les moustiques agents de nuisances, le choix d'un insecticide par le vétérinaire doit être raisonné. Les attentes quant aux traitements proposés ont pour objet tant l'efficacité de la molécule sur le moustique, mais surtout sur la prévention de la transmission de pathologies telles que la dirofilariose pour le chien. Le coût de l'antiparasitaire doit également être pris en compte.

Cette étude, portant sur l'efficacité du fipronil, principe actif du Frontline®, sur les moustiques du complexe *Culex pipiens*, nous amène à deux constatations :

- Le fipronil dispose d'une efficacité réelle sur les moustiques, à la concentration recommandée par le fabricant, c'est-à-dire à 107 mg/m², après une exposition continue des insectes pendant 24 heures.
- Cette efficacité n'est visible que sur les tests d'exposition durant 24 heures. Une exposition d'1 heure nous permet d'observer une mortalité quasi-nulle des moustiques, même aux plus fortes concentrations (plus de 3 fois la dose recommandée par le fabricant pour la lutte contre les puces et les tiques).

Nous pouvons donc déduire de ces résultats que l'action lente du fipronil sur les moustiques ne permet pas une lutte efficace de ce nuisible en tant que vecteur de dirofilariose. Il ne répond donc pas aux attentes des propriétaires de chien vivant ou voyageant en zone d'endémie. En effet, il est logique de penser, étant donné le faible temps de contact entre le moustique et le produit présent sur un chien traité, que non seulement le moustique ne sera pas tué, mais surtout qu'il pourra se gorger et ainsi transmettre d'éventuels virus ou parasites. En outre, il faut tenir compte du fait que même si la posologie est bien respectée par les propriétaires, la concentration en principe actif décroît rapidement et devient ainsi inférieure à la concentration efficace.

Bien que les résultats de cette étude soient significatifs, des essais *in vivo* pourraient être envisagés pour confirmer l'absence d'effet anti-gorgement du fipronil sur les moustiques.

ANNEXES

N° de série	Dose (mg/m²)	Nombre de morts	Nombre total de moustiques
1	0.0	0	25
1	0.0	0	25
1	0.0	0	25
1	0.0	0	25
2	0.0	0	25
2	0.0	0	25
2	0.0	0	25
2	0.0	0	25
3	0.0	0	25
3	0.0	1	25
3	0.0	0	25
3	0.0	1	25
4	0.0	2	25
4	0.0	1	25
4	0.0	0	25
4	0.0	0	25
1	6.65	1	25
2	6.65	0	25
3	6.65	1	25
4	6.65	0	25
1	13.3	2	25
2	13.3	0	25
3	13.3	0	25
4	13.3	0	25
1	26.7	0	25
2	26.7	1	25
3	26.7	1	25
4	26.7	0	25
1	53.5	2	25
2	53.5	0	25
3	53.5	1	25
4	53.5	0	25
1	107	3	25
2	107	1	25
3	107	0	25
4	107	0	25
1	214	2	25
2	214	2	25
3	214	0	25
4	214	1	25
1	372	2	25
2	372	0	25
3	372	0	25
4	372	0	25

Annexe 1 : Résultats par essai et par concentration- contact durant 1 heure

N° de série	Dose (mg/m ²)	Nombre de morts	Total
5	0.0	0	25
5	0.0	0	25
5	0.0	1	25
5	0.0	1	25
6	0.0	0	25
6	0.0	1	25
6	0.0	0	25
6	0.0	0	25
7	0.0	0	25
7	0.0	0	25
7	0.0	0	25
7	0.0	0	25
8	0.0	0	25
8	0.0	0	25
8	0.0	2	25
8	0.0	0	25
5	6.65	3	25
6	6.65	1	25
7	6.65	1	25
8	6.65	1	25
5	13.3	1	25
6	13.3	1	25
7	13.3	0	25
8	13.3	2	25
5	26.7	2	25
6	26.7	6	25
7	26.7	3	25
8	26.7	8	25
5	53.5	21	25
6	53.5	25	25
7	53.5	25	25
8	53.5	25	25
5	107	25	25
6	107	25	25
7	107	25	25
8	107	25	25
5	214	24	25
6	214	25	25
7	214	24	25
8	214	25	25
5	372	25	25
6	372	25	25
7	372	24	25
8	372	25	25

