
LA LUTTE ANTI-PUCE : METHODE D'EVALUATION DE TRAITEMENTS DE L'ENVIRONNEMENT DOMESTIQUE A BASE DE PERMETHRINE ET D'IGR

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement en 2007
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

Véronique, Marie, Anne FOUGERES
12 mars 1974, Nice

Directeur de thèse : **M. le Professeur Michel FRANC**

JURY

PRESIDENT :
M. Jean-Paul SEGUELA

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEUR :
M. Michel FRANC
Mme Lydie BRET-BENNIS

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
Maître de Conférence à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MEMBRE INVITE :
M. Stéphane BONNEAU

Chargé d'études Pré-cliniques et Cliniques de VIRBAC S.A.

MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE ET DE LA PÊCHE
ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

Directeur	: M.	A. MILON
Directeurs honoraires	M.	G. VAN HAVERBEKE
	M.	J. FERNEY
	M.	P. DESNOYERS
Professeurs honoraires	M.	L. FALIU
	M.	C. LABIE
	M.	C. PAVAUX
	M.	F. LESCURE
	M.	A. RICO
	M.	D. GRIESS
	M.	A. CAZIEUX
	Mme	V. BURGAT
	M.	J. CHANTAL
	M.	J.-F. GUELFY
	M.	M. EECKHOUTTE

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

- M. **BRAUN Jean-Pierre**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
M. **CABANIE Paul**, *Histologie, Anatomie pathologique*
M. **DARRE Roland**, *Productions animales*
M. **DORCHIES Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
M. **EUZEBY Jean**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
M. **TOUTAIN Pierre-Louis**, *Physiologie et Thérapeutique*

PROFESSEURS 1^{ère} CLASSE

- M. **AUTEFAGE André**, *Pathologie chirurgicale*
M. **BODIN ROZAT DE MANDRES NEGRE Guy**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
M. **CORPET Denis**, *Science de l'Aliment et Technologies dans les industries agro-alimentaires*
M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie pathologique*
M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
M. **FRANC Michel**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
M. **HENROTEAUX Marc**, *Médecine des carnivores*
M. **MARTINEAU Guy-Pierre**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*
M. **PETIT Claude**, *Pharmacie et Toxicologie*
M. **REGNIER Alain**, *Physiopathologie oculaire*
M. **SAUTET Jean**, *Anatomie*
M. **SHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*

PROFESSEURS 2^e CLASSE

- Mme **BENARD Geneviève**, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*
M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
M. **DUCOS Alain**, *Zootéchnie*
M. **DUCOS de LAHITTE Jacques**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
Mme **HAGEN-PICARD Nicole**, *Pathologie de la Reproduction*
Mme **KOLF-CLAUW Martine**, *Pharmacie -Toxicologie*
M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*
M. **LIGNEREUX Yves**, *Anatomie*
M. **PICAVET Dominique**, *Pathologie infectieuse*

INGENIEUR DE RECHERCHES

- M. **TAMZALI Youssef**, *Responsable Clinique équine*

PROFESSEURS CERTIFIÉS DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

- Mme **MICHAÏD Françoise**, *Professeur d'Anglais*
M. **SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*

MAÎTRE DE CONFERENCES HORS CLASSE

M. JOUGLAR Jean-Yves, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*

MAÎTRES DE CONFERENCES CLASSE NORMALE

M. ASIMUS Erik, *Pathologie chirurgicale*
M. BAILLY Jean-Denis, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
M. BERGONIER Dominique, *Pathologie de la Reproduction*
M. BERTAGNOLI Stéphane, *Pathologie infectieuse*
Mme BOUCRAUT-BARALON Corine, *Pathologie infectieuse*
Mlle BOULLIER Séverine, *Immunologie générale et médicale*
Mme BOURGES-ABELLA Nathalie, *Histologie, Anatomie pathologique*
M. BOUSQUET-MELOU Alain, *Physiologie et Thérapeutique*
Mme BRET-BENNIS Lydie, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
M. BRUGERE Hubert, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
Mlle CADIERGUES Marie-Christine, *Dermatologie*
Mme CAMUS-BOUCLAINVILLE Christelle, *Biologie cellulaire et moléculaire*
Mme COLLARD-MEYNAUD Patricia, *Pathologie chirurgicale*
Mlle DIQUELOU Armelle, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
M. DOSSIN Olivier, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
M. FOUCRAS Gilles, *Pathologie du bétail*
Mme GAYRARD-TROY Véronique, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
M. GUERIN Jean-Luc, *Elevage et Santé Avicoles et Cunicoles*
M. JACQUIET Philippe, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
M. JAEG Jean-Philippe, *Pharmacie et Toxicologie*
M. LYAZRHI Faouzi, *Statistiques biologiques et Mathématiques*
M. MATHON Didier, *Pathologie chirurgicale*
M. MEYER Gilles, *Pathologie des ruminants*
Mme MEYNADIER-TROEGELER Annabelle, *Alimentation*
M. MONNEREAU Laurent, *Anatomie, Embryologie*
Mme PRIYMENKO Nathalie, *Alimentation*
Mme RAYMOND-LETRON Isabelle, *Anatomie pathologique*
M. SANS Pierre, *Productions animales*
Mlle TRUMEL Catherine, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*
M. VERWAERDE Patrick, *Anesthésie, Réanimation*

MAÎTRES DE CONFERENCES CONTRACTUELS

Mlle BIBBAL Delphine, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
M. CASSARD Hervé, *Pathologie du bétail*
Mlle LACROUX Caroline, *Anatomie pathologique des animaux de rente*
M. NOUVEL Laurent-Xavier, *Pathologie de la reproduction*
M. REYNOLDS Brice, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*
M. VOLMER Romain, *Infectiologie*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

M. CONCHOU Fabrice, *Imagerie médicale*
M. CORBIERE Fabien, *Pathologie des ruminants*
M. MOGICATO Giovanni, *Anatomie, Imagerie médicale*
Mlle PALIERNE Sophie, *Chirurgie des animaux de compagnie*
M. RABOISSON Didier, *Productions animales*

REMERCIEMENTS

Au président de thèse,

Monsieur le Professeur Jean-Paul SEGUELA

Professeur des Universités
Praticien Hospitalier
Parasitologie et Mycologie

Pour m'avoir fait l'honneur de présider le jury de thèse,
Veuillez trouver ici l'expression de mes hommages respectueux.

Au Directeur de thèse

Monsieur le Professeur Michel FRANC

Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Parasitologie et Maladies Parasitaires

Pour avoir eu la patience et l'amabilité de lire mon travail,
Veuillez accepter l'expression de mes sincères remerciements.

A l'assesseur

Madame le Docteur Lydie BRET-BENNIS

Maître de Conférence de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Physique et Chimie Biologiques et Médicales

Vous avez été à mes côtés tout au long de mes études.
En souvenir de ces années et des étapes franchies ensemble,
Veuillez recevoir mes plus chaleureuses et amicales pensées.

Au membre invité du jury,

M. Stéphane Bonneau

Chargé d'études Pré-cliniques et Cliniques
Virbac S.A.

Pour la confiance, le soutien et l'amitié que vous m'avez témoignés,
Veuillez croire à mes plus sincères remerciements et mon entière reconnaissance.

Aux directeurs, MM. Bénard, Bonne, Desnoyers, et Milon,

Aux enseignants,

Au personnel de la scolarité et du bureau des thèses,

Aux gérants de la Cité des Elèves, M. et Mme Passera,

De l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,

Pour m'avoir donné la chance de devenir vétérinaire,
Veuillez recevoir toute ma gratitude.

DEDICACES

A mes parents pour avoir toujours cru en moi et m'avoir toujours soutenue malgré l'adversité. Je leur serai éternellement reconnaissante.

A mon frère, Guillaume, et ma belle sœur, Anne, pour leur aide précieuse en informatique et leurs conseils sur l'entrée dans la vie professionnelle.

A mes frère et sœur, Bertrand et Béatrice, en souvenir des bons moments partagés.

A ma grand-mère, Simone, son absence ne la rend que plus présente à mes côtés.

A mes grand-oncle et grand-tante, les Dr Yves et Geneviève Péninou, et à toute la famille Péninou pour leur accueil depuis que je fais mes études à Toulouse.

Aux Dr Vét. Dominique Grousseau et Patrick Mercier,
co-responsables de l'étude, des Laboratoires Pharmaceutiques Vétérinaires VIRBAC S.A.,

Pour la confiance qu'ils m'ont accordés, je leur adresse mes sincères remerciements et mes chaleureuses pensées.

Aux Dr Vét. Philippe Pergent, sa femme, Véronique, leurs fils, et à ses collaborateurs
de la clinique vétérinaire de Sémalens,

Pour la formation, l'hospitalité et l'amitié des plus conviviales durant ces années d'études, les moments passés ensemble resteront parmi mes meilleurs souvenirs d'étudiante.

Aux Dr Farisse, Mme Verdureau, Dr Dumas et au Pr. Géraud,
des remerciements tout particuliers pour le chemin parcouru ensemble.

A Emmanuelle, au nom de notre amitié, je n'oublierai jamais les heures de travail commun.

Au Dr Vét. Marianne Van Den Plas qui m'a fait découvrir le métier de vétérinaire.

Aux Dr Vét. Michel et Monique de La Rocque de Séverac qui m'ont donné le goût de la médecine rurale mixte.

A tous les amis de l'ENVT, Gaby, Florence, Tran, Bich, Delphine F., Valérie, Eric, Sophie L., Sonia et les autres, pour leur amitié et les bons moments passés ensemble.

A Bruno, pour avoir été là dans les moments les plus importants de ma vie toulousaine, les bons comme les mauvais.

A Sophie de M., Magali, Julie, Delphine B. et tous mes autres amis aixois que la distance n'éloignent pas.

A tous ceux que je n'ai pas cités et qui ont compté dans ma vie d'étudiante toulousaine, une place dans mon cœur leur est réservée.

TABLE DES MATIERES

TABLE DES ILLUSTRATIONS.....	13
GLOSSAIRE	15
INTRODUCTION.....	17
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	19
CHAPITRE 1 CTENOCEPHALIDES FELIS : ECTOPARASITE DES CARNIVORES DOMESTIQUES	21
1. PREDOMINANCE DE CTENOCEPHALIDES FELIS	21
2. BIOLOGIE DE CTENOCEPHALIDES FELIS	21
2.1. TAXONOMIE.....	21
2.2. CYCLE EVOLUTIF	22
2.2.1. Les oeufs.....	22
2.2.2. Les larves	23
2.2.3. Les nymphes ou pupes.....	23
2.2.4. Les adultes pré-émergés.....	24
2.2.5. Les puces adultes.....	24
3. PROPAGATION DE CTENOCEPHALIDES FELIS.....	26
3.1. RELATION A L'HOTE	26
3.1.1. Influence du lieu de vie de l'hôte.....	26
3.1.2. Influence du mode de vie de l'hôte.....	27
3.2. RISQUES DE CONTAMINATION.....	27
3.2.1. D'un animal à l'autre.....	27
3.2.2. A partir de l'environnement.....	27
3.3. SOURCES DE CONTAMINATION A PARTIR DE L'ENVIRONNEMENT DOMESTIQUE	27
3.3.1. Répartition de la population de puces dans l'environnement	27
3.3.2. Principaux types d'environnement contaminés par les puces.....	28
4. ROLES PATHOGENES DE CTENOCEPHALIDES FELIS	30
4.1. ROLES PATHOGENES DIRECTS	30
4.1.1. Le toilettage et le grattage	30
4.1.2. La spoliation sanguine	30
4.1.3. La dermatite par allergie à la piqûre de puces (DAPP)	30
4.2. ROLES PATHOGENES INDIRECTS.....	31
4.2.1. Transmission d'helminthes.....	31
4.2.2. Transmission de bactéries.....	31
CHAPITRE 2 LA LUTTE CONTRE LES PUCES DANS L'ENVIRONNEMENT	33
1. PRESENTATION DE LA LUTTE DANS L'ENVIRONNEMENT	33
1.1. PRINCIPE.....	33
1.2. INTERETS	34
1.2.1. Par rapport aux puces.....	34
1.2.2. Par rapport aux propriétaires	35
1.3. CONDITIONS D'APPLICATION DU TRAITEMENT	35
1.3.1. Mesures générales d'hygiène.....	35
1.3.2. Application du traitement.....	35
1.3.3. Précautions d'usage.....	36
1.4. CAUSES DES ECHECS DES TRAITEMENTS DE L'ENVIRONNEMENT.....	36
1.4.1. Diffusion variable des principes actifs.....	36
1.4.2. Motivation des propriétaires d'animaux.....	37

2. ETUDE DES PRINCIPES ACTIFS UTILISES DANS LES ESSAIS EXPERIMENTAUX.....	38
2.1. UN INSECTICIDE : LA PERMETHRINE.....	38
2.1.1. <i>Structure, propriétés physiques et chimiques</i>	38
2.1.2. <i>Mode d'action</i>	39
2.1.3. <i>Effets insecticides</i>	39
2.1.4. <i>Efficacité</i>	40
2.1.5. <i>Toxicité chez les mammifères</i>	40
2.1.6. <i>Ecotoxicité</i>	42
2.2. LES REGULATEURS DE CROISSANCE DES INSECTES	43
2.2.1. <i>Les analogues de l'hormone juvénile : le pyriproxyfène (INDOREX®) et le méthopréne (ACCLAIM®)</i>	43
2.2.2. <i>Les inhibiteurs de paroi : le flufenoxuron (TIQUANIS HABITAT®) et la cyromazine (STAYKIL®)</i> 47	
3. LES PREPARATIONS PHARMACEUTIQUES PRESSURISEES.....	51
3.1. LES FORMES GALENIQUES.....	51
3.2. DEFINITION DES PREPARATIONS PHARMACEUTIQUES PRESSURISEES.....	52
3.3. CARACTERISTIQUES DE PULVERISATION.....	53
3.4. ETUDE COMPARATIVE DES PREPARATIONS PHARMACEUTIQUES PRESSURISEES	53
3.4.1. <i>Similitude</i>	53
3.4.2. <i>Différences</i>	53
3.4.3. <i>Avantages et inconvénients des formes galéniques</i>	54
ETUDE EXPERIMENTALE.....	57
EFFICACITÉ COMPAREE SUR MOQUETTE DE QUATRE AEROSOLS A BASE DE PERMETHRINE ET D'IGR	59
1. OBJECTIFS.....	59
2. MATERIELS ET METHODES.....	59
2.1. LES REACTIFS	59
2.2. LES PUCES.....	62
2.3. LA MOQUETTE	62
2.4. PROTOCOLES EXPERIMENTAUX.....	63
2.4.1. <i>Essai curatif sur les puces adultes (essai 1)</i>	63
2.4.2. <i>Essai curatif sur les stades juvéniles (essai 2)</i>	64
2.4.3. <i>Essai préventif sur les puces adultes (essai 3)</i>	65
2.4.4. <i>Essai préventif sur les stades juvéniles (essai 4)</i>	66
2.5. ANALYSE DES DONNEES.....	69
2.5.1. <i>Essai 1 et 3</i>	69
2.5.2. <i>Essai 2 et 4</i>	69
3. RESULTATS	70
3.1. ACTIVITE CURATIVE SUR LES PUCES ADULTES (ESSAI 1).....	70
3.2. ACTIVITE CURATIVE SUR LES STADES JUVENILES (ESSAI 2).....	71
3.3. ACTIVITE PREVENTIVE SUR LES PUCES ADULTES (ESSAI 3).....	72
3.4. ACTIVITE PREVENTIVE SUR LES STADES JUVENILES (ESSAI 4).....	73
4. DISCUSSION.....	77
4.1. INTERPRETATION DES RESULTATS.....	77
4.1.1. <i>Traitement curatif</i>	77
4.1.2. <i>Traitement préventif</i>	78
4.2. RISQUE D'INTOXICATION A LA PERMETHRINE DANS L'HABITAT	80
4.3. NOTION DE LUTTE INTEGRE	82
4.3.1. <i>Traitement insecticide sur l'animal</i>	82
4.3.2. <i>Contrôle de la reproduction des puces</i>	82
4.3.3. <i>Traitement de l'environnement</i>	82
CONCLUSION	85
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	87

ANNEXES	97
ANNEXE 1 LISTE DES PREPARATIONS PHARMACEUTIQUES PRESSURISEES UTILISEES CONTRE LES PUCES DE L'ENVIRONNEMENT EN FRANCE	98
ANNEXE 2 TEST DE L'AEROSOL INDOREX®	99
ANNEXE 3 TEST DE L'AEROSOL STAYKIL®	100
ANNEXE 4 TEST DE L'AEROSOL ACCLAIM®	101
ANNEXE 5 TEST DE L'AEROSOL TIQUANIS HABITAT®	102
ANNEXE 6 RESULTATS DU TRAITEMENT SUR LES PUCES ADULTES	103
ANNEXE 7 RESULTATS DU TRAITEMENT CURATIF SUR LES STADES JUVENILES	104
ANNEXE 8 RESULTATS DU TRAITEMENT PREVENTIF SUR LES STADES JUVENILES	105
ANNEXE 9 PUBLICATION [12]	106

TABLE DES ILLUSTRATIONS

FIGURES

Figure 1 : Cycle évolutif de <i>Ctenocephalides felis</i> (d'après FRANC 1998a).....	22
Figure 2 : Œufs et fecès de <i>C. felis</i> (Stéphane Bonneau, VIRBAC)	22
Figure 3 : Larve de <i>C. felis</i> (Stéphane Bonneau, VIRBAC)	23
Figure 4 : Nymphe de <i>C. felis</i> (Stéphane Bonneau, VIRBAC)	24
Figure 5: Vue latérale de <i>C. felis</i> (d'après FRANC 1998a)	25
Figure 6 : Répartition et durée de vie moyenne des puces de l'habitat domestique (d'après Pierre JASMIN, VIRBAC).....	28
Figure 7 : Répartition et nombre d'œufs (7a) et d'exuvies de larves de premier stade et de deuxième stade (7b) de <i>Ctenocephalides felis</i> , issues de la moquette (ROBINSON 1995).....	29
Figure 8 : Jambe d'homme piquée par des puces (d'après [48]).....	33
Figure 9 : Structure des isomères de la noirâtre (d'après BICHAT-SETA 2002).....	39
Figure 10 : Structure chimique du Pyriproxifène [118]	43
Figure 11 : Structure chimique du Méthoprène [104].....	45
Figure 12 : Structure chimique du Flufénoxuron [50].....	47
Figure 13 : Structure chimique de la Cyromazine [30].....	49
Figure 14 : présentation des quatre spécialités pressurisées étudiées	51
Figure 15 : Coupe d'une forme pharmaceutique pressurisée (SEILLER 1996).....	52
Figure 16 : Schéma du Traitement curatif adulticide (essai 1).....	63
Figure 17 : Schéma du Traitement curatif sur les stades juvéniles ($T_i = T_v/5$) (Essai 2).....	64
Figure 18 : Réalisation du Traitement curatif sur les stades juvéniles.....	64
Figure 19 : Etapes du protocole du traitement curatif sur les stades juvéniles (essai 2).....	65
Figure 20 : Schéma du traitement préventif insecticide (essai3)	66
Figure 21 : Préparation des carrés de moquette pour le traitement préventif sur les stades juvéniles en fonction des facteurs d'agression, Aspiration (A), Lavage (L), Exposition lumineuse (EL) ou Absence d'agression (Abs).....	66
Figure 22 : Méthode de pulvérisation des moquettes lors du traitement préventif contre les stades juvéniles.....	67
Figure 23 : Passage de l'aspirateur sur un carré de moquette	67
Figure 24 : Lavage d'un carré de moquette à l'aide d'un shampooing et d'une éponge	68
Figure 25 : Exposition lumineuse d'une moquette derrière une vitre	68
Figure 26 : Schéma des étapes de l'essai préventif sur les stades juvéniles (essai 4)	69
Figure 27 : Efficacités comparées du traitement curatif sur les puces adultes selon les aérosols	70
Figure 28 : Comparaison des effectifs cumulés moyens des puces émergées non traitées (témoins) ou traitées par les spécialités (INDOREX®, Pyriproxifène : 1,23 mg/m ² ; STAYKIL®, Cyromazine : 256,82 mg/m ² ; ACCLAIM®, Méthoprène : 3,43 mg/m ² ; TIQUANIS®, Flufénoxuron : 1,30 mg/m ²). Les effectifs cumulés moyen correspondent au nombre moyen de puces émergées sur les 4 échantillons de moquette traitées ou non.....	71
Figure 29 : Rémanence de l'effet létal (après un temps de contact de 24h) d'une moquette traitée par quatre spécialités (INDOREX®, $C_{Pm}=231,70$ mg/m ² ; STAYKIL®, $C_{Pm}=134,58$ mg/m ² ; ACCLAIM®, $C_{Pm}=75,01$ mg/m ² ; et TIQUANIS®, $C_{Pm}=147,24$ mg/m ²)	72
Figure 30 : Comparaison des effets knock-down et létal des quatre aérosols (INDOREX®, $C_{Pm}=231,70$ mg/m ² ; STAYKIL®, $C_{Pm}=134,58$ mg/m ² ; ACCLAIM®, $C_{Pm}=75,01$ mg/m ² ; et TIQUANIS®, $C_{Pm}=147,24$ mg/m ²) sur une moquette traitée en fonction de la rémanence (>90%), 24h après dépôt des puces..	72
Figure 31 : Rémanence de l'activité IGR de moquettes traitées sans autre agression (témoins positifs) par quatre spécialités (INDOREX®, $C_{Pyriproxifène}=1,47$ mg/m ² ; STAYKIL®, $C_{Cyromazine}=288,92$ mg/m ² ; ACCLAIM®, $C_{Méthoprène}=3,43$ mg/m ² ; et TIQUANIS®, $C_{Flufénoxuron}=1,30$ mg/m ²)	73
Figure 32 : Rémanence de l'activité IGR de moquettes traitées par quatre spécialités (INDOREX®, $C_{Pyriproxifène}=1,47$ mg/m ² ; STAYKIL®, $C_{Cyromazine}=288,92$ mg/m ² ; ACCLAIM®, $C_{Méthoprène}=3,43$ mg/m ² ; et TIQUANIS®, $C_{Flufénoxuron}=1,30$ mg/m ²) et aspirées	74
Figure 33 : Rémanence de l'activité IGR de moquettes traitées par quatre spécialités (INDOREX®, $C_{Pyriproxifène}=1,47$ mg/m ² ; STAYKIL®, $C_{Cyromazine}=288,92$ mg/m ² ; ACCLAIM®, $C_{Méthoprène}=3,43$ mg/m ² ; et TIQUANIS®, $C_{Flufénoxuron}=1,30$ mg/m ²) et shampooinées	75
Figure 34 : Rémanence de l'activité IGR de moquettes traitées par quatre spécialités (INDOREX®, $C_{Pyriproxifène}=1,47$ mg/m ² ; STAYKIL®, $C_{Cyromazine}=288,92$ mg/m ² ; ACCLAIM®, $C_{Méthoprène}=3,43$ mg/m ² ; et TIQUANIS®, $C_{Flufénoxuron}=1,30$ mg/m ²) et exposées à la lumière.....	76