Annexe 2 : Résultats par essai et par concentration- contact 24 heures

Bibliographie

- 1- ANDREO V. : L'effet anti-gorgement sur un chien d'un shampoing à 0,07% de Deltaméthrine sur un moustique du Complexe *Culex pipiens* ; Thèse de Médecine Vétérinaire, Toulouse, 2003, 70 p.
- 2- ARAUJO F.R., SILVA M.P. LOPES A.A., RIBIERO O.C., CARVALHO C.M.E., BALBUENA C.B., VILLAS A.A.: Severe cat flea infestation of dairy calves in Brazil, *Veterinary Parasitology*, 1998, 80, 83-86.
- 3- ATWELL R., SILLAR R., JEANNIN P., POSTAL J.M., CONSALVI P.J.: Clinical Field Assessment of a Topical Preparation of Fipronil in Domestic Cats with Application by Their Owners. *Australian Veterinary Practitioner*, 1996, 26(3), 154-155.
- 4- BORDEAU W. : Traitement d'un cas de gale sarcoptique canine par le fipronil. *Pratique médicale et chirurgicale de l'animal de compagnie*, 1998, 33 ; 521-526.
- 5- BUSSIERAS J., CHERMETTE R. : Parasitologie Vétérinaire, Entomologie, *Service de Parasitologie, ENVA*, 1991, 58-61.
- 6- CACHEREUL A. : Les moustiques : cycle de développement, aspects anatomo-physiologiques et régulation du cycle ovarien, Thèse de Médecine Vétérinaire, Nantes, 1997, 117p.
- 7- CANDACE A., SOUSA, RICHARD E.W. HALLIWELL: The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XI): the relationship between arthropod hypersensitivity and atopic dermatitis in the dog, *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 2001, 81,233-2327.
- 8- CHADWICK A. J.: Use of a 0, 25% fipronil pump spray formulation to treat canine cheyletiellosis, *Journal of Small Animal Practice*, 1997, 38, 261-262.
- 9- CHAUVE C.M.: *Dirofilaria repens, Dipetalonema reconditum, Dipetalonema dracunculoides et Dipetalonema grassii*, quatre filaires méconnues du chien, *Pratique Médicale et Chirurgicale de l'Animal de Compagnie, spécial dirofilariose*, 1990, 25, 3, 293-304.
- 10- CHODOROWSKI Z., ANAN J.S.: Accidental dermal and inhalation exposure with fipronil- a case report, *Journal of Toxicology. Clinical Toxicology*, 2004, 42(2), 189-90
- 11- CLUZEAU S.: Index phytosanitaire, 3^e éd., *Association de coordination technique agricole*, 1997, p.111.
- 12- COCHET et al., skin distribution of fipronil by microautoradiography following topical administration to the beagle dog, *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 1997, 22(3), 211-216.
- 13- COOPER PR., PENALIGOON J. : Efficacy of fipronil (Frontline® spray) in the elimination of recurrent infestation by *Trichodectes canis* in a pack of blood hounds. *BSAVA Congress, Proceedings, Birmingham*, 1996.