Figure 35 : Rémanence (>90%) de l'activité IGR d'une moquette traitée par quatre spécialités (INDOREX®, $C_{\text{Pyriproxyfène}}=1,47 \text{ mg/m}^2$; STAYKIL®, $C_{\text{Cyromazine}}=288,92 \text{ mg/m}^2$; ACCLAIM®, $C_{\text{Méthoprène}}=3,43 \text{ mg/m}^2$; et TIQUANIS®, $C_{\text{Flufénoxuron}}=1,30 \text{ mg/m}^2$) sans facteur d'agression environnementale (témoin positif), aspirée, lavée ou exposée à la lumière. 79

Figure 36 : Adulticides et IGR dans la lutte anti-puce, exemple d'un premier traitement d'attaque (d'après JASMIN P., VIRBAC) 83

TABLEAUX

Tableau 1 : Classification de la puce, <i>C. felis</i>	21
Tableau 2 : Classification des pyréthriinoïdes (LARHANTEC 2003)	38
Tableau 3 : Toxicité de la perméthrine sur les puces.....	40
Tableau 4 : Toxicité de la perméthrine racémique (cis/trans : 50/50) chez les mammifères (TOMLIN 1997, [115, 116])	41
Tableau 5 : Ecotoxicité de la perméthrine (TOMLIN 1997, Permethrin n°51).....	42
Tableau 6 : Capacité du pyriproxyfène à inhiber la larve L3 de <i>C. felis</i>	44
Tableau 7 : Toxicité du pyriproxyfène chez les mammifères (TOMLIN 1997, [120])	45
Tableau 8 : Capacité du méthoprène à inhiber la larve L3 chez <i>C. felis</i>	46
Tableau 9 : Toxicité du méthoprène chez les mammifères (TOMLIN 1997, [102])	46
Tableau 10 : Ecotoxicité du méthoprène (TOMLIN 1997).....	47
Tableau 11 : Capacité du Flufénoxuron en association avec la Perméthrine à inhiber le développement des œufs de puce	48
Tableau 12 : Toxicité du Flufénoxuron chez les mammifères (TOMLIN 1997).....	48
Tableau 13 : Ecotoxicité du Flufénoxuron [145].....	49
Tableau 14 : Capacité de la Cyromazine à inhiber le développement des larves de puce	50
Tableau 15 : Toxicité de la cyromazine chez les mammifères (TOMLIN 1997, [29])	50
Tableau 16 : Ecotoxicité de la Cyromazine [140].....	50
Tableau 17 : Les quatre spécialités pressurisées étudiées lors des essais	51
Tableau 18 : Comparaison des différentes préparations pressurisées.....	55
Tableau 19 : Caractéristiques des spécialités pressurisées	59
Tableau 20 : Caractéristiques de pulvérisation des aérosols.....	61
Tableau 21 : Conditions du traitement curatif adulticide et concentration en perméthrine	64
Tableau 22 : Conditions du traitement curatif sur les stades juvéniles et concentrations en principes actifs	65
Tableau 23 : Conditions du traitement préventif sur les stades juvéniles et concentrations en principes actifs	67
Tableau 24 : Efficacité (%) des aérosols (perméthrine) sur les puces à J+2h.....	103
Tableau 25 : Efficacité (%) des aérosols (perméthrine) sur les puces à J+8h.....	103
Tableau 26 : Efficacité (%) des aérosols (perméthrine) sur les puces à J+24h.....	103
Tableau 27 : Nombre total de puces émergées selon les aérosols et le nombre de jours après traitement.....	104
Tableau 28 : Efficacité (%) du traitement préventif sur les stades juvéniles selon le jour après traitement et l'aérosol (Témoin positif)	105
Tableau 29 : Efficacité (%) du traitement préventif sur les stades juvéniles soumis à l'aspiration selon le jour après traitement et l'aérosol	105
Tableau 30 : Efficacité (%) du traitement préventif sur les stades juvéniles soumis au lavage selon le jour après traitement et l'aérosol	105
Tableau 31 : Efficacité (%) du traitement préventif sur les stades juvéniles soumis à la lumière selon le jour après traitement et l'aérosol	105

GLOSSAIRE

Aérosol ou préparation pharmaceutique pressurisée : préparation délivrée dans des récipients spéciaux sous la pression d'un gaz (Pharmacopée française). Les préparations pharmaceutiques définies comme aérosols par le DMV 2005 et étudiés dans ce travail sont des préparations pharmaceutiques pressurisées mises sous pression dans un récipient métallique et possédant une valve à libération continue. Elle permet d'orienter la direction d'un jet de très petites gouttelettes.

Bombe aérosol : terme abusif désignant une préparation pharmaceutique pressurisée (DOPA 1997).

DAPP : Dermatite par Allergie aux Piqûres de Puce.

Diffuseur : préparation pharmaceutique pressurisée mise sous pression dans un récipient métallique, et possédant une valve doseuse à libération prolongée diffusant de façon continue et automatique un brouillard de fines gouttelettes.

EMS Efficacité Minimale Souhaitée.

Fenêtre pupale: période pendant laquelle des puces continuent à émerger après traitement de l'environnement (DRYDEN 1995).

Moquette bouclée : Les fils de la moquette forment de petites boucles continues, chacune étant ancrée dans l'envers de la moquette.

Moquette contract: moquette de fabrication industrielle la rendant particulièrement résistante à un usage intensif comme dans les hôtels par exemple.

Moquette saxony : velours coupé fabriqué avec un fil retors de grosseur moyenne. Les pointes des fils sont individualisées en surface, donnant un aspect méché.

Pseudo-aérosol : préparation pharmaceutique pressurisée non destinée aux voies respiratoires caractérisée par la taille de ses particules de 5 à 200 µm.

Pulicose : infestation d'un animal par des puces.

Pulvérisateur : préparation pharmaceutique pressurisée, conditionnée dans un récipient en plastique et possédant une pompe mécanique. Elle est mise sous pression manuellement et permet d'orienter la direction d'un jet de gouttelettes irrégulières et grossières.

Solution pressurisée : préparation pharmaceutique pressurisée mise sous pression dans un récipient métallique et possédant une valve doseuse à libération courte nécessitant des actions répétées. Elle permet d'orienter la direction d'un jet de petites gouttelettes.

INTRODUCTION

La puce du chat, *Ctenocephalides felis*, ectoparasite des carnivores domestiques, est la puce la plus fréquemment rencontrée sur nos chiens et chats. Avec eux, elle rentre dans nos foyers et, dans les conditions favorables des habitations chauffées, se développe dans tous les lieux où se déplacent nos compagnons. La population de puces adultes présente sur l'animal n'est que la partie émergée d'un iceberg puisque l'ensemble des stades évolutifs (œufs, larves et nymphes) présent dans l'environnement représente 95% de la population totale de puces. Les puces issues de l'environnement sont principalement à l'origine des infestations des animaux. Le traitement de l'environnement est une solution à ne pas négliger pour limiter les réinfestations et les nuisances occasionnées par les puces. Celles-ci sont responsables d'une impression de mauvaise hygiène de la part des propriétaires d'animaux. Elles provoquent des démangeaisons à l'origine d'une augmentation du grattage et du toilettage, une perte sanguine significative lors d'infestation massive. Elles peuvent engendrer des réactions allergiques aux piqûres de puces et transmettre des agents pathogènes tels que *Dipylidium caninum*, ver intestinal.

Différents traitements de l'environnement existent. C'est pourquoi nous avons décidé d'évaluer, dans des conditions normales d'utilisation, quatre aérosols à base de perméthrine et d'un IGR. Nous avons envisagé deux approches de traitement, l'action curative d'un environnement infesté et l'action préventive et rémanente d'un environnement indemne de puces. Les influences d'agressions ménagères de type, aspirateur, lavage et lumière sont testées sur l'activité préventive à long terme.

Dans une première partie bibliographique, nous étudierons la puce, *C. felis* en premier chapitre. Après avoir démontré la prédominance de *C. felis*, choisie comme support d'étude, nous rappellerons sa biologie dont la connaissance est indispensable pour la maîtrise de l'élevage en laboratoire. Les différents modes de propagation seront envisagés ainsi que ses rôles pathogènes justifiant de la lutte anti-puce. Dans un deuxième chapitre, la lutte dans l'environnement sera définie et expliquée avant de présenter les caractéristiques des molécules et des aérosols étudiés. Enfin, la partie expérimentale présentera l'étude réalisée sur les aérosols et leurs résultats. Le risque de pollution de l'habitat sera abordé ainsi que la notion de lutte intégrée.

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1

***Ctenocephalides felis* :** **Ectoparasite des carnivores domestiques**

1. Prédominance de *Ctenocephalides felis*

Diverses enquêtes épidémiologiques ont cherché à recenser les espèces de puces présentes dans leur pays respectif. *Ctenocephalides felis* se révèle souvent être l'espèce qui domine les autres.

Chez le chat, *Ctenocephalides felis* est prépondérante à 97,9% sur 403 chats provenant de 75 départements français (CADIERGUES 2000c).

Chez le chien, *Ctenocephalides felis* (86,6%) est également l'espèce majoritaire devant *Ctenocephalides canis* (11,2%) sur 392 chiens provenant de 80 départements français (FRANC 1998c).

Ces conclusions corroborent les résultats d'autres études européennes démontrant la tendance de *Ctenocephalides felis* à prédominer : Allemagne (LIEBIESCH 1985, KALVELAGE 1991), Autriche, (HINAIDY 1991), Danemark (KRISTENSEN 1978, HAARLOEV 1977), Irlande (WALL 1997), Royaume-Uni (COWARD 1991, JACKSON 1993, CHESNEY 1995) et Grèce (HARALAMPIDIS 1977, KOUTINAS 1995) et, cela, malgré la concurrence entre *C. canis* et *C. felis* chez le chien, à Londres (BERESFORD-JONES 1981), en Autriche (HINAIDY 1991), au Danemark (KRISTENSEN 1978) et en France (FRANCES 1996, FRANC1998c). Sur les cinq continents, le constat est le même. *C. felis* s'est donc naturellement imposée comme support d'étude des traitements anti-puce.

2. Biologie de *Ctenocephalides felis*

La bonne connaissance de la biologie et du cycle de la puce du chat permet de comprendre l'intérêt de sa lutte, d'avoir une action efficace et ciblée et de réaliser l'élevage de puces en laboratoire, nécessaire à l'évaluation des antiparasitaires.

2.1. Taxonomie

Tableau 1 : Classification de la puce, *C. felis*

Embranchement	Arthropoda
Classe	Insecta
Ordre	Siphonaptera
Super-Famille	Pulicoidea
Famille	Pulicidae
Sous-Famille	Archaeopsyllinae
Genre	<i>Ctenocephalides</i>
Espèce	<i>Ctenocephalides felis</i>

2.2. Cycle évolutif

D'après DRYDEN 1994, DRYDEN 1995, FRANC 1998a

Dans les conditions optimales de température et d'humidité (27°C, 70% HR), le cycle de la puce (Figure 1) peut se réaliser en 15 à 30 jours (CADIERGUES 2000b). Dans une habitation, *C. felis* effectue son cycle entre deux semaines et six mois.

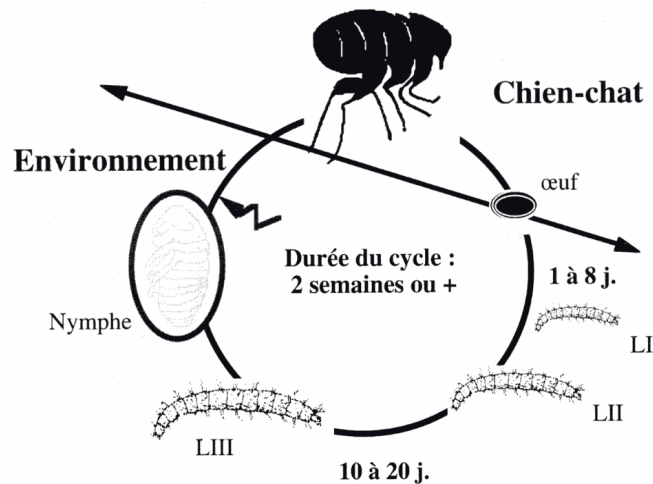


Figure 1 : Cycle évolutif de *Ctenocephalides felis* (d'après FRANC 1998a)

2.2.1. Les œufs

De forme ovoïde, les œufs (Figure 2) ont un aspect blanc nacré et sont visibles à l'oeil nu (de 0,3 à 0,5 mm) (LINLEY 1994, FRANC 1998a).

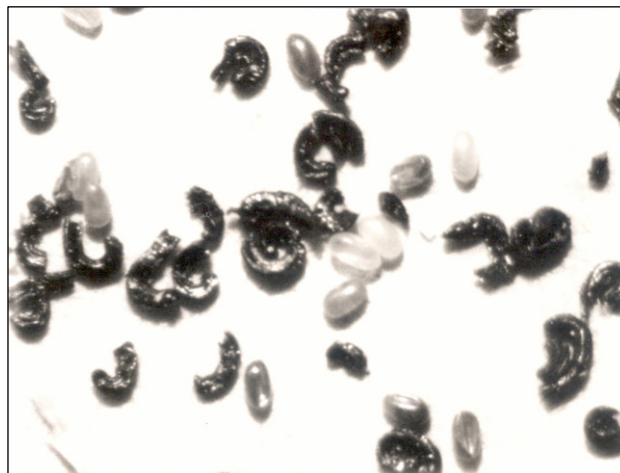


Figure 2 : Œufs et excréments de *C. felis* (Stéphane Bonneau, VIRBAC)

Ils adhèrent aux poils une à deux heures puis tombent du pelage. L'éclosion est plus ou moins précoce (1^{er} et 9^{ème} jour après la ponte) selon la température et le degré d'humidité relative (HR). Elle est optimale au 2^{ème} et 3^{ème} jour à 27°C et 70% HR (CADIERGUES 2000b).

2.2.2. Les larves

2.2.2.1. Morphologie

Trois stades larvaires (L1, L2 et L3) se succèdent entrecoupés de mues puis la larve de troisième stade évolue en nymphe.

Les larves (Figure 3) sont fusiformes, blanches, segmentées, et présentent des soies éparses. Leur appareil digestif s'assombrit dès qu'elles commencent à se nourrir. Les larves croissent en taille : la L1 mesure 0,5 mm de long à l'éclosion et la L3 atteint 5 mm.



Figure 3 : Larve de *C. felis* (Stéphane Bonneau, VIRBAC)

2.2.2.2. Mode de vie

Les larves se nourrissent de débris organiques grâce à leur appareil buccal de type broyeur. Elles sont alors susceptibles d'ingérer des embryophores de *Dipylidium caninum*. Elles mangent aussi des fèces de puces adultes, essentielles à leur bon développement.

Les larves ont une vie libre. Elles sont attirées par l'humidité, se dirigent vers le sol par des mouvements de reptation en fuyant la lumière.

La durée de la phase larvaire est de 5 à 11 jours en moyenne en fonction de la température et du degré d'hygrométrie (SILVERMAN 1981). La larve est extrêmement sensible à la dessiccation (forte chaleur, soleil, <33% HR) (DRYDEN 1994a). Le développement larvaire est optimal dans un habitat confiné, protégé, à une température modérée (20-30°C) et une hygrométrie élevée (75% HR) (THIEMANN 2003).

2.2.3. Les nymphes ou pupes

La larve mûre, L3, prend la forme d'un « U » et tisse un cocon de soies. Des débris s'agglutinent sur les fibres de soies collantes ce qui achève le cocon et le camoufle.



Figure 4 : Nympe de *C. felis* (Stéphane Bonneau, VIRBAC)

La métamorphose donne naissance à une nymphe ou pupa qui ressemble à l'adulte (Figure 4). Les nymphes sont très résistantes à la dessiccation (2 à 10% HR) (SILVERMAN 1981, THIEMANN 2003). L'émergence des puces adultes se fait vers le 8^{ème} ou 9^{ème} jour après la formation du cocon (DRYDEN 1994b) dans les conditions optimales de température et d'hygrométrie selon différents stimuli d'émergence : la pression mécanique, les vibrations, l'augmentation de température et le CO₂.

2.2.4. Les adultes pré-émergés

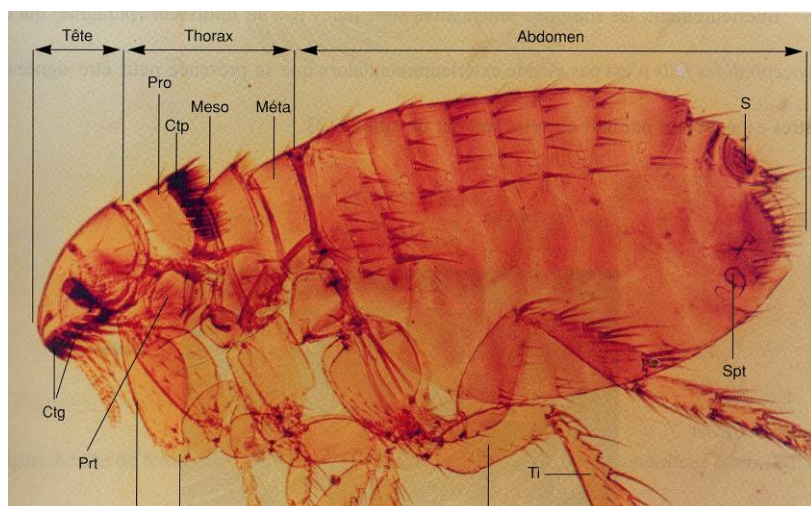
Le cycle d'évolution peut être interrompu provisoirement entre une semaine et 6 mois (SILVERMAN 1985) selon l'influence de la température, de la photopériode et l'existence ou non de trépidations. Les adultes émergent plus tardivement quand la température diminue (12-24j à 26,7°C et 49-74j à 15,5°C) (METZGER 1997). Lorsque la photopériode diminue, la durée d'émergence des puces adultes augmente (METZGER 1996a). Les puces adultes pré-émergées restent quiescentes à l'intérieur du cocon dans l'attente de conditions favorables et de stimuli d'émergence. Les puces sont donc plus fréquentes dans le milieu extérieur du printemps à l'automne qu'en hiver.

La capacité de survie pendant des périodes prolongées dans le cocon est particulièrement importante pour les espèces comme *C. felis* qui infestent des hôtes mobiles revenant occasionnellement sur leur lieu de couchage ou de passage.

2.2.5. Les puces adultes

2.2.5.1. Morphologie

La puce *Ctenocephalides felis* (Figure 5) est un insecte de couleur brune mesurant de 2 à 3 mm de long. Elle est aplatie latéralement ce qui facilite son avancée entre les poils de l'hôte. Les épines tégumentaires orientées vers l'arrière l'obligent à une marche en avant. Elle possède un appareil buccal de type piqueur. Sa caractéristique est de présenter deux paires de "peignes" (cténidies), une paire céphalique et horizontale, à l'origine de son nom, *Ctenocephalides* et, une paire prothoracique. Elle se distingue de *Ctenocephalides canis* par un front courbe et fuyant. Sa troisième paire de pattes est adaptée au saut. Elle ne possède pas d'ailes.



s	: sensillum	Prt	: prosternum
Ctg	: cénidie génale	H	: hanche
Ctp	: cténidie pronotale	Tr	: trochanter
Pro	: prothorax	Fé	: fémur
Méso	: mésothorax	Ti	: tibia
Méta	: métathorax	Spt	: spermathèque

Figure 5: Vue latérale de *C. felis* (d'après FRANC 1998a)

2.2.5.2. Acquisition de l'hôte

Une fois sortie du cocon, la puce recherche l'hôte immédiatement et saute sur l'animal qui passe à proximité (DRYDEN 1995). Elle est stimulée par la chaleur corporelle, l'intermittence lumineuse, les mouvements d'air et l'exhalation de CO₂ (OSBRINK 1985).

Ces comportements lui permettent d'augmenter ses chances de rencontrer un hôte.

2.2.5.3. Survie dans l'attente d'un hôte

La puce adulte, nouvellement émergée, peut survivre quelques jours selon les conditions environnementales. *C. felis* a une durée de survie de plusieurs jours (DRYDEN 1995) dans le milieu extérieur selon les conditions de température et d'humidité : 11,7 jours à 19°C et 70% HR (CADIERGUES 2000b).

2.2.5.4. Hôtes accessoires

A défaut de trouver son hôte préférentiel, la puce du chat devient opportuniste. Elle peut parasiter de nombreuses autres espèces dont les chiens, les veaux, les brebis, les chèvres, les poulets, les furets, les rongeurs, l'ours, les opossums, les lézards, les poneys, les chevaux (YERUHAM 1996) et les ânes (YERUHAM 2003). L'homme en est parfois victime. Ceci explique entre autres la récurrence annuelle des puces. Les puces survivent grâce aux hôtes accessoires et ainsi la population de puces se maintient.

2.2.5.5. Repas de sang

Une fois sur l'animal, la puce prend immédiatement son repas de sang (délai moyen = 24 secondes) qui dure entre 10 et 20 minutes (CADIERGUES 2000a). Une femelle de *C. felis* peut prélever 13,6 µlitres de sang par jour ce qui équivaut à 15,15 fois son propre poids (DRYDEN 1991).

La consommation de sang est nécessaire à l'accouplement et à la production importante d'œufs (HSU 2001).

Le sang mal digéré composant les fèces de puces leur confère une couleur rouge noirâtre (Figure 2). Les fèces une fois émises tombent de l'animal là où il se trouve.

2.2.5.6. Accouplement

La puce du chat vit, se nourrit, s'accouple et pond sur l'animal-hôte. Elle s'accouple préférentiellement à 38°C, température corporelle des hôtes qu'elle parasite (HSU 2001). Elle procède à des accouplements multiples qui augmentent les taux de fécondité et de fertilité des femelles. (HSU 2000).

2.2.5.7. Production d'œufs

Les femelles commencent à pondre dans les 36 à 48 heures après leur premier repas de sang et atteignent un pic de production entre le 4^{ème} et le 9^{ème} jour (CADIERGUES 2000b).

C. felis a une forte capacité de ponte. Une puce pond en moyenne 27 oeufs par jour pendant 50 jours et jusqu'à 40 à 50 œufs par jour au pic de production, soit un total de 1745 oeufs (DRYDEN 1989).

2.2.5.8. Longévité sur l'hôte

Plusieurs études ont tenté de déterminer la durée de vie de la puce sur le chat. Cette durée est fortement diminuée lorsque l'animal fait sa toilette et se gratte (WADE 1988). Seulement 22% des puces femelles placées sur un chat après 22 jours ont pu être retrouvées (HUDSON 1958).

3. Propagation de *Ctenocephalides felis*

3.1. Relation à l'hôte

Le sexe et l'âge de l'animal-hôte ne semblent pas avoir d'influence sur la propagation de *Ctenocephalides felis* retrouvées chez les chiens et les chats. Par contre, le mode de vie des animaux et leur lieu de vie ont une influence.

3.1.1. Influence du lieu de vie de l'hôte

Chez le chien, au fur et à mesure que l'altitude augmente, la proportion de *Ctenocephalides felis* diminue significativement ($p < 0,005$) et celle de *Ctenocephalides canis* augmente (FRANC 1998c).

Chez le chat, aucune région climatique n'a pu mettre en évidence une prédominance d'espèce mais, comme chez le chien, deux des trois chats porteurs de *C. canis* vivent en zone de montagne (CADIERGUES 2000c).

Par conséquent, *C. felis* se retrouve sur tout le territoire alors que *C. canis* est essentiellement présente en altitude.

3.1.2. Influence du mode de vie de l'hôte

Chez le chien, l'infestation de *Ctenocephalides canis* est toujours concomitante à celle de *Ctenocephalides felis* et se révèle plus fréquente sur des chiens vivant à l'extérieur que sur ceux vivant à l'intérieur ($p < 0,001$) (FRANC 1998c).

Les chats vivant exclusivement à l'intérieur n'hébergent que *C. felis* alors que ceux qui chassent à l'extérieur peuvent héberger d'autres espèces (puces d'oiseaux, de hérissons, etc.) (CADIERGUES 2000c).

En conclusion, *C. felis* est l'espèce principale chez les carnivores vivant à l'intérieur des habitations.

3.2. Risques de contamination

3.2.1. D'un animal à l'autre

Des contacts simulés entre deux chats d'un même foyer ont démontré que les échanges de puces entre eux restent limités à 5 à 8% (RUST 1994).

Diverses simulations de risques de contamination entre chiens ont été étudiées lors de contacts rapprochés et en milieu restreint simulant un contact dans la rue ou la salle d'attente vétérinaire. Elles montrent que le passage de puces des chiens infestés vers les chiens sains reste limité (0 à 3 puces après 2 heures d'échange) (FRANC 1997a).

3.2.2. A partir de l'environnement

Lorsqu'un chien sain est introduit dans un local infesté (ex. fourrière, intrusion de l'animal dans une habitation vide d'animaux), il s'infeste à partir de l'environnement en contractant en moyenne 4,6 puces en 24 heures. Lorsqu'un chien sain est placé dans un foyer contaminé au milieu de 5 chiens infestés (21 puces en moyenne), il contracte à partir des chiens et de l'environnement, en moyenne 6,2 puces en 24 heures (FRANC 1997a).

Ces études démontrent que *C. felis* est sédentaire sur l'animal et que l'environnement de l'animal domestique est la principale source de contamination.

3.3. Sources de contamination à partir de l'environnement domestique

3.3.1. Répartition de la population de puces dans l'environnement

Dans les habitations chauffées en hiver, les conditions sont favorables à la réalisation du cycle de la puce durant toute l'année.

Seules les puces adultes qui émergent sont généralement visibles. Cependant, elles ne représentent que 5% de la population totale des différents stades parasitaires présents dans une habitation, soit la

« partie émergée de l'iceberg » (Figure 6). Les 95% restant se décomposent en œufs, larves et nymphes qui restent cachés dans les anfractuosités des habitations ou l'ameublement.

Les œufs représentent 50% à eux seuls. Ils sont produits en grand nombre et l'éclosion a lieu jusqu'au 10ème jour environ.

Le taux de larves est de 30%. Il englobe les trois stades larvaires qui durent jusqu'à 12 jours.

Les nymphes et adultes pré-émergés représentent 15%. Ils peuvent survivre à l'intérieur du cocon plusieurs mois dans l'attente d'un hôte.

La production abondante d'œufs et la survie des nymphes de longue durée assurent la pérennité de l'espèce dans le milieu extérieur.

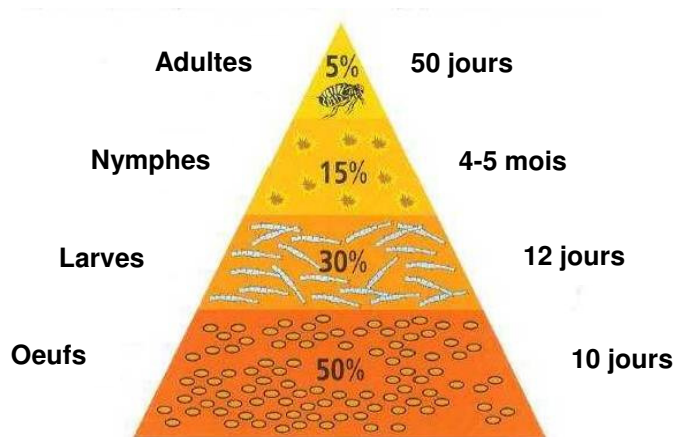


Figure 6 : Répartition et durée de vie moyenne des puces de l'habitat domestique (d'après Pierre JASMIN, VIRBAC)

3.3.2. Principaux types d'environnement contaminés par les puces

Les œufs tombant de l'animal domestique se retrouvent tout au long de son parcours sur le sol et le mobilier.

3.3.2.1. Lieux de couchage et de vie des animaux domestiques

La répartition spatiale des œufs et des exuvies larvaires ou des larves au sein d'un environnement domestique (Figure 7) montre que les œufs sont déposés préférentiellement sur les lieux de couchage de l'animal, c'est-à-dire, là où le chien et le chat passent le plus de temps (BYRON 1987, BECK 2004, KERN 1992).

Les œufs tombant du pelage lorsque les chats sautent du lit, on retrouve également une accumulation d'œufs au niveau de l'impact au sol (Figure 7).

Des fèces de puces sont retrouvées aux mêmes endroits que les œufs. Elles sont produites de façon continue et s'accumulent donc sur les lieux de repos de l'hôte.

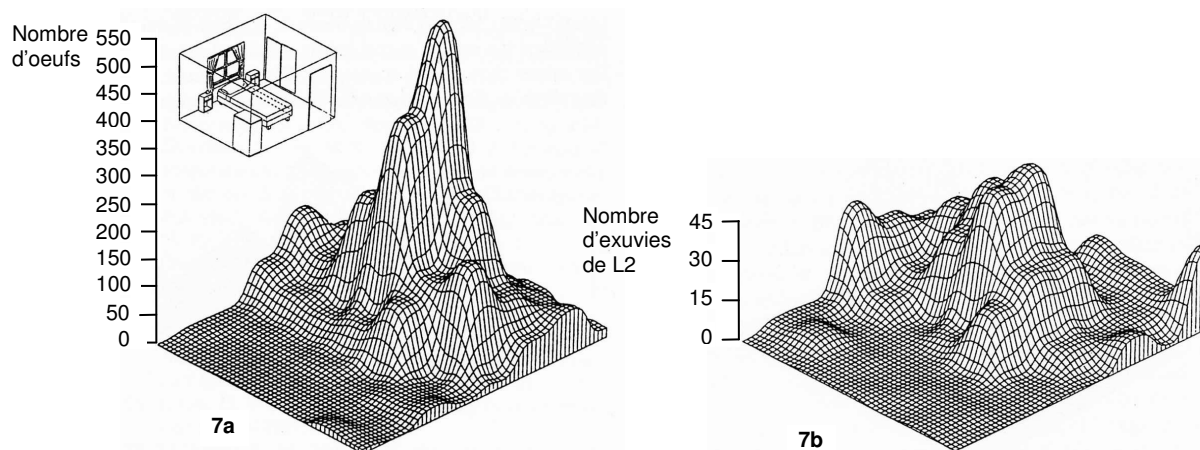


Figure 7 : Répartition et nombre d'œufs (7a) et d'exuvies de larves de premier stade et de deuxième stade (7b) de *Ctenocephalides felis*, issues de la moquette (ROBINSON 1995).

3.3.2.2. Lieux de passage des animaux domestiques

Sur les lieux de passage (par exemple, accès à la porte d'entrée), on trouve un plus grand nombre d'œufs non éclos et moins d'exuvies larvaires. Les œufs et les larves ne résistent pas au piétinement des hommes et des animaux.

Aux abords des fenêtres, lieux de couchage et de passage des animaux, il a été constaté que les œufs éclosaient moins sous l'exposition de la lumière du soleil filtrée par les vitres (BYRON 1987).

3.3.2.3. Types d'ameublement et de revêtement de sol

Les larves recherchant un environnement confiné vont s'enfouir dans la profondeur de la moquette, sous les coussins d'un canapé, dans les fentes d'un parquet non vitrifié, sous les plinthes, etc. Ces types d'ameublement et de revêtement sont de véritables « réservoirs à puces » dont la moquette est un des principaux.

La larve de puce passe plus de 80% de son temps à la base de la moquette (BYRON 1987).

Bien que les larves de deuxième stade se dispersent plus que celles de premier stade (Figure 7), les écarts de déplacement restent faibles et sont essentiellement dus à la recherche de nourriture (phénomène de compétition avec les larves de premier stade) (BYRON 1987).

Les larves trouvent dans la moquette des fèces de puce selon une recherche aléatoire.

Le type de moquette influence la répartition des puces dans l'épaisseur de celle-ci.

Dans une moquette bouclée en nylon, on trouve à sa base 59,2% de cocons, alors que dans une moquette bouclée en laine, on en retrouve 92,4% à sa base.

La moquette saxony^{*} a la plus forte moyenne d'émergence de puces ($31,0 \pm 2,3$), suivie par la moquette en laine bouclée ($26,0 \pm 1,0$), celle en nylon bouclé ($15,0 \pm 0,9$) puis par la moquette contract ($7,0 \pm 1,3$) ($p < 0,01$) (MILLER 2000).

^{*} Définitions des différents types de moquettes : voir glossaire

4. Rôles pathogènes de *Ctenocephalides felis*

La puce est à l'origine de nuisances (rôles pathogènes directs). De plus, elle est vectrice de maladies parasitaires et bactériennes (rôles pathogènes indirects).

4.1. Rôles pathogènes directs

4.1.1. Le toilettage et le grattage

Les puces sont source de démangeaisons pour l'hôte par leur présence et les piqûres qu'elles infligent lors des repas de sang. Les puces doublent la fréquence de toilettage et provoquent un grattage huit fois plus important (ECKSTEIN 2000). Lors du toilettage, un nombre important de puces peut être absorbées à l'origine de la transmission de *Dipylidium caninum* pour celles qui sont infestées (HINKLE 1998).

Un grattage important peut engendrer une gêne pour l'animal et des désagréments pour son maître. Motif fréquent de consultation, les propriétaires se plaignent de l'aspect non hygiénique de ce comportement et des nuisances sonores et esthétiques qu'il engendre.

4.1.2. La spoliation sanguine

La spoliation sanguine est fonction du sexe et des besoins physiologiques des puces.

Les mâles doivent d'abord se gorger avant de s'accoupler et les femelles ont besoin de sang pour produire leurs œufs (HSU 2001). Une femelle peut boire jusqu'à 15 fois son poids en sang. Une infestation de 100 femelles peut engendrer une spoliation de 0,1 ml de sang en moyenne en 3 heures (DRYDEN, 1991).

Lors d'infestations sévères, on peut observer une léthargie, une perte de poids, une déshydratation, et une anémie normochrome, normocytaire (ARAUJO 1998) qui peuvent devenir mortelles chez les jeunes (veaux et agneaux) (YERUHAM 1989).

4.1.3. La dermatite par allergie à la piqûre de puces (DAPP)

La salive de *Ctenocephalides felis*, est à l'origine d'une dermatite par allergie à la piqûre de puces (DAPP) relativement fréquente en consultation dermatologique. Le chien y est plus sensible que le chat. On observe une alopecie associée à une réaction allergique cutanée qui démarre en zone dorso-lombaire (MEDLEAU 2001). Une fois l'animal sensibilisé, une seule piqûre peut déclencher une réaction d'expression plus ou moins intense, souvent impressionnante et esthétiquement déplaisante pour le propriétaire de l'animal.

4.2. Rôles pathogènes indirects

4.2.1. Transmission d'helminthes

4.2.1.1. *Dipylidium caninum*

Ver plat, blanc, de la famille des cestodes, *Dipylidium caninum*, est transmis aux chiens et aux chats lorsqu'ils font leur toilette en ingérant des puces parasitées (HINAIDY 1991, WADE 1988). Des segments ovigères, ressemblant à des « grains de riz », sont excrétés par la suite aux marges de l'anus des carnivores. Les oeufs de *Dipylidium caninum* libérés dans le milieu extérieur sont alors ingérés par les larves de puce, détritivores.

La transmission de *Dipylidium caninum* à l'homme reste exceptionnelle.

4.2.1.2. *Acanthoceilanema reconditum*

Filaire qui siège dans le tissu périnéal du chien, *Acanthoceilanema reconditum* (anciennement *Dipelotanema reconditum*) est transmis par *C. felis*, *C. canis* et *Pulex irritans* (FRANC 1994).

4.2.2. Transmission de bactéries

4.2.2.1. *Rickettsia felis*

R. felis est transmise par *C. felis* (ROLAIN 2003, SHAW 2004), et provoque chez les chiens et les chats une fièvre aiguë (KENNY 2003).

La bactérie peut se maintenir chez la puce par transmission verticale pendant 12 générations sans intervention d'un hôte contaminé (WEDINCAMP 2002).

4.2.2.2. *Bartonella* spp.

C. felis, est le premier vecteur de bartonelles chez le chat. Elle est source d'infection à *Bartonella quintana*, *B. koehlerae*, *B. henselae*, et *B. clarridgeiae* (GURFIELD 2001, MELTER 2003, ROLAIN 2003, AL-MAJALI 2004).

La bartonellose est une zoonose qui se transmet le plus souvent aux personnes immunodéprimées atteintes du HIV, par griffades de chats mais qui peut aussi s'attraper par piqûre de puces (BERNIT 2003).

CONCLUSION

La puce, *Ctenocephalides felis*, a supplanté *C. canis* qui est une espèce à spécificité écologique assez stricte parasite des canidés selvatiques et du chien aux conditions de vie proches : chiens de ferme, chiens de berger, chiens de meute (BEAUCOURNU 1998).

C. felis a une biologie propice à son développement dans nos habitations chauffées. Elle est donc la puce principale qui parasite nos chats (97,9%) et nos chiens (86,6%) via notre environnement domestique. 95% de la population totale de puces vit caché dans l'ameublement douillet et les anfractuosités de la maison où les larves se développent à l'abri. Les lieux principaux de contamination pour les animaux correspondent aux lieux habituels de couchage.

Comme les puces sont responsables de nuisances et qu'elles sont vectrices de maladies pour l'animal et l'homme, la lutte contre les puces est une problématique majeure qui implique le contrôle de l'environnement.

CHAPITRE 2

La lutte contre les puces dans l'environnement

1. Présentation de la lutte dans l'environnement

1.1. Principe

La lutte anti-puce dans l'environnement consiste :

- En une action curative : élimination immédiate des puces adultes et interruption du développement des oeufs et larves présents dans l'habitat,
- En une action préventive : rémanence des principes actifs évitant une nouvelle prolifération de puces via l'environnement contaminé.

Le traitement est à base :

- d'un insecticide contre les puces,
- d'un régulateur de croissance des insectes ou Insect Growth Regulator (IGR) agissant sur les œufs et les larves.

Ces molécules rémanentes agissent par contact.

Les motifs les plus fréquents de traitement sont :

- la lutte contre l'émergence des puces issues de l'environnement se produisant de façon massive et simultanée (exemple, visite d'une pièce restée longtemps inoccupée). Il en résulte souvent de nombreuses piqûres des animaux et des jambes des personnes qui y pénètrent (Figure 8).



Figure 8 : Jambe d'homme piquée par des puces (d'après [48])

- La limitation du risque de piqûre de puce en cas de DAPP chez un animal.

La lutte dans l'environnement s'intègre dans un plan de lutte général contre les puces.

1.2. Intérêts

1.2.1. Par rapport aux puces

1.2.1.1. Réduction des rôles pathogènes des puces

Le prurit, la DAPP, la transmission de *Dipylidium caninum* chez le chien et le chat et les piqûres de puces aux hommes sont des motifs fréquents de lutte contre les puces. Dans ces cas, le vétérinaire doit mettre en place une lutte intégrée efficace qui nécessite un traitement de l'environnement.

1.2.1.2. Action sur l'ensemble du cycle de la puce

Le traitement de l'environnement cible l'ensemble des stades du cycle de vie de la puce : à la fois les adultes et à la fois les stades évolutifs à l'origine des futures générations de puces.

Action sur les adultes

L'insecticide permet de lutter efficacement contre les puces adultes présentes dans l'environnement mais non contre les adultes pré-émergés dans leur cocon (RUST 1989). La perméthrine n'est également que partiellement active sur les pupes dans une moquette bouclée en laine (69,2% à 254 mg/m²) (MILLER 2000).

Action sur les stades juvéniles

Les IGR ou régulateurs de croissance des insectes agissent selon le type sur les œufs et/ou les larves. Diverses familles d'IGR existent dont les analogues de l'hormone juvénile et les inhibiteurs de paroi des insectes (BEUGNET 2004).

1.2.1.3. Diminution des résistances

L'association de l'insecticide et de l'IGR diminue le risque de résistance des puces en couplant deux principes actifs de nature et de mode d'action différents.

L'utilisation unique de la perméthrine a montré ses limites depuis plusieurs années déjà par l'absence d'action sur les œufs et les pupes et, par les résistances qui se sont développées chez les puces. Des résistances sont apparues sur certaines souches américaines de *Ctenocephalides felis*, la souche « Florida » (LEMKE 1989), et la souche « Cottontail » (BARDT 1997, BASS 2004).

1.2.1.4. Effet précoce de réduction de la population de puces

L'environnement traité avec un analogue de l'hormone juvénile (Insect Growth Regulator) a un nombre décroissant de puces dès 14 jours (DONAHUE 1992). Il agit uniquement sur les œufs et les larves de stade III. Des puces issues des nymphes continuent à émerger les premiers jours après traitement. Cette période pendant laquelle l'IGR n'a pas d'effet visible est appelée la « fenêtre pupale » (DRYDEN 1995).

L'animal traité avec un analogue de l'hormone juvénile (IGR) voit sa population de puces diminuer de façon significative à partir de 7 semaines (DONAHUE 1992, FRANC ET CADIERGUES 1995, SHIPSTONE 1995).

1.2.2. Par rapport aux propriétaires

1.2.2.1. Sensibilisation du propriétaire

Les propriétaires d'animaux pensent souvent à tort que les animaux se transmettent les puces d'un animal à l'autre. Ils sous-estiment et souvent méconnaissent le mode principal de contamination par l'environnement.

L'intérêt d'expliquer le cycle de la puce et sa lutte permet d'aborder la question du mode d'action des produits et leurs causes d'échecs. Par exemple, l'émergence de puces pendant la fenêtre pupale n'est pas due à un échec du traitement mais au fait que les IGR et les insecticides ne sont pas actifs sur les pupes.

1.2.2.2. Limitation des traitements de l'environnement

A l'intérieur des habitations chauffées en hiver, les puces s'y développent toute l'année.

La rémanence de très longue durée des IGR (4 à 6 mois) (cf. Annexe 1) s'avère très intéressante car elle limite le renouvellement fréquent des traitements. Ceci est particulièrement avantageux pour les manipulateurs du fait des conditions contraignantes du traitement.

1.3. Conditions d'application du traitement

Le traitement doit être appliqué uniquement dans les lieux et pièces fréquentés par les animaux.

1.3.1. Mesures générales d'hygiène

L'application du traitement passe en premier lieu par l'aspiration et le nettoyage des surfaces à traiter.

L'aspirateur doit être passé avec minutie afin d'aspirer le maximum d'œufs et de larves. Les études ont démontré que l'aspirateur peut enlever plus de 90% d'œufs logés dans une moquette et 15 à 27% de larves (BYRON 1987). L'aspiration d'une moquette traitée à la perméthrine à sa base réduit significativement ($p < 0,05$) l'émergence des puces par rapport à une moquette non traitée chimiquement ou physiquement (MILLER 2000).

Il faut insister sur les lieux de couchage des animaux de la famille : les couvertures, les niches, sans oublier de passer sur et sous les lits et les descentes de lit, les canapés, sous les meubles et derrière le réfrigérateur où les chats aiment dormir (milieu chaud et humide où se trouvent souvent des débris alimentaires) ainsi que les banquettes de voiture.

Le lavage des couvertures et tissus d'ameublement (housses de canapé, etc.) sur lesquels se couchent les animaux est conseillée (WARREN 1986, MACDONALD 1995).

1.3.2. Application du traitement

Dans le cas d'un traitement global de la pièce, le produit doit être appliqué de façon homogène en respectant le mode d'emploi (hauteur, durée de vaporisation) afin de garantir une concentration

minimale, efficace en principes actifs. Il est conseillé de déplacer les meubles pour pulvériser l'ensemble du sol (BYRON 1987) et d'insister sur les tapis et les plinthes.

1.3.3. Précautions d'usage

Par mesure de précautions pour l'opérateur, le port de gants et de masque est recommandé.

La pièce doit être maintenue close pendant au minimum 30 minutes puis doit être aérée.

Les animaux, et plus particulièrement, les oiseaux, les poissons et les reptiles doivent être éloignés ou protégés. Il est recommandé que les reptiles ne pénètrent pas les pièces traitées pendant les 3 premières semaines suivant la vaporisation [47]. Les aquariums et terrariums sont couverts. Les insectes d'élevage en vivarium sont exclus des pièces traitées.

1.4. Causes des échecs des traitements de l'environnement

Les échecs constatés dans la lutte environnementale sont associés à plusieurs facteurs.