- 14- COOPER PR., PENALIGOON J., Use on Frontline (fipronil spray) on rabbits, *Veterinary Record*, 1997, 140 (20), 535-536.
- 15- CURTIS CF.: Use of a 0, 25% fipronil spray to treat sarcoptic mange in a litter of a five week old puppies, *Veterinary Record*, 1996, 138, 43-44.
- 16- DAVEY RB., AHRENS EH., GEORGE JE., HUNTER III JS., JEANIN P.: Therapeutic and persistent efficacy of fipronil against *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) on cattle, 1998, *Veterinary Parasitology*, 74, 261-276.
- 17- DAVOUST B: Epidémiologie de l'érlichiose, de la leishmaniose et de la dirofilariose canine. A propos de la situation actuelle dans les effectifs de l'armée française, *Revue de Médecine Vétérinaire*, 1994, 145, 4, 249-256.
- 18- DUCOS DE LAHITTE J., Epidémiologie des filarioses en France, *Pratique Médicale et Chirurgicale de l'Animal de Compagnie*, 1990, 25, 305-310.
- 19- EUZEBY J., Dirofilariose canine, *Pratique Médicale et Chirurgicale de l'Animal de Compagnie*, 1990, 25, 283-291 et 293-304.
- 20- FRANC M., CADIERGUES M.C., Antifeeding effect of several insecticidal formulations against *Ctenocephalides felis* on cats. *Parasite*, 1998, 5, 83-86.
- 21- FRANC M., VERMOT S., CADIERGUES M.C., The Development of a Method for *in vitro* Testing Sandflies and Mosquitoes Insecticide Susceptibility, Congrès de l'International Symposium for Ectoparasites of Pets à Hannovre, Mai 2005
- 22- FREMONT F.: Les vecteurs de dirofilariose canine dans le Var, étude bibliographique ; Thèse de Médecine Vétérinaire, Toulouse, 1996, 25-37.
- 23- GEORGI J.R., GEORGI M.E.: *Parasitology for Veterinarians*, Fifth Edition, *WB Saunders Company*, 3-5.
- 24- GIRAUD C.: Contribution à l'étude de la dirofilariose canine en Polynésie Française. Dosage immuno-enzymologique, par la technique ELISA, d'antigènes circulants de *Dirofilaria immitis* ; Thèse de Médecine Vétérinaire, Lyon, 1994, 7, 106p.
- 25- GRANT D.B. et al., A comparison of mammalian and insect GABA receptors chloride channel, *Pesticide Science*, 1990, 355-356.
- 26- GUILLET P., CHANDRE F., DARRIET F., DUCHON S., FINOT L., MALIVERT M., et TI A HING J., Investigations on Resistance of Three Mosquito Species to Fipronil and Dieldrin ; Rapport LIN/IRC, 1999
- 27- [http:// aramel.free.fr/INSECTES 15-3.shtml](http://aramel.free.fr/INSECTES%2015-3.shtml) (page consultée le 08/04).
- 28- http://www.eid-med.org/fr/Dossier_Life_E/Nouveau_dossier_Life/fiches_m_centre.Html (page consultée le 09/04)
- 29- http://www.ifrance.com/harachate/_private/moustique.html (page consultée le 08/04)

- 30- HUGNET C., CADORE J.-L., BOURDOISEAU G.: Intérêt du fipronil à 0,25% en spray dans le traitement de la phtiriose à *Damalinia equi* (pou mallophage), *Pratique vétérinaire équine*, 1999, 31 (121), 65-68.
- 31- KETTLE D.S.: *Medical and Veterinary Entomology*, 2^o edition, *Wallingford: CAB international*, 1995, 725 p.
- 32- LARHANTEC B.: Le contrôle de *Ctenocephalides felis* dans le pelage du chien: Etude expérimentale sur la diffusion et la rémanence de l'effet insecticide dans le pelage en conditions naturelles ou expérimentales, Thèse de Médecine Vétérinaire, Nantes, 2003.
- 33- LIMA W.S., MALACCO M.A.F., BORDIN E.L., OLIVEIRA E.L. : Evaluation of prophylactic effect and curative efficacy of fipronil 1% pour on (Topline®) on post-castration scrotal myiasis caused by *Cochliomyia hominivorax* in cattle. *Veterinary Parasitology*, 2004, 125, 373-377.
- 34- NEVEU-LEMAIRE: Précis de Parasitologie vétérinaire, Maladies Parasitaires des animaux domestiques, 3^o Edition, *Vigot frères*, 1952.
- 35- NUTTAL T.J., FRENCH A.T., CHEETHAM H.C., PROCTOR F.J.: Treatment of *Truncicula autumnalis* infestation in dogs and cats with a 0.25% fipronil pump spray. *Journal of small animal practice*, 1998, 39, 237-239.
- 36- ORDONEZ GONZALES J., KROCKER A., AVINA A.I., PABON E.: wash resistance of insecticide-treated materials, *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 2002, 96, 370-375.
- 37- ORTEGA-MAURA L.M., GOMEZ-BAUTISTA M., ROJO-VASQUEZ F.: A survey of the prevalence of canine filariasis in Spain, *Revue de Médecine Vétérinaire*, 1991, 11, 63-68.
- 38- POSTAL J.M., JEANNIN C., CONSALVI P.J: Efficacy of Frontline spray formulation containing 0.25% fipronil in the treatment and control of flea infestation and associated dermatological signs in dogs and cats. *Veterinary dermatology*, 1995, 6, 153-158.
- 39- PETIT S., *Dictionnaire des médicaments vétérinaires et des produits de santé animale*, 12^o Edition, Editions du Point Vétérinaire, 2003, 1760 p.
- 40- PRELAUD P. : Urticaire provoquée par une hypersensibilité aux piqûres de moustiques chez un boxer, *L'Action Vétérinaire*, 1991, 1189, 11-13.
- 41- RODHAIN F., Maladies transmises par les culicidés et urbanisation, *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 1983, 76, 250-255.
- 42- TINGLE C.C.D. et al, Health and environmental effects of fipronil, Pesticide action network UK, <http://www.pan-uk.org/briefing/fipronil.pdf>, 2000, 30 p.
- 43- URQUHART G.M., ARMOUR J., DUNCAN J.L.: *Veterinary Parasitology*, 2^o Edition, Oxford: *Blackwell sciences*, 1996, 307 p.