1.4.1. Diffusion variable des principes actifs

La variation de la diffusion des produits dépend du type et de la nature du support traité ce qui engendre des difficultés à atteindre les stades juvéniles.

1.4.1.1. Type du support

Exemple de la moquette

Le type de moquette influence les résultats d'efficacité des insecticides. La moquette en nylon bouclée traitée à la perméthrine (254 [Al]mg/m²) prévient moins le développement nymphal (40,9 ± 7,9%) qu'une moquette en nylon saxony traitée (66,2 ± 9,7%) (MILLER 2000).

Les différents types de textiles de moquette influencent la pénétration des insecticides. Le coton et la laine laissent moins pénétrer les insecticides en profondeur que les matières synthétiques (SALEH 1998).

L'épaisseur de la moquette joue également un rôle dans la pénétration des produits. Plus la moquette est épaisse, moins le produit pénètre en profondeur. 93% de l'aérosol ne pénètre qu'au tiers supérieur d'une moquette de 18mm d'épaisseur. La pression de l'aérosol doit être adaptée à la hauteur par rapport au sol pour une pénétration optimale (BYRON 1987). Cependant, les variations de pression d'application de l'aérosol de 1,7 à 1,0 kg/cm² n'influencent pas de façon significative la mortalité des pupes (MILLER 2000). Cela peut s'expliquer de la manière suivante.

Lors d'un traitement curatif, les œufs immobiles et enchâssés dans les brins de moquette sont peu accessibles aux principes actifs. Mais les larves mobiles passant 80% de leur temps à la base de la moquette (BYRON 1987) finissent par entrer en contact avec des brins de moquette traités.

Lors d'un traitement préventif, les œufs tombent sur des brins de moquette traitée et entrent en contact avec les molécules actives.

Exemple du bois

Lors de l'aspersion d'un parquet non vitrifié ou de plinthes, la pénétration des principes actifs dépend de la largeur et de la profondeur des fentes et des turbulences occasionnées par la pulvérisation d'un aérosol.

1.4.1.2. Nature du support

La nature même du support (nylon, coton, laine, bois) influence l'efficacité des principes actifs : taux de pénétration et de diffusion des molécules, temps de contact avec les parasites (SALEH 1998, MILLER 2000). La perméthrine (254 [AI]mg/m^2) prévient $40,9 \pm 7,9\%$ du développement nymphal dans une moquette bouclée en nylon et $69,2 \pm 10,0\%$ dans une moquette bouclée en laine (MILLER 2000).

1.4.2. Motivation des propriétaires d'animaux

Le manque d'investissement de la part des propriétaires dans la lutte intégrée (WARREN 1986, MACDONALD 1995) repose sur plusieurs raisons :

- Le coût financier du traitement à maintenir au long court : sur l'animal et dans l'environnement
- La méconnaissance des modalités des différents traitements : mode d'action des principes actifs, fenêtre pupale
- Toutes les erreurs de contamination commises par mésinformation ou inadvertance :
 - ✓ l'introduction dans l'habitat sain d'un animal extérieur au foyer et infesté de puces.
 - ✓ l'introduction d'un animal d'un foyer sain dans un milieu contaminé puis réintroduit chez soi.

Cette mauvaise observance entraîne de nombreuses insatisfactions de la part des propriétaires qui ne maîtrisent pas toujours l'ensemble du cycle évolutif de la puce et les critères d'efficacité des traitements anti-puce.

2. Etude des principes actifs utilisés dans les essais expérimentaux

L'étude des principes actifs permet de mieux comprendre les caractéristiques des produits commercialisés (efficacité, rémanence, mode d'emploi, précautions d'usage) et aide à l'interprétation et l'analyse des résultats issus des essais et réalisés à partir de ces molécules.

2.1. Un insecticide : la perméthrine

2.1.1. Structure, propriétés physiques et chimiques

Utilisées depuis l'antiquité pour leur activité insecticide, les pyréthrine naturelles sont des composés extraits de la fleur du pyrèthre de Dalmatie (*Chrysanthemum cinerariaefolium*). Ces molécules sont des esters de l'acide chrysanthémique (pyréthrine I, jasmoline I et cinérine I) et des esters de l'acide pyréthrique (pyréthrine II, jasmoline II et cinérine II).

Les pyréthrinoïdes sont des composés organiques de synthèse, dérivés de l'acide chrysanthémique, apparus dès les années 1950. Les pyréthrinoïdes se composent d'esters lipophiles d'acides cyclopropaniques. La première génération de pyréthrinoïdes regroupe des molécules sensibles à l'oxydation à cause du noyau cyclopropane. Les pyréthrinoïdes de deuxième génération, apparus dans les années 1970, se caractérisent par leur photostabilité (HASCOET 1978, BEUGNET 2004).

La perméthrine, premier pyréthrinoïde photostable, appartient aux pyréthrinoïdes de deuxième génération. D'abord utilisée dans l'industrie phytosanitaire, elle entre aujourd'hui dans la composition de nombreux produits vétérinaires.

Tableau 2 : Classification des pyréthrinoïdes (LARHANTEC 2003)

Famille	Propriétés	Composés
Pyréthrinoïdes de 1 ^{ère} génération	instables	Alléthrine, Tétraméthrine, Resmétrine, etc.
Pyréthrinoïdes de 2 ^{ème} génération	photostables	Perméthrine, Cyperméthrine, Fenvalérate, Deltaméthrine, Fluméthrine, etc.

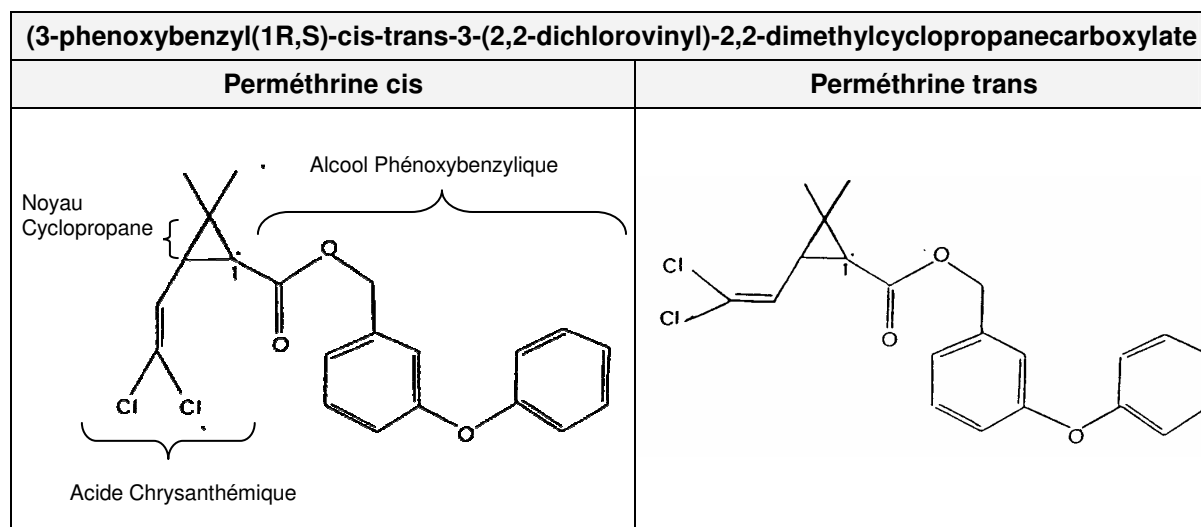
La perméthrine se présente sous la forme de cristaux incolores à température ambiante se changeant en un pâle liquide jaune, visqueux, huileux, fortement odorant et volatil (BEUGNET 2004, BICHAT-SETA 2002, WOUTERS 1978, [115]).

La perméthrine est particulièrement liposoluble. La liposolubilité conditionne la pénétration au travers de la cuticule, l'affinité pour les tissus riches en lipides, tels que le système nerveux, le foie et le tissu adipeux.

L'absence du groupement α -cyano de la perméthrine est à l'origine de sa photostabilité. Sa durée de vie dans le milieu extérieur s'en trouve allongée de plusieurs semaines par rapport aux pyréthrinoïdes instables (UEDA 1974). Cependant, l'isomère trans est plus sensible à l'hydrolyse que l'isomère cis à l'origine d'une dégradation rapide dans l'environnement. La perméthrine a un temps de demi-vie de 28 jours dans le sol et de 10 jours sur les plantes [116].

La perméthrine compte 2 isomères toxiques, (1R, cis) et (1R, trans) (Figure 9). L'isomère cis a une activité insecticide plus importante que l'isomère trans. Le ratio cis/trans 25/75 est utilisé préférentiellement sur les animaux et leur habitat. Les ratios 40/60 et 80/20 sont utilisés surtout sur les plantes [115].

Figure 9 : Structure des isomères de la noirâtre (d'après BICHAT-SETA 2002)



2.1.2. Mode d'action

Le mode d'action par contact est la voie d'intoxication principale. L'intoxication par ingestion est également possible. Les pyréthrinoïdes pénètrent de façon passive à travers la cuticule des insectes. Les insectes reçoivent la dose toxique maximale par les chimiorécepteurs externes des pattes. Le contact entre l'insecte et le principe actif est déterminant dans la dose absorbée et donc dans l'effet induit (ZERBA 1988).

On distingue les pyréthrinoïdes de type I et de type II en fonction de leur mode d'action.

Les pyréthrinoïdes agissent sur le système nerveux des invertébrés en ralentissant la transmission de l'influx nerveux au niveau de la membrane axonique ou en bloquant la fermeture des canaux sodiques par inhibition de diverses enzymes (cytochrome oxydase). Il en résulte une hyperpolarisation des membranes neuronales (potentiels d'action exacerbés) définissant le type I ou une dépolarisation avec les pyréthrinoïdes de type II.

2.1.3. Effets insecticides

L'activité insecticide de la perméthrine se manifeste selon quatre effets, du moins toxique vers le plus toxique :

1. **Effet répulsif** : l'insecte perçoit un gradient croissant d'insecticide volatil (huileux, d'origine végétale) qui le pousse à éviter la substance (FRANC 1998a, BICHAT-SETA 2002).
2. **Effet anti-gorgement** : capacité d'un produit à empêcher la puce de piquer l'hôte, bloquant ainsi toute transmission d'agents pathogènes et toute réaction allergique (FRANC 1998b).

3. **Effet knock-down** : capacité du principe actif à provoquer très rapidement une incoordination et une instabilité locomotrice empêchant ainsi la piqûre et faisant tomber la puce de l'animal.
4. **Effet léthal** : les pyréthri-noïdes à forte concentration provoquent une hyperexcitation, des trémulations et des convulsions, engendrant une paralysie. Selon la concentration et la persistance du contact avec le toxique, la paralysie est réversible ou bien conduit à la mort (WOUTERS 1978).

La perméthrine appartient aux pyréthri-noïdes de type I provoquant principalement un effet léthal.

2.1.4. Efficacité

La concentration efficace de la perméthrine sur les puces dépend du support sur laquelle elle est appliquée.

Tableau 3 : Toxicité de la perméthrine sur les puces

Support	Conditions	Concentration	Auteurs
Verre	CL50	0,927 mg[Al]/m ²	BOSSARD 2002
Papier filtre	CL50	214 mg[Al]/m ²	BOSSARD 2002
		23 mg[Al]/m ²	FRANC 1997b
Moquette nylon	DL90 après 21j de contact	255 mg/m ²	RUST 1988

2.1.5. Toxicité chez les mammifères

La perméthrine pénètre dans l'organisme par ingestion, inhalation et par voie cutanée. La toxicité pour les mammifères est relativement faible car les composés sont rapidement métabolisés dans l'organisme (GREEK 1991). Leur action est similaire à celle des insectes sur le système nerveux.

Les chiens ont principalement des réactions cutanées au point d'application des pipettes à base de perméthrine mais peuvent présenter des cas d'intoxication aiguë lors de surdosage.

Les chats, et particulièrement les chatons, sont plus sensibles que les chiens (Tableau 4) et sont l'espèce majoritaire dans les cas d'intoxication à la perméthrine. Ils ont un déficit en glucuronyl-transférase, enzyme intervenant dans le métabolisme de glucurono-conjugaison de la perméthrine. (RICHARDSON 2000). L'hypothèse génétique est également avancée car il existe des variations importantes de réactions d'un chat à l'autre (source : Centre National d'Information Toxicologique Vétérinaire de Lyon).

Le tableau clinique d'intoxication à la perméthrine débute au bout de quelques heures mais peut être différé de 72 heures et durer jusqu'à 2-3 jours. Les signes cliniques sont une hyperthermie, une mydriase, une salivation, une hyperesthésie, une démarche d'ébriété, une incoordination motrice, des trémulations musculaires et des convulsions cloniques (RICHARDSON 2000, BICHAT-SETA 2002) pouvant aboutir à la mort. En l'absence d'antidote, le traitement est uniquement symptomatique.

Le nombre de cas d'intoxication à la perméthrine est en augmentation depuis les années 90 suite à un nombre croissant de notifications obligatoires depuis 2001, à l'augmentation des spécialités à base de

perméthrine et à la multiplication des formulations en pipettes. L'intoxication à la perméthrine est désormais le premier cas de notification en terme de pharmacovigilance (source : Centre National d'Information Toxicologique Vétérinaire de Lyon). La mauvaise utilisation des produits à base de perméthrine par les propriétaires par manque d'informations et de connaissance sur le risque toxique chez le chat est la principale cause d'intoxication. Considérant que la perméthrine n'est inscrite sur aucune liste de substances vénéneuses et que, par conséquent, les antiparasitaires externes sont en vente libre, la commission nationale de pharmacovigilance vétérinaire recommande diverses mesures pour une meilleure information du grand public sur le risque toxique chez le chat et sur la conduite à tenir en cas d'intoxication [27].

Chez l'Homme, la perméthrine est allergisante provoquant des allergies respiratoires et cutanées. On peut observer une rhinite vasomotrice, de l'asthme, une alvéolite allergique extrinsèque, et une dermatite de contact.

En cas d'intoxication aiguë massive, des troubles neurologiques peuvent survenir : paresthésies, troubles de conscience, convulsions, excitation, nausées, vertiges, migraines, transpiration, états de panique. Des douleurs rhumatoïdes, du strabisme, des symptômes asthmatiques peuvent persister plus longtemps.

Des symptômes chroniques après intoxication aux pyréthrinoïdes ont été rapportés, dont des désordres cérébraux et locomoteurs (engourdissement, paresthésie, démangeaisons, brûlures), une polyneuropathie (KAKKO 2003, KAKKO 2004) et une immunosuppression (SURRELLES 1995). La perméthrine peut induire, chez les travailleurs exposés de façon répétée et à de fortes doses, des allergies cutanées et une paresthésie qui se développent après une période de latence d'environ 30mn, avec un pic à 8h et disparaît dans les 24h (MITSCHKE 2000, [116]).

La dose journalière acceptable fixée par la FAO/OMS s'élève à 0,05 mg/kg de poids corporel.

Le Federal Health Office luxembourgeois a proposé, en 1992, la valeur maximale tolérable dans la poussière de 1 mg/kg (KUSKE 2000).

La perméthrine est déclarée non mutagène, non cancérigène et non tératogène (TOMLIN 1997). Elle n'a aucune action agoniste ou antagoniste oestrogénique ou progestéronique (GAREY 1998, SUMIDA 2001).

Tableau 4 : Toxicité de la perméthrine racémique (cis/trans : 50/50) chez les mammifères (TOMLIN 1997, [115, 116])

Rat			Lapin	Chien	Chat
DL50 orale	DL50 percutanée	CL50 inhalation (3h)	Peau et Yeux	DL50 orale	Perméthrine 1% (pulvérisation 5-6s)
430 mg/kg	>2500 mg/kg	>685 mg/m ³ air	Moyennement irritant	500 mg/kg	50 mg/kg

2.1.6. Ecotoxicité

Les pyréthrinoïdes, plus stables que les pyréthrines et moins toxiques que les autres insecticides phytosanitaires (organochlorés, organophosphorés et carbamates), sont utilisés préférentiellement pour la lutte anti-puce dans nos habitations.

La rémanence des pyréthrinoïdes est brève de manière générale : dans le sol, 5 à 6 semaines, sur les végétaux, 1 à 2 semaines (METZGER 1996b).

La perméthrine est toxique pour tous les insectes, très toxique pour les poissons, et les animaux à sang froid. Par contre, elle est très peu toxique pour les oiseaux (TOMLIN 1997). Enfin, la perméthrine est toxique envers certains groupes aquatiques invertébrés comme les larves d'amphibiens, les insectes aquatiques et les crustacées (Tableau 5). Néanmoins, à cause de la faible rémanence de la perméthrine, la plupart des populations récupèrent rapidement. De plus, aucune bioaccumulation n'a été constatée.

Tableau 5 : Ecotoxicité de la perméthrine (TOMLIN 1997, Permethrin n°51)

Daphnée	Abeille	Truite arc-en-ciel	Poulet	Canard mulard
CL50 (48h)	DL50 topique	DL50 orale	DL50 orale	DL50 orale
0,6 10 ⁻³ mg/l	0,029 10 ⁻³ mg/abeille	0,005 mg/l (48h)	3000 mg/kg (cis/trans : 40/60)	11 275mg/kg

Les précautions d'usage lors du traitement des pièces par les aérosols à base de perméthrine concernant l'éloignement des animaux et des personnes doivent donc être respectées.

2.2. Les régulateurs de croissance des insectes

Les régulateurs de croissance des insectes, ou Insect Growth Regulators (IGR), sont une catégorie d'agents de contrôle des insectes apparue dans les années 1980. Ils constituent un groupe de composés chimiques qui ne tuent pas leur cible directement mais interfèrent dans leur développement (TAYLOR 2001). Dans ce groupe, se trouvent les analogues de l'hormone juvénile et les inhibiteurs de paroi présents dans les « bombes aérosols » de nos essais.

2.2.1. Les analogues de l'hormone juvénile : le pyriproxifène (INDOREX®) et le méthoprène (ACCLAIM®)

Le pyriproxifène et le méthoprène sont des analogues de l'hormone juvénile ou juvénoïdes qui sont les premiers IGR à avoir été développés. Ils agissent principalement par contact sur les larves de troisième stade.

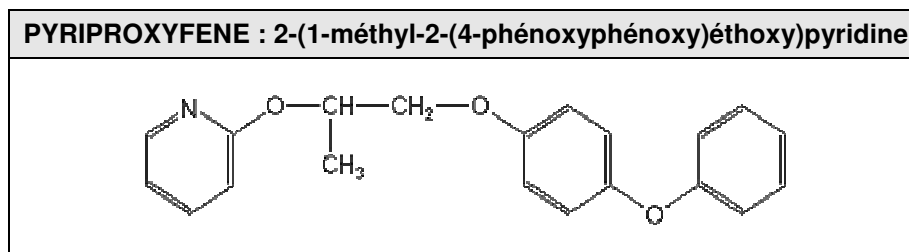
2.2.1.1. Le pyriproxifène

2.2.1.1.1. Structure, propriétés physiques et chimiques

Le pyriproxifène est un dérivé de la pyridine (Figure 10). Il se présente sous la forme de cristaux incolores qui se dissolvent dans les solvants organiques (hexane, méthanol, xylène) (TOMLIN 1997, ROBERTS 1999).

Il se caractérise pour sa grande photostabilité et une rémanence de longue durée. Son temps de demi-vie est de 200 jours en milieu extérieur.

Figure 10 : Structure chimique du Pyriproxifène [118]



Le pyriproxifène, comme tous les juvénoïdes, est presque identique structurellement à l'hormone juvénile. Il se fixe sur ses récepteurs signalant à la larve de se maintenir à l'état présent et il empêche ainsi la mue de s'opérer.

2.2.1.1.2. Modes d'action

Les analogues de l'hormone juvénile touchent leurs cibles soit après ingestion par la puce (MEOLA 2000), soit par contact. Lorsqu'ils agissent par contact avec les œufs, les larves ou les puces, ils traversent directement la cuticule (STANNECK 2002a, ROSS 1997, JACOBS 1996).

Activité ovicide

Premièrement, le pyriproxifène supprime la vitellogenèse de l'œuf.

Deuxièmement, la formation du blastomère est incomplète et est à l'origine de l'arrêt du développement embryonnaire (MEOLA 1993b).

Une étude démontre que la quantité d'œufs produits par des puces sous pyriproxifène ne varie pas (STANNECK 2002a). Pourtant, le pyriproxifène comme le méthoprène ont une action indirecte sur la reproduction en bloquant le transfert de sperme et son dépôt dans la spermathèque de la femelle (DEAN 1997).

Activité larvicide

Le pyriproxifène possède principalement une activité larvicide. Il inhibe la troisième mue larvaire ce qui conduit à la formation de larves géantes, molles et non viables. La formation des nymphes et des adultes est ainsi interrompue (BEUGNET 2004, FRANC 1998a, GRAF 1999, WUCHER 1994, MILLER 1999).

Activité adulticide

L'activité adulticide rapportée en 1993 (MEOLA 1993a) n'a jamais pu être confirmée par d'autres études plus récentes (MEOLA 2000, STANNECK 2002a).

2.2.1.1.3. Efficacité

Activité ovicide

Des œufs, âgés de moins de 24h, et déposés sur un papier filtre imprégné de pyriproxifène à la concentration 0,01 mg/m² sont totalement inhibés (STANNECK 2002b). Cependant, leur sensibilité au pyriproxifène décroît avec leur avancée en âge (MEOLA 1993a).

Les mêmes effets sont observés sur les œufs lorsque les puces s'imprègnent de pyriproxifène par contact avec des poils traités ou que les puces ingèrent du produit lors de leur repas de sang (STANNECK 2002a, STANNECK 2003, ROSS 1997, JACOBS 1996, MEOLA 2000).

Activité larvicide

La concentration efficace du pyriproxifène pour inhiber la mue des larves L3 de la puce dépend de la nature du support.

Tableau 6 : Capacité du pyriproxifène à inhiber la larve L3 de *C. felis*

Support	Conditions	Concentration	Auteur
Substrat de verre	CL50	0,008 mg/m ²	MILLER 1999
Papier filtre		0,010 mg/m ²	STANNECK 2002b
Fèces de puces	Puces nourries au sang traité	10ppm	MEOLA 2000
Moquette	Rémanence 12 mois	0,2 mg/m ²	KAWADA 1996
Terre	CL50	0,028 ppm	RAJAPAKSE 2002

2.2.1.1.4. Toxicité chez les mammifères

Chez les mammifères, le pyriproxifène est faiblement toxique, non tératogène et non mutagène (TOMLIN 1997).

La substance peut avoir des effets cytotoxiques chez les mammifères uniquement à forte dose. Dans ce cas, on observe des troubles hématologiques, hépatiques résultant d'une anémie, d'un dysfonctionnement et de lésions tissulaires (BAYOUMI 2003, [119]).

Tableau 7 : Toxicité du pyriproxifène chez les mammifères (TOMLIN 1997, [120])

Rat			Lapin	Chien
DL50 orale	DL50 percutanée	CL50 inhalation (4h)	Peau et Yeux	DL50 orale
> 5000 mg/kg	> 2000 mg/kg	> 1300 mg/m ³	Non irritant	> 5000 mg/kg

2.2.1.1.5. Ecotoxicité [119]

Le pyriproxifène est très toxique pour le milieu aquatique (MU 2004, TRAYLER 1996). Il peut alors occasionner des effets à long terme et est à l'origine d'une bioaccumulation dans la chaîne alimentaire.

La rémanence du pyriproxifène contre les puces dans le sol est de 63 jours à 64,56 mg[Al]/m² (RAJAPAKSE 2002). Néanmoins, le pyriproxifène est rapidement dégradé par une variété d'organismes dans la terre (ROBERTS 1999).

2.2.1.2. Le méthoprène

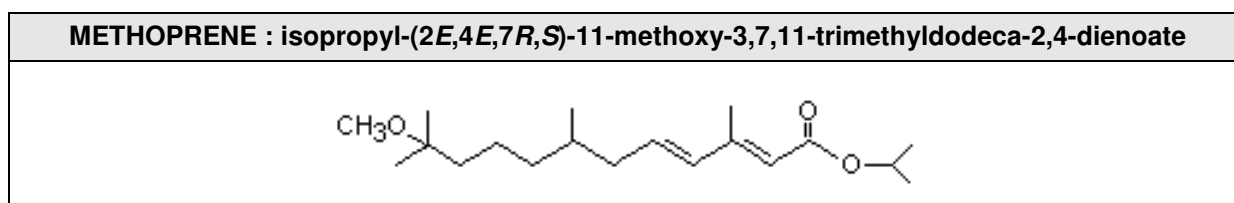
2.2.1.2.1. Structure, propriétés physiques et chimiques

Le méthoprène est un dérivé de l'acide dodécanoïque (WUNCHEER 1994). Il se compose d'un mélange racémique de deux énantiomères (R, S) dont seul l'énantiomère S a une activité analogue à l'hormone juvénile (Figure 11).

C'est un liquide de couleur ambre, miscible avec la plupart des solvants organiques. Il est stable dans l'eau et les solvants organiques mais est sensible aux rayons U.V. (TOMLIN 1997, ROBERTS 1999). Cela en fait un composé moins rémanent que le pyriproxifène.

Son temps de demi-vie est de 10 jours dans le sol, 1 à 2 jours sur les plantes et, moins d'1 jour dans l'eau s'il est exposé à la lumière et plus de 4 semaines dans l'obscurité [103].

Figure 11 : Structure chimique du Méthoprène [104]



2.2.1.2.2. Modes d'action

Le méthoprène appartenant aux analogues de l'hormone juvénile a le même type de mode d'action que le pyriproxifène excepté quelques différences concernant l'activité ovicide.

Activité ovicide

Premièrement, contrairement, au pyriproxifène, le méthoprène n'a pas d'action sur la vitellogenèse. Il inhibe uniquement l'éclosion des œufs en bloquant l'embryogenèse.

Deuxièmement, la plupart des oeufs de couleur sombre issus de puces imprégnées de méthoprène n'éclosent pas car ils contiennent une larve morte. Si toutefois des œufs arrivent à éclore, la larve qu'ils contiennent meurt dans les deux jours (MEOLA 1993b).

2.2.1.2.3. Efficacité

Activité ovicide

De nombreuses études cliniques sur animaux traités par colliers, sprays ou spots-on confirment l'arrêt de développement des œufs issus de puces imprégnées. Il en résulte une réduction de la population de puces dans l'environnement et/ou sur l'animal. (MASKIELL 1995, DONAHUE 1992, DONAHUE 1996, HUTCHINSON 1998, YOUNG 2004)

Activité larvicide

Le méthoprène a une efficacité contre les larves de L3 qui varie en fonction du support de traitement.

Tableau 8 : Capacité du méthoprène à inhiber la larve L3 chez *C. felis*

Support	Caractéristiques	Concentration	Auteur
Substrat de verre	CL50	0,011 mg/m ²	MILLER 1999
Milieu d'élevage	CL50	0,098 ppm	EL GAZZAR 1986
Moquette	Rémanence 6 mois	0,2 mg/m ²	KAWADA 1996
Terre	CL 50	0,643 ppm	RAJAPAKSE 2002

2.2.1.2.4. Toxicité chez les mammifères

Chez les mammifères, le méthoprène est très peu toxique, non tératogène, non mutagène et non cancérigène [102].

Tableau 9 : Toxicité du méthoprène chez les mammifères (TOMLIN 1997, [102])

Rat			Lapin	Chien
DL50 orale	DL50 percutanée	CL50 inhalation (4h)	Peau et Yeux	DL50 orale
> 34 600 mg/kg	>2000 mg/kg	> 210 mg/l	Non irritant	> 5000 mg/kg

2.2.1.2.5. Ecotoxicité

Le méthoprène ne résiste pas longtemps dans le milieu extérieur, étant dégradé par les UV (TOMLIN 1997). Sa rémanence contre les puces dans le sol, comparée au pyriproxifène, est plus courte à même concentration : 42 jours à 64,56 mg [AI]/m² (RAJAPAKSE 2002).

Le méthoprène est actif sur certaines espèces d'arthropodes non ciblés, aquatiques, (GHEKIERE 2006, VRESLYCKE 2004) et, terrestres (CAMPICHE 2005).

Par contre, il est très peu toxique pour les poissons et les oiseaux.

Tableau 10 : Ecotoxicité du méthoprène (TOMLIN 1997)

Truite	Poulet
CL50 (96h)	CL50 (8jours de repas)
4,4 mg/l	> 4640 mg/kg

2.2.2. Les inhibiteurs de paroi : le flufénoxuron (TIQUANIS HABITAT®) et la cyromazine (STAYKIL®)

Le flufénoxuron et la cyromazine sont deux inhibiteurs de paroi des insectes. Ils agissent par contact sur le métabolisme de la chitine, protéine spécifique de l'exosquelette (cuticule) des arthropodes. Ils bloquent essentiellement le développement des larves de puces.

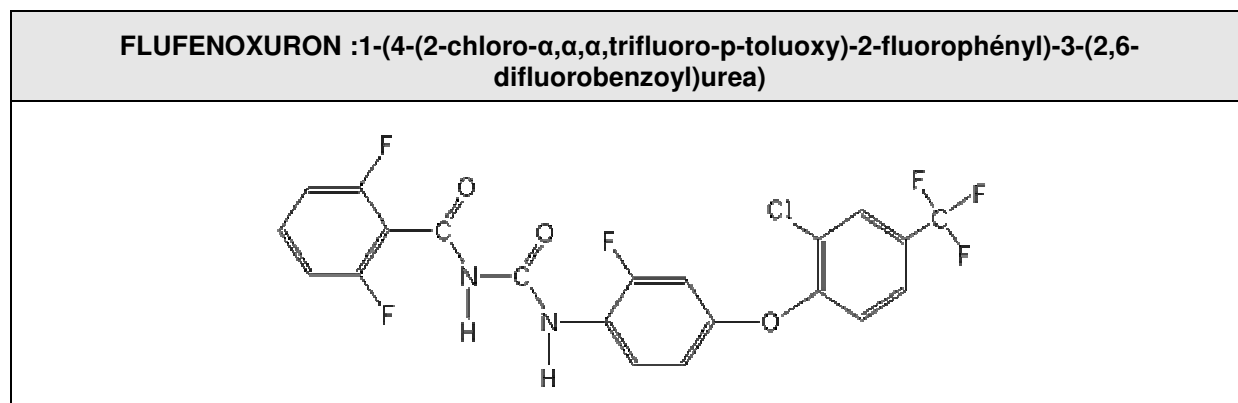
2.2.2.1. Le flufénoxuron

2.2.2.1.1. Structure, propriétés physiques et chimiques

Le flufénoxuron appartient à la famille des benzoylphénylurées (Figure 12). Il a la forme d'un solide cristallin, incolore et inodore qui se transforme en un liquide jaune clair sous pression. Il se dissout facilement dans les solvants organiques (ROBERTS 1999) et est miscible à l'eau.

Il a une bonne stabilité dans l'eau et résiste bien à la lumière (>100h sur du verre en lumière naturelle simulée). Il n'est pas sensible à la chaleur (≤ 190 °C) (TOMLIN 1997).

Figure 12 : Structure chimique du Flufénoxuron [50]



2.2.2.1.2. Mode d'action

Le flufénoxuron comme le lufénuron sont des inhibiteurs de synthèse de chitine. Le flufénoxuron agit par contact, le lufénuron est actif après ingestion par la puce lors du repas de sang.

Activité ovicide

En cas d'ingestion par la puce, la production d'œufs n'est pas affectée (DEAN ET MEOLA 1999). Par contre, les œufs pondus ne sont pas viables. En cas d'éclosion, ils donnent des larves non viables. Les larves qui éclosent souffrent d'un déficit en chitine. Elles sont plus petites, léthargiques, plus sensibles à la dessiccation et meurent rapidement (BICHAT-SETA 2002)

Activité larvicide

Une étude réalisée chez la larve de *Spodoptera littoralis* montre que le flufénoxuron altère l'ultrastructure de la cuticule (LEE 1990). Des vides et des vacuoles au niveau des microvillosités des cellules épidermiques (zone de synthèse de la chitine) apparaissent dans l'endocuticule qui s'épaissit. Aucun nouveau dépôt de microfibrilles de chitine n'a lieu après traitement et le nombre de lamelles n'augmente plus (CADIERGUES 1993).

Les larves ne sont pas capables de s'extraire de l'ancienne mue à cause de leur nouvelle cuticule trop fine et molle. Elles finissent par en mourir. Dans le cas où elles survivent à la mue suivante, les larves sont incapables de mordre efficacement dans leurs aliments et meurent affamés en 24 à 48h. Par contre si une larve évolue en puppe, celle-ci ne se transformera pas en adulte (CLARKE 1990, FRANC 1994).

2.2.2.1.3. Efficacité

Le flufénoxuron en association avec la perméthrine (Tiquanis habitat® pulvérisateur, Vétoquinol) a, pour la même concentration, une durée d'efficacité variable selon la nature du support.

Tableau 11 : Capacité du Flufénoxuron en association avec la Perméthrine à inhiber le développement des œufs de puce

Support	Flufénoxuron	Perméthrine	Durée	Auteur
Moquette	4,1 mg/m ²	133 mg/m ²	15 semaines	FRANC 1998a
Parquet	4,1 mg/m ²	133 mg/m ²	12 semaines	

2.2.2.1.4. Toxicité chez les mammifères

Les inhibiteurs de synthèse de chitine ne sont pas toxiques pour les mammifères.

Tableau 12 : Toxicité du Flufénoxuron chez les mammifères (TOMLIN 1997)

Rat			Lapin
DL50 orale	DL50 percutanée	CL50 inhalation (4h)	Peau et Yeux
>3000 mg/kg	> 20000 mg/kg	5 mg/l air	Non irritant

2.2.2.1.5. Ecotoxicité

Fortement absorbé par le sol, le flufénoxuron se transforme en résidus (mélamine) qui n'affectent pas les organismes du sol de façon significative (TOMLIN 1997). Par contre, le flufénoxuron est dangereux pour les poissons.

Tableau 13 : Ecotoxicité du Flufénoxuron [145]

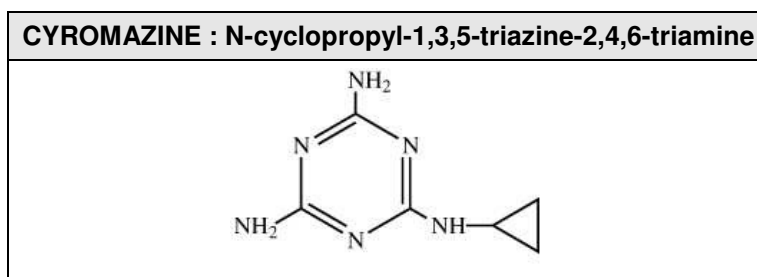
<i>Colinus virginianus</i>	<i>Salmo gairdneri</i>
CL50	CL50 (96h)
≥ 5200 mg/kg	≥4,9 10 ⁻³ mg/l

2.2.2.2. La cyromazine

2.2.2.2.1. Structure, propriétés physiques et chimiques

La cyromazine appartient au groupe des triazines (Figure 13) et se présente sous la forme d'un cristal incolore, liposoluble. Elle résiste à de fortes températures (<310°C), 28jours à 70°C (TOMLIN 1997). Sa dégradation dans le sol n'est pas due à ses paramètres physicochimiques mais à l'action microbienne qui varie entre 3 et 140jours. Aucune dégradation apparente n'a été observée à la surface de sols soumis à l'irradiation lumineuse (ROBERTS 1999).

Figure 13 : Structure chimique de la Cyromazine [30]



2.2.2.2.2. Mode d'action

La cyromazine est apparentée aux inhibiteurs de synthèse de chitine mais son mode d'action sur la paroi des insectes diffère légèrement.

La cyromazine provoque une rigidité croissante de la cuticule qui empêche l'expansion nécessaire à la croissance normale de l'insecte. Cela entraîne une pression interne à l'origine de lésions de la paroi corporelle. La procuticule continue tout de même à être sécrétée sous l'ancienne cuticule. Il en résulte un épaissement grossier de la cuticule, dû à des zones de microfibrilles désorganisées et sujettes à une sclérisation et à une mélanisation anormales. Contrairement aux inhibiteurs de chitine synthétase, la cyromazine perturbe la formation de la cuticule normale et fonctionnelle (SHIPSTONE 1995).

2.2.2.3. Efficacité

La cyromazine étant rarement utilisée dans la lutte anti-puce, peu de données d'efficacité existent à ce jour (Tableau 14). La cyromazine entre dans la composition d'un aérosol destiné à la lutte anti-puce dans l'environnement, commercialisé au Royaume-Uni (STAYKIL®, laboratoires CEVA, anciennement commercialisé par Novartis Animal Health UK Limited).

La cyromazine est utilisée en France pour lutter contre les mouches et moucheron dans les bâtiments d'élevage soit dans un prémélange médicamenteux pour poules pondeuses, soit dans des produits d'hygiène pour locaux d'élevage (DMV 2005) [33].

Tableau 14 : Capacité de la Cyromazine à inhiber le développement des larves de puce

Support	Concentration	Auteur
Milieu de culture	CL50 0.94 ppm	EL GAZZAR 1988

2.2.2.4. Toxicité chez les mammifères

La cyromazine est peu toxique chez les mammifères. Aucun effet oncogène et tératogène n'a été observé sur les rats et souris (SHIPSTONE 1995).

Tableau 15 : Toxicité de la cyromazine chez les mammifères (TOMLIN 1997, [29])

Rat			Lapin	
DL50 orale	DL50 percutanée	CL50 inhalation (4h)	Peau	Yeux
3387 mg/kg	> 3100 mg/kg	> 2,72 mg/l	Modérément irritant	Non irritant

2.2.2.5. Ecotoxicité

La cyromazine est rapidement dégradée par les plantes ou les micro-organismes du sol. Et elle est peu toxique pour l'environnement (TOMLIN 1997).

Tableau 16 : Ecotoxicité de la Cyromazine [140]

Truite	Canard mulard	Abeille
DL50 orale (96h)	DL50 orale	DL50
100 mg/l	>2500mg/kg	Pratiquement non toxique

3. Les préparations pharmaceutiques pressurisées

3.1. Les formes galéniques

Les spécialités utilisées dans nos essais (Tableau 17, Figure 14) sont des préparations pharmaceutiques pressurisées. Elles associent, comme la plupart de celles commercialisées en France pour la lutte contre les puces dans l'environnement (cf. Annexe 1), un insecticide, de la famille des pyréthrinoïdes (perméthrine), et un régulateur de croissance des insectes.

Tableau 17 : Les quatre spécialités pressurisées étudiées lors des essais

Principes actifs	Noms déposés	Formes	Laboratoires	Pays
Perméthrine + Pyriproxyfène	INDOREX ®	Aérosol	VIRBAC	Europe (hors France)
Perméthrine + Cyromazine	STAYKIL ®	Aérosol	CEVA 2006 (NOVARTIS 1999)	Europe (hors France)
Perméthrine + Méthoprène	Vet-kem ACCLAIM ®	Aérosol	CEVA 2006 (SANOFI 1999)	Europe (hors France)
Perméthrine + Flufénoxuron	TIQUANIS ® HABITAT	Solution pressurisée	VETOQUINOL	France



Figure 14 : présentation des quatre spécialités pressurisées étudiées

Après énumération des spécialités de l'étude et de celles référencées par le Dictionnaire des Médicament Vétérinaire Français (DMV 2005) [33] (cf. Annexe 1), on note quatre formes galéniques qui sont toutes des préparations pharmaceutiques pressurisées :

- le pulvérisateur,
- la solution pressurisée,
- l'aérosol,
- le diffuseur.

On est amené à se demander quelles sont les différences entre ces formes, leurs avantages et leurs inconvénients.

3.2. Définition des préparations pharmaceutiques pressurisées

D'après la monographie « Préparations pharmaceutiques pressurisées » (juillet 1987) de la Pharmacopée française [117], GUICHARD 1967, SEILLER 1996.

Selon la pharmacopée française, les préparations pharmaceutiques pressurisées sont « des préparations délivrées dans des récipients spéciaux sous la pression d'un gaz ».

Toutes celles utilisées dans la lutte dans l'environnement se définissent comme des « aérosols non médicamenteux » ou « pseudo-aérosols ». Ils sont obtenus par un système générateur à air comprimé fixé sur un récipient qui assure la conservation des principes actifs à disperser (Figure 15) (GUICHARD 1967).

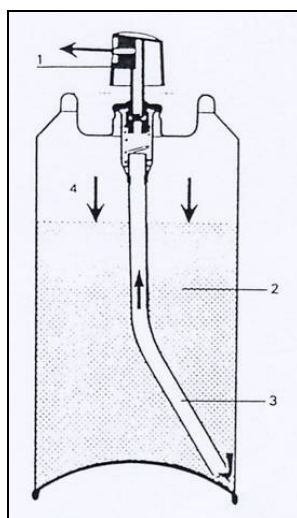


Figure 15 : Coupe d'une forme pharmaceutique pressurisée (SEILLER 1996)

1 : Bouton-poussoir muni d'un gicleur ; 2 : phase liquide ; 3 : tube plongeur fixé sur la valve ; 4 : phase gazeuse (lorsqu'on appuie sur la valve, la pression du gaz fait monter le liquide dans le tube plongeur et le pousse à l'extérieur du récipient. Le diamètre des particules obtenues dépend de la pression du gaz et de la taille du gicleur)

Les récipients sont en métal ou en plastique, de contenance variable, tous résistants à plusieurs kilogrammes de pressions.

Les gaz propulseurs sont généralement comprimés lors de la fabrication. Les plus courants sont des gaz inertes, le dioxyde de carbone ou l'azote (GUICHARD 1967). Les gaz comprimés peuvent être remplacés par de l'air comprimé à l'aide de pompes mécaniques (SEILLER 1996), appelées communément « pulvérisateurs ».

Dispositifs de pulvérisation

La valve assure l'obturation étanche du récipient et, munie d'un bouton-poussoir, elle règle la distribution du contenu.

La valve peut être :

- à libération continue : cas des « aérosols et des pulvérisateurs », ou
- à libération quantifiée (valve doseuse) : cas des « solutions pressurisées et diffuseurs ».

Elle peut être :

- manuelle, actionnée par un manipulateur : cas des « pulvérisateurs, aérosols et solutions pressurisées »,
- automatique, déclenchée pour libérer la solution de façon automatique : cas des « diffuseurs ».

Les propriétés essentielles des aérosols sont d'une part, la régularité et la stabilité des particules dispersées et, d'autre part, le pouvoir de pénétration et de fixation de ces particules.

3.3. Caractéristiques de pulvérisation

D'après la Pharmacopée française [117], GUICHARD 1967, SEILLER 1996

La taille des particules

La force de la pression et le type de gicleur déterminent le calibre des particules (gouttelettes) éjectées et le débit de libération de la solution dispersée.

La taille des particules diffusées par les pseudo-aérosols varie entre 5 µm et 200 µm de diamètre, ce qui leur octroie un pouvoir mouillant important.

Le débit de libération

Le débit de pulvérisation des valves de pseudo-aérosols varie entre 0,5 g/s et 2 g/s.

3.4. Etude comparative des préparations pharmaceutiques pressurisées

3.4.1. Similitude

Les préparations pharmaceutiques pressurisées ont des caractéristiques communes d'après le Comité Français Des Aérosols [26] :

- Protection du contenu : contre l'humidité, les germes, l'oxygène, la lumière (étanchéité, stérilité) ;
- Gaz inertes peu onéreux ;
- Chute de la pression au fur et à mesure que la pression se vide ;
- Facilité d'utilisation ;
- Sécurité pour l'utilisateur ;
- Forme bien acceptée par les utilisateurs.

3.4.2. Différences

Les quatre préparations pressurisées se différencient selon les critères suivants :

- la nature de la valve ;
- la mobilité du récipient ;
- l'ordre décroissant du calibre de la gouttelette.

A partir de l'étude des similitudes et des différences, les définitions suivantes ont été élaborées pour ce travail. Aucune référence ne fait état à ce jour de définitions de ces différents types de préparations pharmaceutiques pressurisées.

Pulvérisateur : préparation pharmaceutique pressurisée, conditionnée dans un récipient en plastique et possédant une pompe mécanique. Elle est mise sous pression manuellement et permet d'orienter la direction d'un jet de gouttelettes irrégulières et grossières.

Solution pressurisée : préparation pharmaceutique pressurisée mise sous pression dans un récipient métallique et possédant une valve doseuse à libération courte nécessitant des actions répétées. Elle permet d'orienter la direction d'un jet de petites gouttelettes.

Aérosol : préparation pharmaceutique pressurisée mise sous pression dans un récipient métallique et possédant une valve à libération continue. Elle permet d'orienter la direction d'un jet de très petites gouttelettes.