- 44- VEIN J.: Ecotoxicologie du Crabier chevelu (*Ardeola ralloides*) : Etude de l'impact de plusieurs pesticides (atrazine, fipronil, organochlorés et organophosphorés) sur sa reproduction en Camargue, Thèse de Médecine Vétérinaire, Lyon, 2004.
- 45- WALL R., SHEARER D.: Veterinary Entomology, *Chapman & Hall*, 1992, 88-191
- 46- WORLD HEALTH ORGANISATION, rapport WHO/VBC/81.806, 1981
- 47- WORLD HEALTH ORGANISATION, rapport WHO/CDS/CPE/SMT/2002/8Rev1.Part1
- 48- WORLD HEALTH ORGANISATION, rapport WHO/CDS/WHOPES/2004.8
- 49- YOUNG D.R., JEANNIN P.C., BOECKH A., Efficacy of fipronil/(S)-methoprene combination spot-on for dogs against shed eggs, emerging and existing adult cat fleas (*Ctenocephalides felis*, Bouché), *Veterinary Parasitology*, 2004, 125, 397-407.

Toulouse, 2005

NOM : TORAL

PRENOM : Muriel

TITRE : Etude de l'efficacité *in vitro* du fipronil sur *Culex pipiens pipiens*

RESUME :

Les moustiques sont responsables de nuisances et de transmission de pathologies, chez l'homme et chez l'animal. C'est pourquoi il est intéressant de tester l'efficacité de nouvelles molécules sur ces insectes.

Ce travail expérimental vise à tester l'efficacité du fipronil sur les moustiques appartenant au complexe *Culex pipiens* au moyen d'un nouveau test mis en place au laboratoire.

Une première partie de ce travail est consacrée à l'étude bibliographique des caractéristiques de *Culex pipiens pipiens*, et des nuisances dont il est responsable.

Dans une seconde partie, l'auteur synthétise le mode d'action, l'utilisation actuelle et la toxicité du fipronil.

Enfin, cette étude décrit dans une troisième partie le test utilisé et les résultats obtenus, en comparaison avec ceux décrits dans la bibliographie. Les résultats montrent que le fipronil tue les *Culex* soumis à un contact continu de 24 heures. Cependant, son utilisation dans le cadre de la prévention des piqûres de moustiques n'est certainement pas indiquée étant donné qu'aucun insecte n'est mort après une heure d'exposition.

MOTS-CLES : FIPRONIL, MOUSTIQUES, *CULEX PIFIENS*, CHIEN

TITLE: Study of the *in vitro* effectiveness of fipronil on *Culex pipiens pipiens*

ABSTRACT:

Mosquitoes are responsible of annoyance and transmission of pathologies on humans and animals. That's why it is interesting to test the effectiveness of new molecules on these insects.

This experimental work aims to test the effectiveness of fipronil on mosquitoes which belong to the *Culex pipiens* complex, thanks to a new test setting up in the laboratory.

A first part of this work is devoted to the bibliographical study of the characteristics of *Culex pipiens pipiens* and the annoyances it is responsible of.

In a second part, the author synthesizes the mode of action, the actual use and the toxicity of fipronil.

Lastly, this study describes in a third part the test and the results, and compares it to those described in the bibliography. The results show that fipronil kills the *Culex* submitted to a permanent contact during 24 hours. However, the use of fipronil in prevention of mosquitoes bites is not recommended because no insect dies after one hour exposure.

KEY WORDS: FIPRONIL, MOSQUITOES, *CULEX PIFIENS*, DOG

Imp. sarl NOTREL - 84, Chemin des Capelles - 31300 TOULOUSE