Diffuseur : préparation pharmaceutique pressurisée mise sous pression dans un récipient métallique, et possédant une valve doseuse à libération prolongée diffusant de façon continue et automatique un brouillard de fines gouttelettes.

Les conditionnements pressurisés sont abusivement appelés dans le langage courant « bombes aérosols » (DOPA 1997). Ce terme pourra être utilisé ultérieurement pour désigner à la fois les solutions pressurisées et les aérosols par soucis de simplification.

3.4.3. Avantages et inconvénients des formes galéniques

Chaque forme galénique présente des avantages et inconvénients permettant de faire le choix thérapeutique le plus approprié (Tableau 18).

Les pulvérisateurs présentent un amorçage de la pompe qui est contraignant lors d'une utilisation intensive. La pulvérisation obtenue est moins régulière que celle obtenue sous pression (surtout lors de l'amorçage de la pompe) (SEILLER 1996). La pression faible qui en résulte ne permet pas une des meilleures pénétrations mais le rapport qualité-prix en fait un produit de choix.

Les aérosols et solutions pressurisées doivent être utilisées à une certaine distance du sol et pendant un temps donné pour garantir une concentration efficace et une répartition homogène en principes actifs. Par conséquent, leur utilisation en respectant le mode d'emploi est contraignante. Cependant, ils permettent de diriger l'action des principes actifs sur des surfaces spécifiques, et d'insister à certains endroits sensibles (lieux où se nichent les animaux). Leur haute pression et le jet directionnel leur confèrent un meilleur degré de pénétration des supports que les diffuseurs (brouillard) et les pulvérisateurs (faible pression).

Les diffuseurs qui fonctionnent seuls sont très simples d'utilisation et très appréciés des utilisateurs. Ils larguent les molécules actives en un brouillard de fines gouttelettes qui se déposent sur le dessus du mobilier. Les surfaces se trouvant sous les meubles n'étant pas traitées, elles doivent être pulvérisées par des préparations pressurisées directionnelles (pulvérisateur, solution pressurisée, aérosol).

Pour les quatre formes, le mobilier doit être déplacé pour s'assurer du traitement de toute la surface.

Tableau 18 : Comparaison des différentes préparations pressurisées

Formes	Caractéristiques	Avantages	Inconvénients
PULVERISATEUR (spray)	Pompe mécanique Basse Pression Directionnel	Facilité d'emploi pour endroits difficiles d'accès Ciblage de petites surfaces à traiter	Mise sous pression manuelle Pulvérisation irrégulière à chaque amorçage Faible pénétration des supports Déplacement des meubles
SOLUTION PRESSURISEE (spray)	Valve doseuse à libération courte Haute Pression Directionnel	Traitement de toute surface possible (sous les meubles)	Mode d'emploi contraignant à respecter (hauteur et durée de vaporisation) Déplacement des meubles
AEROSOL (spray)	Valve à libération continue Haute Pression Directionnel	Bon degré de pénétration des supports	
DIFFUSEUR (fogger)	Valve doseuse automatique à libération prolongée Haute Pression Statique	Très grande facilité d'emploi (diffusion automatique) Traitement régulier de la pièce	Pas de traitement sous le mobilier Dépôt des molécules en surface des supports Déplacement des meubles

CONCLUSION

La lutte dans l'environnement permet de se débarrasser des nuisances occasionnées par les puces. L'efficacité de la lutte dépend des conditions d'application du traitement, du support, de l'investissement des propriétaires, des formes galéniques et des principes actifs utilisés. Les formes galéniques et les principes actifs utilisés étant nombreux, l'offre des spécialités pharmaceutiques est multiple. Par conséquent, la connaissance des principes actifs et des spécialités est nécessaire afin que le vétérinaire fasse les choix thérapeutiques les plus appropriés.

L'étude des principes actifs montre que la perméthrine a deux effets insecticides principaux : l'effet knock-down et l'effet létal qui sont doses-dépendants. La perméthrine est un insecticide photostable, avec une rémanence de moyenne durée et peu toxique pour les mammifères quand elle est appliquée dans l'environnement domestique. Par contre, il faut respecter les précautions d'usage pour les animaux domestiques (chats, insectes, poissons et reptiles d'intérieurs, en terrariums/aquariums) à cause de sa toxicité pour ces derniers.

Le pyriproxifène et le méthoprène, analogues de l'hormone juvénile, ont essentiellement un effet larvicide sur les L3 et sont peu toxiques pour les hommes et les animaux du foyer. Le pyriproxifène est photostable, rémanent pendant 7 mois dans le milieu extérieur. Le méthoprène est sensible à la lumière et a une rémanence de courte durée quand exposé à la lumière.

Le flufénoxuron et la cyromazine, inhibiteurs de paroi, inhibent le développement larvaire. Ils sont photostables et rémanents pendant plusieurs mois en milieu protégé.

Ces principes actifs sont étudiés dans le cadre des essais réalisés sur les aérosols afin de mieux connaître leur efficacité et rémanence dans des conditions d'utilisation en habitat domestique.

ETUDE EXPERIMENTALE

EFFICACITÉ COMPAREE SUR MOQUETTE DE QUATRE AEROSOLS A BASE DE PERMETHRINE ET D'IGR

1. Objectifs

Quatre aérosols anti-puces de l'environnement ont été évalués dans les conditions normales d'utilisation selon une méthode standardisée réalisée en 1999-2000. Cette méthode d'évaluation comprend quatre types d'essais contrôlés différents (selon définition de FRANC, 1999). Ces essais ont pour but d'évaluer les différentes activités des quatre aérosols cités précédemment dans les conditions normales d'utilisation :

- L'activité curative : efficacité sur un environnement domestique infesté par les puces et les stades juvéniles du cycle parasitaire.
- L'activité préventive : rémanence d'un environnement traité et soumis ou non à des facteurs d'influence domestiques : aspirateur, lavage, éclairage solaire derrière une fenêtre, contre les puces et les stades juvéniles.

2. Matériels et méthodes

2.1. Les réactifs

Trois aérosols et une solution pressurisée sont comparés lors des essais (Tableau 19).

Les quatre aérosols ont en commun :

- le même insecticide (la perméthrine) à une concentration différente.

Elles se différencient par :

- la nature et la concentration de l'IGR,
- le mode d'emploi (hauteur et durée de vaporisation) et
- la rémanence indiquée.

Tableau 19 : Caractéristiques des spécialités pressurisées

Aérosol	INDOREX®	STAYKIL®	ACCLAIM®	TIQUANIS HABITAT®
Laboratoire	VIRBAC	NOVARTIS	SANOFI	VETOQUINOL
Forme galénique	Aérosol	Aérosol	Aérosol	Solution pressurisée
Insecticide : Perméthrine*	0,93%	0,64%	0,58%	0,50%
IGR*	Pyriproxyfène 0,02%	Cyromazine 3,11%	Méthoprène 0,09%	Flufénoxuron 0,015%
Volume net (ml)	500	500	400	250
Rémanence (mois)	12	6	7	4
Hauteur de vaporisation (cm)	50	45	Aucune indication	20
Indication d'utilisation	5s/m ²	8s/m ²	100ml/35m ²	Aucune indication

* : pourcentage massique de solution

Des tests sont réalisés sur les aérosols afin d'évaluer le diamètre du disque de vaporisation et le débit de vaporisation. Ceci permet de déterminer les modes de traitement et les concentrations des principes actifs déposés sur les surfaces.

Evaluation du diamètre du disque de vaporisation (cm)

A partir de deux présentations neuves de chaque spécialité, on a pulvérisé un papier en ligne pendant 5s, puis on a mesuré la largeur de la bande de pulvérisation.

Détermination du débit massique de vaporisation (g/s)

La méthode d'évaluation du débit de vaporisation est inspirée de celle de la Pharmacopée française [117]. A partir des flacons précédents, le protocole est réalisé une fois sur chacun d'entre eux. Une fois le flacon pesé, une pulvérisation de 5 secondes est réalisée puis, le flacon est repesé. Cette opération est répétée 24 fois soit une durée totale de 2 minutes.

Le débit massique de vaporisation (D_m) (g/s) de la solution est calculé à partir de la moyenne ($\overline{\Delta p}$) des différences de pesée par pulvérisation de 5s ($\overline{\Delta t}$) pour chaque spécialité (exprimée en g) et la correction standard de la part massique de la solution efficace de l'aérosol (93,5%) après élimination des gaz propulseurs (6,5%). La formule utilisée est donc la suivante :

$$D_m = \frac{\overline{\Delta p}}{\overline{\Delta t}} \times \frac{93,5}{100}$$

- Où D_m : Débit massique de vaporisation (g/s)
 $\overline{\Delta p}$: Moyenne des différences de pesées (g)
 $\overline{\Delta t}$: Durée de vaporisation (5s)
 $\frac{93,5}{100}$: Proportion massique de la solution de l'aérosol

Estimation des concentrations en principes actifs (mg/m²)

Les concentrations en Perméthrine (C_{Pm}) et en IGR (C_{IGR}), exprimées en mg/m² correspondent aux quantités de principes actifs pulvérisés par seconde pendant le temps de vaporisation (T_v) nécessaire à traiter 1m². Elles sont données par les formules suivantes :

$$C_{Pm} = \frac{Pm}{100} \times T_v \times D_m \times 1000 \qquad C_{IGR} = \frac{IGR}{100} \times T_v \times D_m \times 1000$$

- Où Pm : Pourcentage de Perméthrine dans la solution
 IGR : Pourcentage de l'IGR dans la solution
 T_v : Temps de vaporisation par m² (s/m²)
 D_m : Débit massique de vaporisation de la solution (g/s)

Lorsque le temps de vaporisation (T_V) n'est pas directement fourni par le fabricant, ce dernier a été établi d'après la relation suivante :

$$T_V = \frac{V_{T/S}}{D_m} \times m_v$$

Où

$V_{T/S}$: Volume de traitement d'une surface donnée (ml/m²)

D_m : Débit massique de vaporisation de la solution (g/s)

m_v : Masse volumique de la solution (g/ml)

Dans le cas de la spécialité ACCLAIM®, 100 ml traitant 35 m², $V_{T/S} = \frac{100}{35}$

La masse volumique (m_v) (exprimée en g/ml) de la solution après expulsion des gaz propulseurs est déterminée par la formule suivante :

$$m_v = \frac{(m_T - m_{tare})}{V_{sol}} * \frac{93,5}{100}$$

Où

m_T : masse totale du flacon (g)

m_{tare} : masse du flacon vide (g)

V_{sol} : Volume de la solution (ml)

Dans le cas de la spécialité TIQUANIS®, le volume de traitement n'étant pas non plus indiqué, le temps de vaporisation a été arbitrairement choisi afin d'avoir une concentration en perméthrine (g/m²) équivalente aux autres spécialités, la perméthrine étant le seul point commun aux quatre aérosols.

Les tests sur les aérosols ont déterminé des valeurs de débit (voir annexes 2, 3, 4, 5) en accord avec les standards des pseudos-aérosols (0,5 à 2 g/s) (GUICHARD 1967). Les diamètres de vaporisation sont compatibles avec les essais. L'ensemble des résultats et des calculs est présenté dans le tableau ci-dessous.

Tableau 20 : Caractéristiques de pulvérisation des aérosols

Aérosol		INDOREX®	STAYKIL®	ACCLAIM®	TIQUANIS HABITAT®
Hauteur de vaporisation (cm)		50*	45*	45	20*
Diamètre de vaporisation (cm)		20	20	18	22
Débit D_m (g/s)		1,22	1,03	0,63	1,45
Temps de vaporisation T_V (s/m ²)		5*	8*	6	9
Concentrations (mg/m ²)	Perméthrine	56,87	52,85	22,09	65,05
	IGR	Pyriproxifène	Cyromazine	Méthoprène	Flufénoxuron
		1,23	256,82	3,43	1,30

* : donnée du fabricant

2.2. Les puces

Seize chats (11 mâles et 5 femelles), âgés de 1 à 4 ans, de type européen, sains et exempts de tout germe et parasite, sont sélectionnés pour assurer des conditions de vie satisfaisantes à la reproduction des puces. Ils sont choisis pour leur tempérament calme (faible toilettage et grattage), leur propreté et leur résistance à la Dermatite par Allergie à la Piqûre de Puce (DAPP).

Les chats sont maintenus dans des cages métalliques à fond amovible (tiroir) pour la récolte des œufs de puces. Certains chats peuvent être renouvelés en cas de chute de la production d'œufs ou de déclaration de DAPP.

Soixante-dix puces sont déposées, toutes les semaines, sur la ligne de dos de chaque chat afin de maintenir une production importante d'œufs.

Les œufs (blanc nacré, <0,5 mm) et les fèces de puce (noires en forme de virgule) sont récoltés dans le tiroir de la cage. Le tri des œufs et fèces parmi les débris de litière est réalisé successivement à l'aide de deux tamis à grille de taille décroissante, puis d'un papier noir, d'un pinceau et d'une loupe. Les œufs et les fèces de puces sont destinés soit à la naissance de nouvelles puces d'élevage, soit aux essais.

Pour obtenir de nouvelles puces, 20 œufs sont déposés, sur un milieu de culture, dans un flacon au bouchon perforé. Le milieu de culture est composé de sable et d'aliments pour chien, autoclavés, de sang de chien lyophilisé et de levure de bière. Ils sont mis à incuber dans une étuve, à l'obscurité, à 27°C et 80% d'humidité relative. Les puces émergent en moyenne trois semaines plus tard. L'émergence des puces est stimulée par la lumière, l'exhalation de CO₂ et le tapotage du flacon. Elles sautent sur la paillasse du laboratoire et sont collectées à l'aide d'un aspirateur à main (pompe à vide) qui les introduit dans un tube à essai.

Les puces nouvellement émergées servent soit à ré-infester les chats, soit aux essais.

Les jours d'infestations des supports, l'élevage a fourni jusqu'à 800 puces et 2000 œufs/jours.

2.3. La moquette

La moquette, fréquente dans les foyers, est un lieu très favorable au développement des puces. En conséquence, une moquette présentant les caractéristiques suivantes a été choisie pour les essais :

- de couleur claire et unie : afin de visualiser les puces adultes de couleur brune,
- en laine bouclée : pour laisser les puces se développer au mieux (MILLER 2000),
- non traitée : afin d'éviter l'interaction avec d'autres d'insecticides car la plupart des moquettes vendues, aujourd'hui, contiennent des produits insecticides/acaricides.

En fonction des quatre essais différents, les supports ont été prédécoupés en :

- 5 disques de 25 cm de diamètre (essai 1 et 3)
- 20 disques de 13,5 cm de diamètre (essai 2)
- 20 carrés de 50 cm x 50 cm (essai 4) dans lesquels sont prélevés des disques-échantillon de 3,5 cm de diamètre.

Le transport, le stockage et la manipulation des pièces de moquette avant et après traitement ont été réalisés de manière à empêcher toute contamination extérieure et croisée (secteur propre/secteur sale, notion de marche en avant, application des Bonnes Pratiques de Laboratoire).

- Principes de l'OCDE des Bonnes Pratiques de Laboratoire (ISBN 92-64-12367-9, Paris 1982). Monographie sur l'environnement n°45.
- Bonnes Pratiques de Laboratoire, Direction de la Pharmacie et du Médicament, ISBN 0758-1998 Fasc. N°84/17 bis, 1986.

Tous les morceaux de moquette ont été protégés de la lumière naturelle grâce à des sacs opaques, le stockage se faisant dans une pièce obscure, éclairée à la lumière artificielle.

Les pièces de moquette ont subi divers traitements selon les essais.

Les essais 1 et 2 (activité curative) ont été réalisés sur de la moquette infestée puis pulvérisée.

Les essais 3 et 4 (activité préventive) ont été réalisés sur de la moquette pulvérisée, soumise ou non aux traitements (aspiration, lavage, exposition lumineuse) puis infestée.

2.4. Protocoles expérimentaux

2.4.1. Essai curatif sur les puces adultes (essai 1)

Le but est de tester l'efficacité de la perméthrine sur des puces nouvellement émergées, présentes sur la moquette.

Pour cela, 50 puces sont déposées sur un disque de moquette de 25 cm de diamètre (soit au total 5 disques, 1 par aérosol + 1 témoin négatif), placé chacun dans un fût de 45 cm de hauteur afin d'empêcher les puces de s'échapper.

Après dépôt des puces, on vaporise pendant 1 seconde tout le fond du fût à l'aide d'un aérosol, à une hauteur de pulvérisation d'au moins 45 cm (hauteur du fût) (Figure 16). Le témoin négatif ne reçoit aucune pulvérisation.

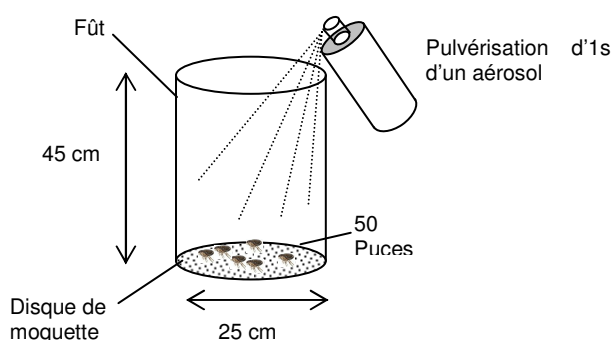


Figure 16 : Schéma du Traitement curatif adulticide (essai 1)

Les concentrations en principes actifs de chaque aérosol pour ce 1^{er} essai sont présentées dans le tableau suivant (Tableau 21). Concernant la perméthrine, les valeurs vont de 75mg/m² (ACCLAIM®) à 231,70 mg/m² (INDOREX®).

Tableau 21 : Conditions du traitement curatif adulticide et concentration en perméthrine

Aérosol		INDOREX®	STAYKIL®	ACCLAIM®	TIQUANIS HABITAT®
Hauteur de vaporisation (cm)		50	45	45	45
Temps de vaporisation T_v (s)		1	1	1	1
Concentrations (mg/m ²)	Perméthrine	231,70	134,58	75,01	147,24
	IGR	Pyriproxyfène	Cyromazine	Méthoprène	Flufénoxuron
		4,98	653,99	11,64	4,42

Le recueil de données se fait selon la procédure suivante. En tapotant sur le fût et à l'aide d'une lampe à fort éclairement, on dénombre à 2, 8 et 24 heures après traitement, le nombre de puces vivantes dans les fûts traités et le nombre de puces immobiles dans le fût témoin négatif.

2.4.2. Essai curatif sur les stades juvéniles (essai 2)

Le but est de tester l'efficacité des régulateurs de croissance des insectes sur une moquette infestée par tous les stades immatures de la puce (de l'œuf à la nymphe).

Pour obtenir une population représentative en œufs, larves et nymphes, on dépose sur chaque disque, placé dans une boîte de Pétri, et stocké dans un incubateur (à 27°C, à l'obscurité, avec une humidité relative de 80%), 0,8 g de milieu de culture afin de permettre aux larves de se nourrir et de former leur cocon (Cela évite un biais de mortalité des larves par famine ou incapacité à se transformer en nymphe), et, quotidiennement, 10 œufs et une pincée de fèces de puces jusqu'à l'émergence des premières puces ce qui traduit la réalisation d'un cycle parasitaire complet. A la fin, 220 œufs/disque ont été déposés.

Pour chaque spécialité, la pulvérisation est assurée en simulant un geste de balayage (forme de « S ») sur une surface d'1 m² où sont placées au centre quatre disques de moquette de 13,5 cm. Ainsi, on dispose 4 échantillons traités par spécialité. La hauteur et le temps de pulvérisation sont donnés par le fabricant ou ont été calculés préalablement. En parallèle, quatre disques non traités servent de témoin négatif.

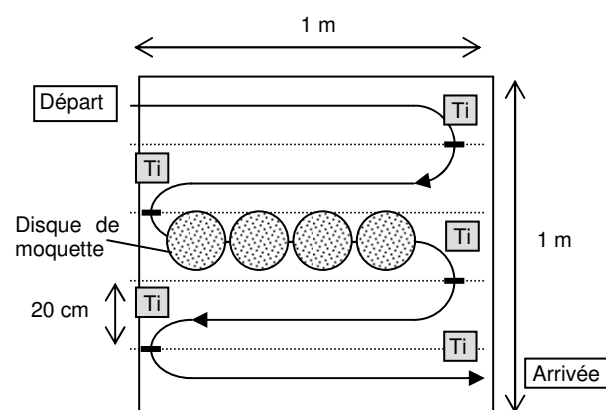


Figure 17 : Schéma du Traitement curatif sur les stades juvéniles ($T_i = T_v/5$) (Essai 2)



Figure 18 : Réalisation du Traitement curatif sur les stades juvéniles

Les caractéristiques de pulvérisation et les concentrations en principes actifs sont reportées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 22 : Conditions du traitement curatif sur les stades juvéniles et concentrations en principes actifs

Aérosol		INDOREX®	STAYKIL®	ACCLAIM®	TIQUANIS HABITAT®
Hauteur de vaporisation (cm)		50	45	45	20
Temps de vaporisation T_v (s/m ²)		5	8	6	9
Concentrations (mg/m ²)	Perméthrine	56,87	52,85	22,09	65,05
	IGR	Pyriproxifène	Cyromazine	Méthoprène	Flufénoxuron
		1,23	256,82	3,43	1,30

Après traitement, les disques de moquette traités contenant les stades juvéniles sont replacés dans l'incubateur. A partir de la date de traitement, les puces émergentes vivantes sur chaque disque sont dénombrées quotidiennement jusqu'à J36 (arrêt d'émergence du témoin négatif) grâce aux stimulations par exhalation de CO₂, tapotement de la boîte de Pétri et mise à la lumière.

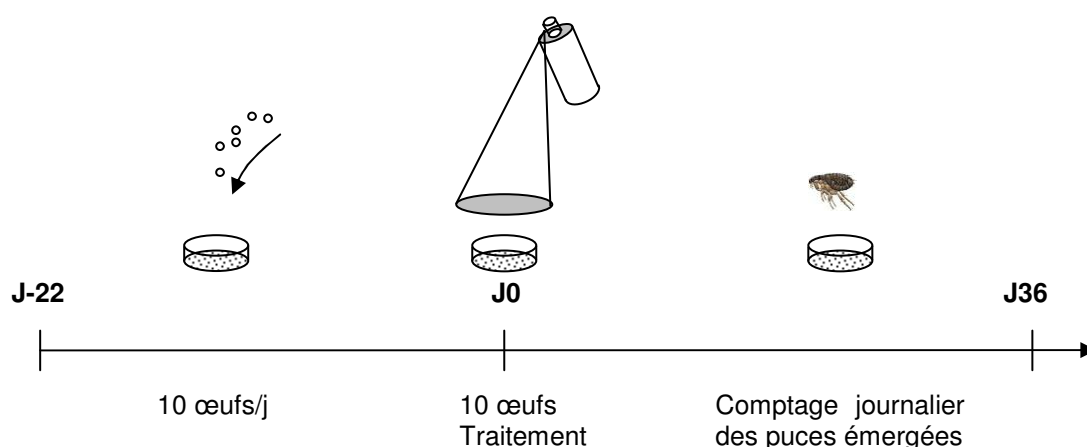


Figure 19 : Etapes du protocole du traitement curatif sur les stades juvéniles (essai 2)

2.4.3. Essai préventif sur les puces adultes (essai 3)

Le but de ce 3^{ème} essai est de tester la rémanence de la perméthrine contenue dans la moquette traitée.

Pour cela, 50 puces sont déposées sur un disque de moquette de 25 cm de diamètre (soit au total 5 disques, 1 par aérosol + 1 témoin négatif), préalablement traité par un des quatre aérosols lors de l'essai 1, et placé dans un fût de 45 cm, aux temps suivants : 1, 2, 3, 4, 8, 17, 23, 30 et 60 semaines après traitement de la moquette. Les concentrations en principes actifs se trouvent dans le tableau de l'essai 1 (tableau 20).

Le comptage des puces se fait pour chaque temps, selon la même procédure que pour l'essai 1, à 2h, 8h et 24h après dépôt des puces. Après lecture, les puces sont éliminées avant un nouveau dépôt.

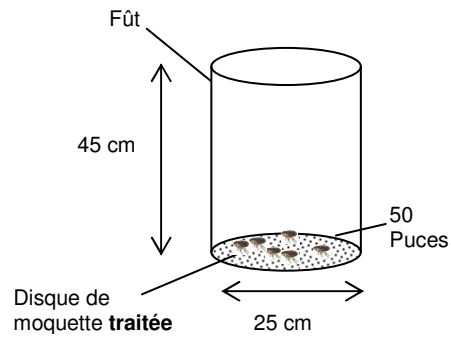


Figure 20 : Schéma du traitement préventif insecticide (essai3)

2.4.4. Essai préventif sur les stades juvéniles (essai 4)

Le but de ce dernier essai est d'évaluer la rémanence des IGR contenus dans la moquette traitée en fonction de divers facteurs d'agression d'un environnement domestique (aspirateur, lavage, exposition lumineuse).

Pour chaque aérosol et pour le témoin négatif, une moquette d'1m² a été divisée en quatre carrés de 50cm de côté en fonction des facteurs d'agression de la moquette (Aspiration, Lavage, Exposition lumineuse ou absence d'agression). Dans un deuxième temps, chaque carré de 50 cm de côté a été quadrillé en petits carrés de 5 cm de côté pour permettre le prélèvement de 4 échantillons en forme de disques de 3,2 cm de diamètre à chaque temps d'infestation. L'échantillonnage a été réalisé selon la méthode de randomisation des études à faibles effectifs (LELLOUCH 1991).

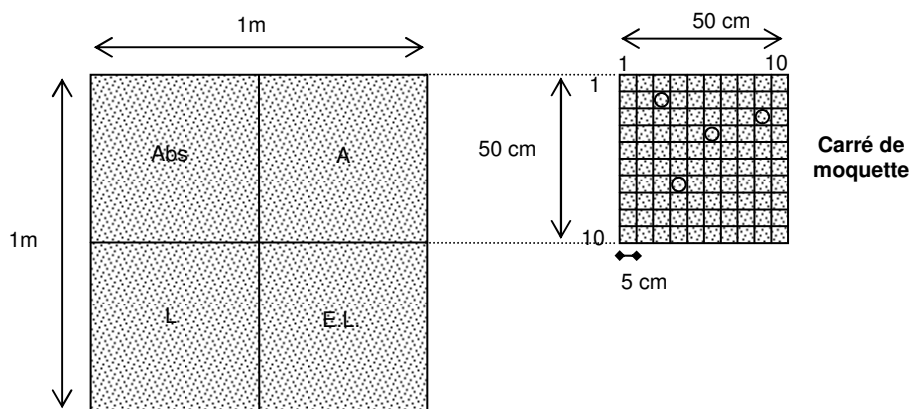


Figure 21 : Préparation des carrés de moquette pour le traitement préventif sur les stades juvéniles en fonction des facteurs d'agression, Aspiration (A), Lavage (L), Exposition lumineuse (EL) ou Absence d'agression (Abs)

Lors de la pulvérisation, les 4 carrés de moquette de chaque spécialité sont alignés, selon le même ordre, formant ainsi une bande de moquette, d'une surface d'1m² = 4x(50x50cm). La pulvérisation débute en avant de la bande afin d'éviter un effet d'accumulation de produit au départ. Pour être certain que toute la surface soit correctement pulvérisée, la méthode retenue est la réalisation de 3 passages en lignes parallèles, équidistantes de 16,5 cm (voir diamètre de pulvérisation des aérosols). Le temps de pulvérisation est donc adapté pour être un multiple de 3 d'après les données du fabricant ou les calculs de débits. La hauteur de pulvérisation par rapport au sol pour chaque aérosol est

donnée par le fabricant ou fixée arbitrairement en cas d'absence d'indication. Quatre autres carrés ne reçoivent aucune pulvérisation et servent de témoin négatif.

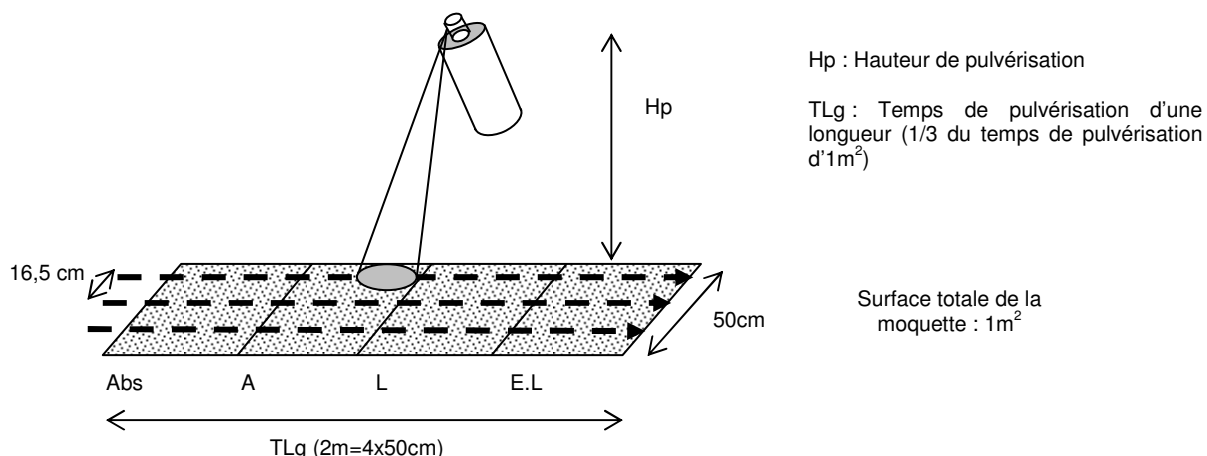


Figure 22 : Méthode de pulvérisation des moquettes lors du traitement préventif contre les stades juvéniles

L'ensemble des caractéristiques de pulvérisation ainsi que les concentrations en principes actifs est donné dans le tableau suivant.

Tableau 23 : Conditions du traitement préventif sur les stades juvéniles et concentrations en principes actifs

Aérosol		INDOREX®	STAYKIL®	ACCLAIM®	TIQUANIS HABITAT®
Hauteur de pulvérisation (cm)		50	45	45	20
Temps de vaporisation (s/m ²)		6	9	6	9
Concentrations (mg/m ²)	Perméthrine	68,24	59,46	22,09	65,05
	IGR	Pyriproxifène	Cyromazine	Méthoprène	Flufénoxuron
		1,47	288,92	3,43	1,30

L'un des 4 carrés de 50cm de côté n'a subi aucune agression du support et a servi de témoin positif pour chaque spécialité.

Un deuxième carré de chaque spécialité et du témoin négatif a été soumis aux passages d'un aspirateur de forte puissance (Taski Baby Bora 850 Watt, type S1, série : A31333), muni d'une brosse dure, deux fois par semaine pendant quatre semaines, à partir du cinquième jour après pulvérisation (Figure 23). Chaque aspiration a été réalisée selon une procédure standardisée, correspondant à trois allers-retours parallèles, de 2 s chacun, pour couvrir toute la surface. Cette opération a été répétée quatre fois. Un embout spécifique a été utilisé pour chaque spécialité.

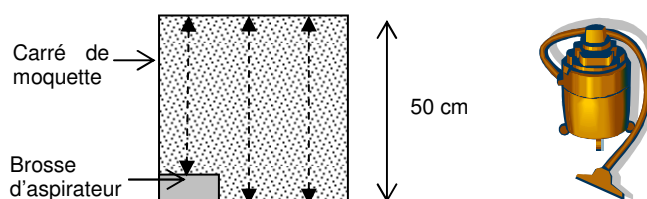


Figure 23 : Passage de l'aspirateur sur un carré de moquette

Un troisième carré de chaque spécialité et du témoin négatif a été lavé une fois par semaine pendant quatre semaines à partir du cinquième jour après pulvérisation de la moquette, à l'aide d'un shampoing (Hagerty) selon une procédure standardisée. Après projection du shampoing sur toute la surface du carré, la mousse du shampoing a été imprégnée et la moquette frottée selon 4 allers-retours en utilisant alternativement les deux faces d'une éponge rincée tous les deux allers-retours. A la fin du procédé, la moquette est rincée quatre fois à l'aide de l'éponge (Figure 24). Une éponge spécifique a été utilisée pour chaque spécialité.

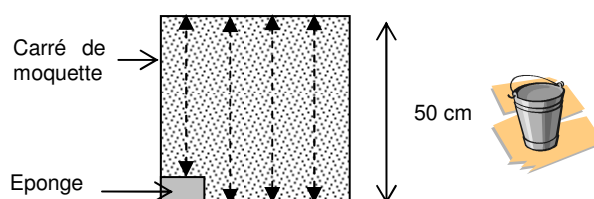


Figure 24 : Lavage d'un carré de moquette à l'aide d'un shampoing et d'une éponge

Le quatrième et dernier carré de moquette de chaque spécialité et du témoin négatif a été soumis à l'exposition lumineuse équivalente à celle reçue par une moquette placée derrière une vitre dans une région ensoleillée (ex. Bandol) recevant quatre heures d'ensoleillement par jour, pendant une et quatre semaines (Figure 25). Cette simulation a été réalisée à l'aide d'un appareil (Sun Test CPL Plus, Marque : Xenotest, Fournisseur : Atlas, série : 9806020) donnant un éclairement de 48 W/m² et de 112 klux entre 300 et 400nm pendant 17h (exposition équivalente à celle d'une semaine) et 68h (exposition équivalente à celle de quatre semaines).

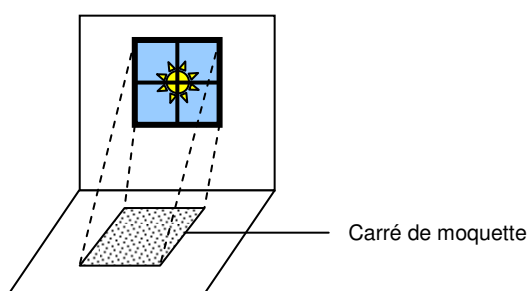


Figure 25 : Exposition lumineuse d'une moquette derrière une vitre

Dans chaque carré de moquette, on prélève quatre disques-échantillon qui sont placés dans des flacons hermétiquement fermés, au bouchon perforé, à 1 jour, 1, 2, 3 semaines, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9 et 12 mois après pulvérisation. On dépose sur chaque disque-échantillon 0,05 g de milieu d'élevage, 25 oeufs de puces et une pincée de fèces qui sont mis à incuber dans une étuve (27°C, 80% HR, obscurité). A J28 après infestation, on comptabilise les puces adultes émergées suite à l'action des facteurs d'émergence (exhalation de CO₂ dans le flacon, tapotement du flacon, mise à la lumière).

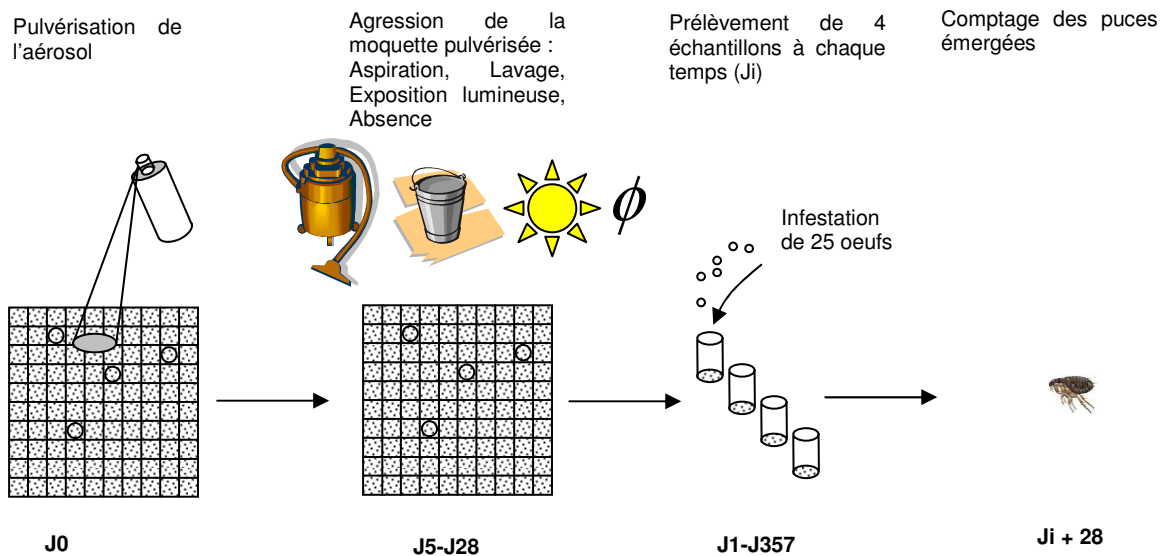


Figure 26 : Schéma des étapes de l'essai préventif sur les stades juvéniles (essai 4)

2.5. Analyse des données

2.5.1. Essai 1 et 3

Le pourcentage d'efficacité, P , d'un aérosol s'exprime par le taux de mortalité des puces et est déterminé d'après la formule d'Abott :

$$P = \frac{n(\text{Témoins}) - n(\text{Traités})}{n(\text{Témoins})} \times 100$$

n : nombre de puces vivantes

2.5.2. Essai 2 et 4

Le pourcentage d'efficacité, P , d'un aérosol est déterminé d'après la formule d'Abott par le nombre moyen de puces émergées parmi les 4 disques.

$$P = \frac{n(\text{Témoins}) - n(\text{Traités})}{n(\text{Témoins})} \times 100$$

n : nombre moyen de puces émergées

L'efficacité minimale souhaitée (EMS) par les « Guide Lines » pour enregistrer un antiparasitaire est de 90% de mortalité des puces.

3. Résultats

3.1. Activité curative sur les puces adultes (essai 1)

Table des résultats en Annexe 6.

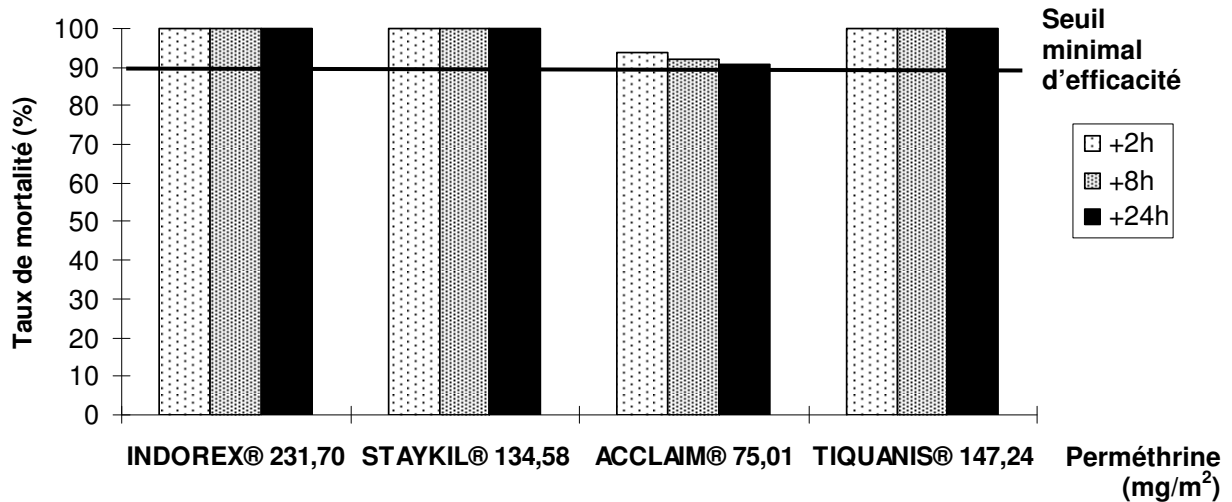


Figure 27 : Efficacités comparées du traitement curatif sur les puces adultes selon les aérosols

INDOREX® ($C_{pm}=231,70 \text{ mg/m}^2$), STAYKIL® ($C_{pm}=134,58 \text{ mg/m}^2$), et TIQUANIS® ($C_{pm}=147,24 \text{ mg/m}^2$) présentent une efficacité curative de 100% sur les puces quelque soit la durée de contact, de 2h à 24h (voire Figure 27).

ACCLAIM® ($C_{pm}=75,01 \text{ mg/m}^2$) a une efficacité satisfaisante (>90%) sur les puces qui, cependant, décroît avec le temps de contact (94% à 2h, 92% à 8h et 91% à 24h après traitement). A 2h et 8h, on observe un effet réversible de l'antiparasitaire par rapport à 24h ce qui correspond à l'effet knock-down.

3.2. Activité curative sur les stades juvéniles (essai 2)

Table des résultats en Annexe 7.

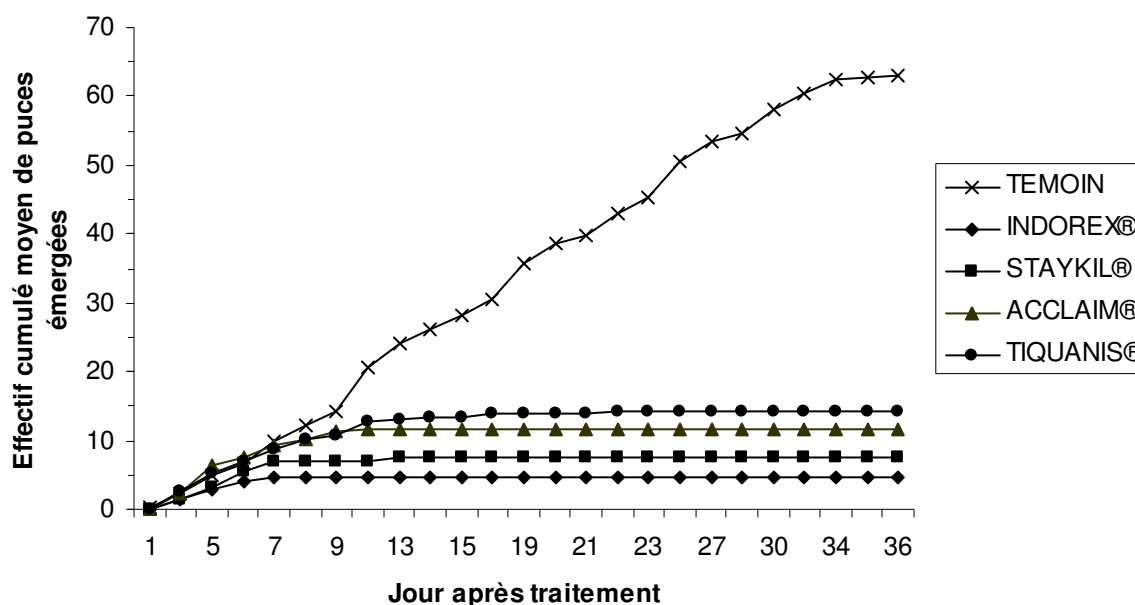


Figure 28 : Comparaison des effectifs cumulés moyens des puces émergées non traitées (témoins) ou traitées par les spécialités (INDOREX®, Pyriproxyfène : 1,23 mg/m² ; STAYKIL®, Cyromazine : 256,82 mg/m² ; ACCLAIM®, Méthoprène : 3,43 mg/m² ; TIQUANIS®, Flufénoxuron : 1,30 mg/m²). Les effectifs cumulés moyen correspondent au nombre moyen de puces émergées sur les 4 échantillons de moquette traitées ou non.

Après observation de la Figure 28, on note que pour le témoin, l'effectif cumulé moyen des puces émergées (4 échantillons) est inférieur (62 puces) au nombre théorique possible (220 puces). A J36, les puces n'émergent plus dans les échantillons du témoin, ni dans les échantillons traités.

Pour le traitement curatif des stades juvéniles, la population moyenne cumulée de puces émergées atteint un seuil nettement inférieur (J36, $p < 0,05$) à l'effectif moyen du témoin (entre 4,75 et 14,25 selon les spécialités). Les nombres de puces émergées des échantillons d'INDOREX®, STAYKIL® et ACCLAIM® sont statistiquement différents des échantillons témoins à partir de J12 et, de J15 pour ceux de TIQUANIS® (test de Student, $p < 0,05$). Deux groupes se détachent, d'un côté, INDOREX® et STAYKIL® significativement non différents, et de l'autre, ACCLAIM® et TIQUANIS®, non différents statistiquement. INDOREX® et STAYKIL® sont statistiquement différents d'ACCLAIM® et TIQUANIS® à partir de J15.

Les seuils de puces émergées sont atteints au bout de 8 jours pour INDOREX® ($C_{\text{Pyriproxyfène}} = 1,23 \text{ mg/m}^2$), 13 jours pour STAYKIL® ($C_{\text{Cyromazine}} = 256,82 \text{ mg/m}^2$) et ACCLAIM® ($C_{\text{Méthoprène}} = 3,43 \text{ mg/m}^2$), et 22 jours pour TIQUANIS®. INDOREX® est par conséquent le plus précoce à limiter l'émergence des puces issues d'œufs et larves logés dans la moquette. A J36, les valeurs d'efficacité calculées sont de 92% (INDOREX®), 88% (STAYKIL®), 81% (ACCLAIM®), et 77% (TIQUANIS®).

3.3. Activité préventive sur les puces adultes (essai 3)

Table des résultats en Annexe 6.

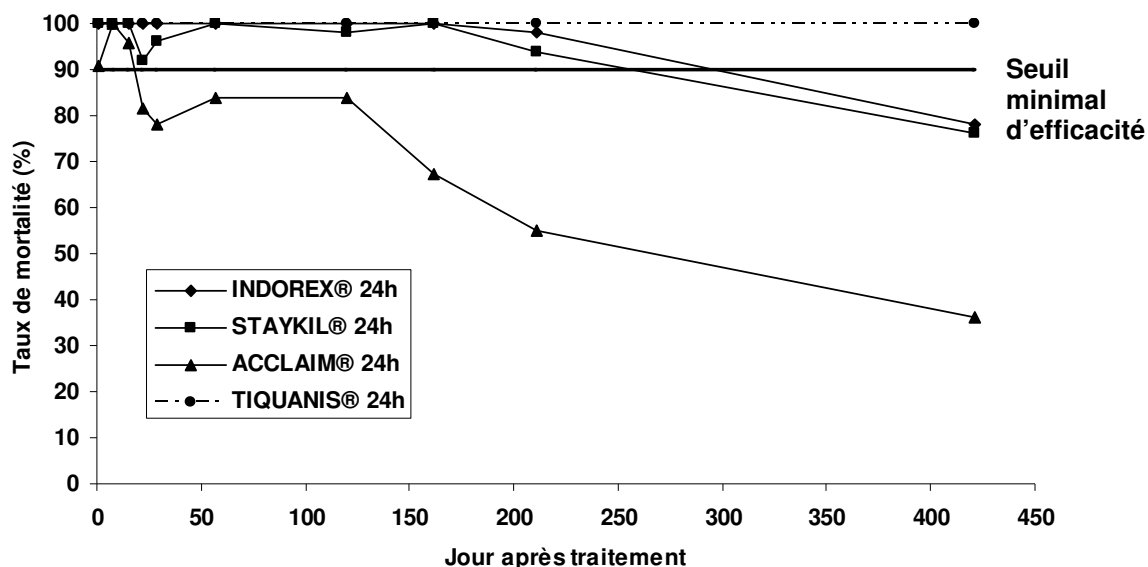


Figure 29 : Rémanence de l'effet létal (après un temps de contact de 24h) d'une moquette traitée par quatre spécialités (INDOREX®, $C_{pm}=231,70 \text{ mg/m}^2$; STAYKIL®, $C_{pm}=134,58 \text{ mg/m}^2$; ACCLAIM®, $C_{pm}=75,01 \text{ mg/m}^2$; et TIQUANIS®, $C_{pm}=147,24 \text{ mg/m}^2$)

A durée de vaporisation identique pour les quatre aérosols (1s), TIQUANIS® ($C_{pm}=147,24 \text{ mg/m}^2$) possède la rémanence la plus longue (100% pendant 420j). INDOREX® ($C_{pm}=231,70 \text{ mg/m}^2$) et STAYKIL® ($C_{pm}=134,58 \text{ mg/m}^2$) ont une rémanence de 210j avec respectivement une efficacité de 98 et 94% à 24h après contact. ACCLAIM® ($C_{pm}=75,01 \text{ mg/m}^2$) a une efficacité de courte durée de 14j (96%).

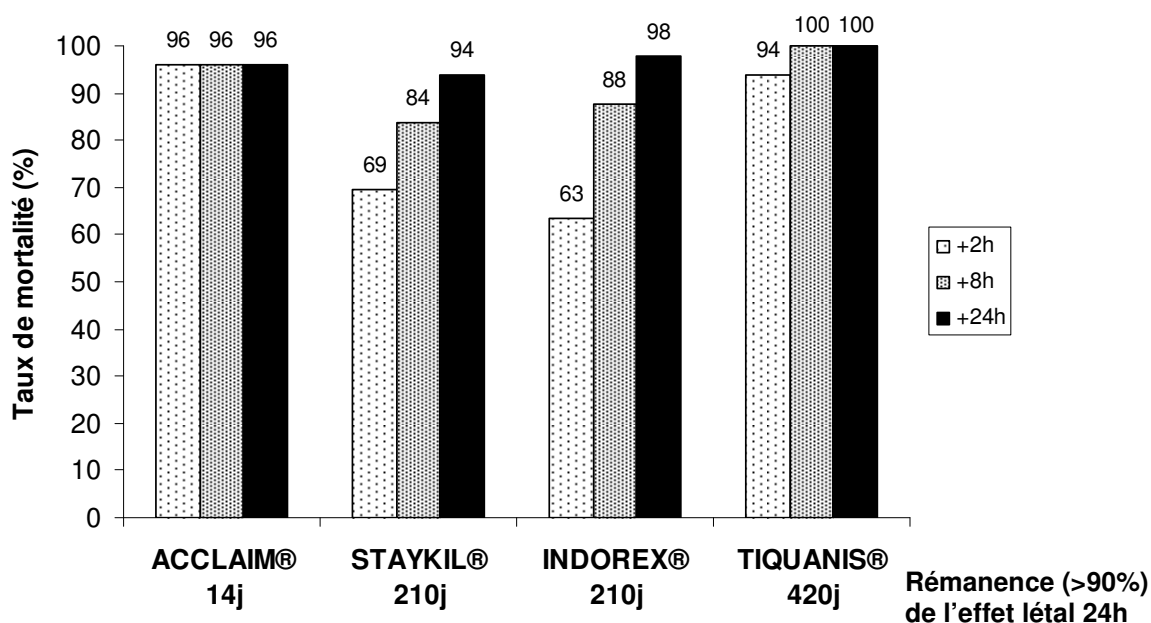


Figure 30 : Comparaison des effets knock-down et létal des quatre aérosols (INDOREX®, $C_{pm}=231,70 \text{ mg/m}^2$; STAYKIL®, $C_{pm}=134,58 \text{ mg/m}^2$; ACCLAIM®, $C_{pm}=75,01 \text{ mg/m}^2$; et TIQUANIS®, $C_{pm}=147,24 \text{ mg/m}^2$) sur une moquette traitée en fonction de la rémanence (>90%), 24h après dépôt des puces.

Le taux de mortalité des puces augmente avec le temps de contact (2h, 8h, 24h) pour trois des quatre aérosols. On peut en conclure que l'efficacité est dose-dépendante. Dans ce cas, plus le temps de contact augmente, plus la dose de perméthrine absorbée par la puce est importante (WOUTERS 1978).

3.4. Activité préventive sur les stades juvéniles (essai 4)

Table des résultats en Annexe 8.

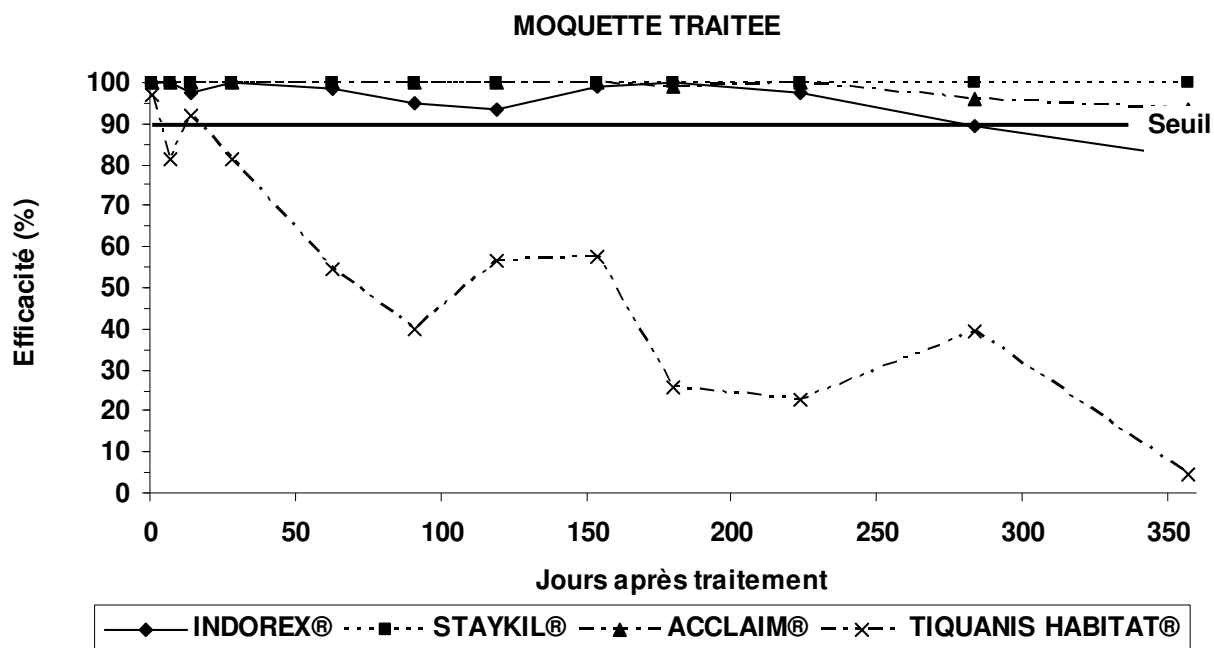


Figure 31 : Rémanence de l'activité IGR de moquettes traitées sans autre agression (témoins positifs) par quatre spécialités (INDOREX®, $C_{\text{Pyriproxyfène}}=1,47 \text{ mg/m}^2$; STAYKIL®, $C_{\text{Cyromazine}}=288,92 \text{ mg/m}^2$; ACCLAIM®, $C_{\text{Méthoprène}}=3,43 \text{ mg/m}^2$; et TIQUANIS®, $C_{\text{Flufénoxuron}}=1,30 \text{ mg/m}^2$)

L'analyse statistique ANOVA multiparamétrique (test de student) révèle que l'essai 4 est soumis à l'influence de l'effet antiparasitaire du traitement et de l'effet produit mais il n'existe pas d'effet temps influençant les résultats.

Jusqu'à 91 jours, quelque soit l'antiparasitaire, l'effet antiparasitaire du traitement est significatif par rapport à l'absence de traitement (Contrôle). Pour TIQUANIS®, dès 119j, l'effet antiparasitaire n'est plus significatif par rapport à l'absence de traitement alors que, pour les trois autres produits, l'effet antiparasitaire reste significatif jusqu'à 347j.

Concernant l'effet temps, on observe qu'INDOREX® est efficace jusqu'à 224j (pas d'effet temps). L'efficacité minimale souhaitée (EMS >90%) obtenue jusqu'au 224j n'est plus vraie au-delà. Par contre, la légère diminution de l'effet antiparasitaire dès 91j n'est pas significative. STAYKIL® a un effet antiparasitaire maximal (100%) quelque soit le temps. ACCLAIM® a un effet antiparasitaire maximal (100%) et une efficacité minimale souhaitée >90% constants quelque soit le temps jusqu'à 224j puis au-delà de 224j, l'effet antiparasitaire et l'EMS >90% diminue de façon non significative par rapport aux temps J0 et J224. TIQUANIS® diminue en fonction du temps (J1 : 96,9% à J357 : 4,32%). Dès J91, TIQUANIS® a un effet antiparasitaire qui décroît significativement par rapport à l'effet initial

(J1) (J63 à J357 vs. J1 : $p < 0,05$). L'efficacité diminue significativement de J91 (40,1%) à J224 (22,7%) et au-delà (4,32%). Cependant, l'efficacité chute en dessous de 90% dès J28 (81,6%).

Quelque soit le temps considéré, les effets d'INDOREX®, STAYKIL® et ACCLAIM® ne sont pas statistiquement différents entre eux. Par contre, l'effet de TIQUANIS® est significativement inférieur ($p < 0,05$) à ceux d'INDOREX®, STAYKIL® ou ACCLAIM® jusqu'à J357.

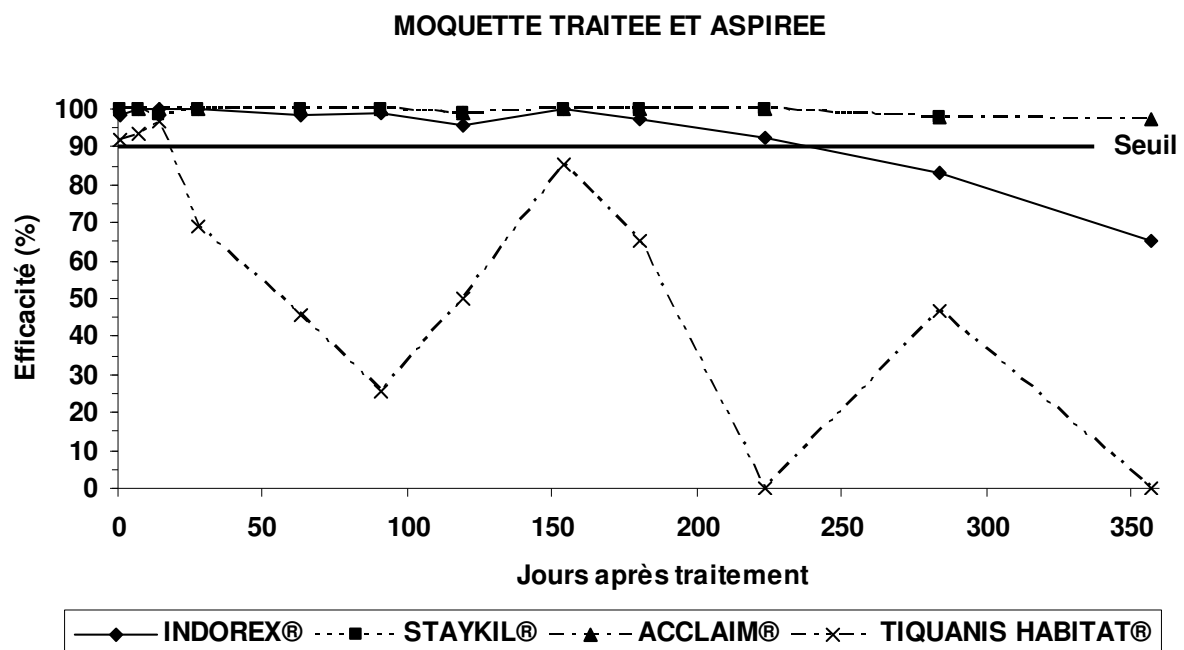


Figure 32 : Rémanence de l'activité IGR de moquettes traitées par quatre spécialités (INDOREX®, $C_{\text{Pyriproxyfène}}=1,47 \text{ mg/m}^2$; STAYKIL®, $C_{\text{Cyrromazine}}=288,92 \text{ mg/m}^2$; ACCLAIM®, $C_{\text{Méthoprene}}=3,43 \text{ mg/m}^2$; et TIQUANIS®, $C_{\text{Flufénoxuron}}=1,30 \text{ mg/m}^2$) et aspirées

L'analyse statistique ANOVA multiparamétrique (test de student) révèle que l'essai 4 avec aspiration est soumis à l'influence de l'effet antiparasitaire du traitement et de l'effet produit, mais il n'existe pas d'effet temps influençant les résultats. Enfin, il n'y a pas de différence entre les résultats des moquettes aspirées par rapport à celles non aspirées du Contrôle.

Pour tous les temps considérés, INDOREX®, STAYKIL® et ACCLAIM® ont une effet antiparasitaire significatif par rapport à l'absence de traitement (Contrôle). Pour TIQUANIS®, dès 119j, l'effet antiparasitaire n'est plus significatif à J63 et J91.

L'analyse en fonction du temps révèle qu'INDOREX® est stable jusqu'à 224j. L'efficacité minimale souhaitée ($EMS > 90\%$) obtenue jusqu'au 224j décline lentement mais n'est pas significativement différente. STAYKIL® et ACCLAIM® restent stables et efficaces quelque soit le temps ($> 90\%$ jusqu'à J357) bien qu'à J284 et J357, l'efficacité diminue légèrement. TIQUANIS® décroît significativement au cours du temps (J49 vs J1 et J224 vs J1 : $p < 0,05$, J28 vs J91/J119/J224 : $p < 0,05$) avec une perte d'efficacité ($< 90\%$) dès le 21^{ème} jour.

L'effet de TIQUANIS® est significativement inférieur ($p < 0,05$) à ceux d'INDOREX®, STAYKIL® ou ACCLAIM® (T vs I/S/A : $p < 0,05$ sauf à J154) alors que les effets des produits INDOREX®, STAYKIL® et ACCLAIM® sont statistiquement équivalents.

Enfin, on notera que l'aspiration de la moquette traitée ne modifie pas de façon significative les effets des quatre produits.

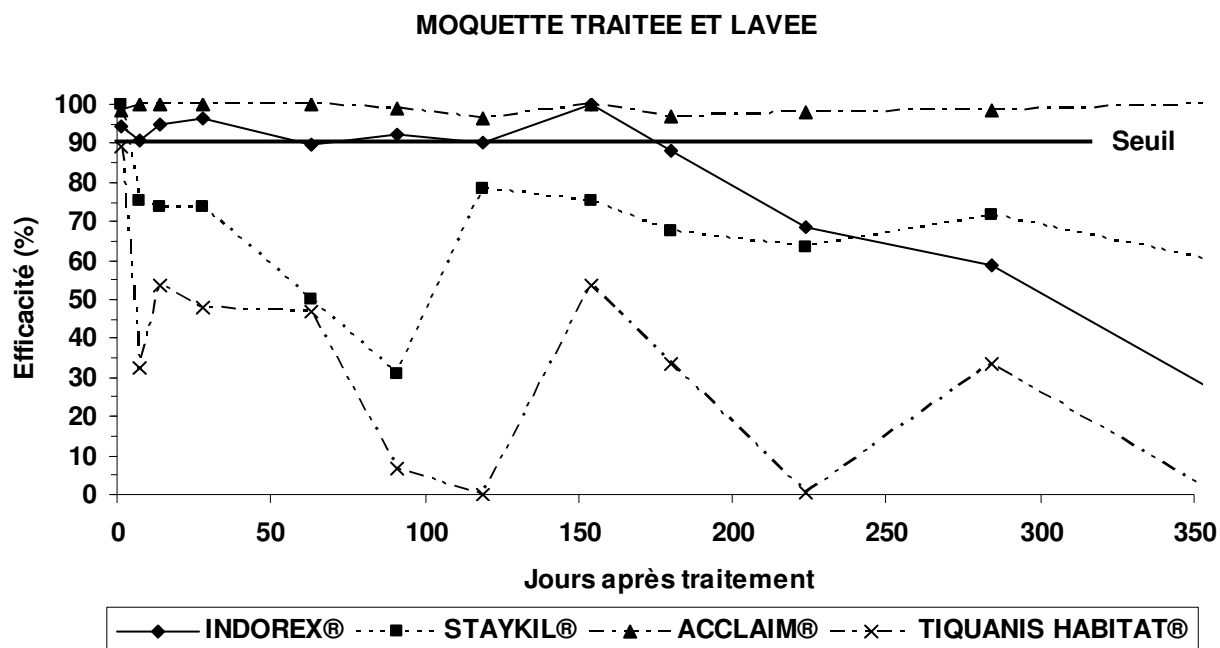


Figure 33 : Rémanence de l'activité IGR de moquettes traitées par quatre spécialités (INDOREX®, $C_{\text{Pyriproxyfène}}=1,47 \text{ mg/m}^2$; STAYKIL®, $C_{\text{Cyromazine}}=288,92 \text{ mg/m}^2$; ACCLAIM®, $C_{\text{Méthoprene}}=3,43 \text{ mg/m}^2$; et TIQUANIS®, $C_{\text{Flufénoxuron}}=1,30 \text{ mg/m}^2$) et shampooinées

L'analyse statistique ANOVA multiparamétrique (test de student) révèle que l'essai 4 avec lavage au shampooing est soumis à l'influence de l'effet antiparasitaire du traitement, de l'effet produit, de l'effet temps. Il n'y a pas de différence entre les résultats des moquettes lavées par rapport à celles non lavées du Contrôle.

Pour tous les temps considérés, INDOREX®, et ACCLAIM® ont une effet antiparasitaire significatif par rapport à l'absence de traitement (Contrôle). Pour STAYKIL® et TIQUANIS®, l'effet antiparasitaire est non significatif respectivement aux temps J63, J91, J180, J224 et J7, J63, J91, J119, J180, J224.

L'analyse révèle que l'effet temps est non significatif sur ACCLAIM® malgré quelques fluctuations (96,3% à 100%) et reste efficace (>90%) pendant les 357j. INDOREX® n'est pas significativement soumis à l'effet du temps mais on observe une tendance à décroître au cours du temps (EMS : 94,3%, J1 à 29%, J357). Cependant, l'efficacité minimale souhaitée (EMS >90%) reste satisfaite pendant 154 jours. STAYKIL® est statistiquement influencé par le temps. Il décroît de façon significative (J1 vs J14, J28, J91, J154, J180 : $p < 0,05$) avec perte de l'effet antiparasitaire par rapport au Contrôle à J63 et J91 (J91 : 32,1%) puis on observe une inflexion courbe et lente décroissante au cours du temps (78,6% à 61,4%). L'efficacité minimale souhaitée (>90%) n'est plus satisfaite dès le 7^{ème} jour. TIQUANIS® décroît significativement au cours du temps (de J7 à J357) malgré de grandes fluctuations (valeurs hautes à J28, J154 et J284). L'EMS (>90%) n'est cependant jamais réalisée où dès J1 elle est inférieure à 90% (89,4%).

L'analyse montre qu'ACCLAIM® et INDOREX® ont des effets comparables en fonction du temps et que STAYKIL® et TIQUANIS® ont aussi des effets globalement similaires sauf que l'effet de TIQUANIS® est inférieur à l'effet de STAYKIL®. ACCLAIM® a un effet significativement supérieur à STAYKIL® et TIQUANIS®. INDOREX® est statistiquement différent de TIQUANIS® à J119 et J154.

Par contre, il n'y a pas de différence statistique entre les effets de STAYKIL® et INDOREX® bien qu'ils appartiennent à deux familles d'IGR différentes.

Enfin, on notera que le lavage n'a pas d'effet sur ACCLAIM® et INDOREX® en comparaison avec les résultats des moquettes simplement traitées (témoins positifs). Par contre, STAYKIL® et TIQUANIS® sont significativement influencés par l'effet du lavage.

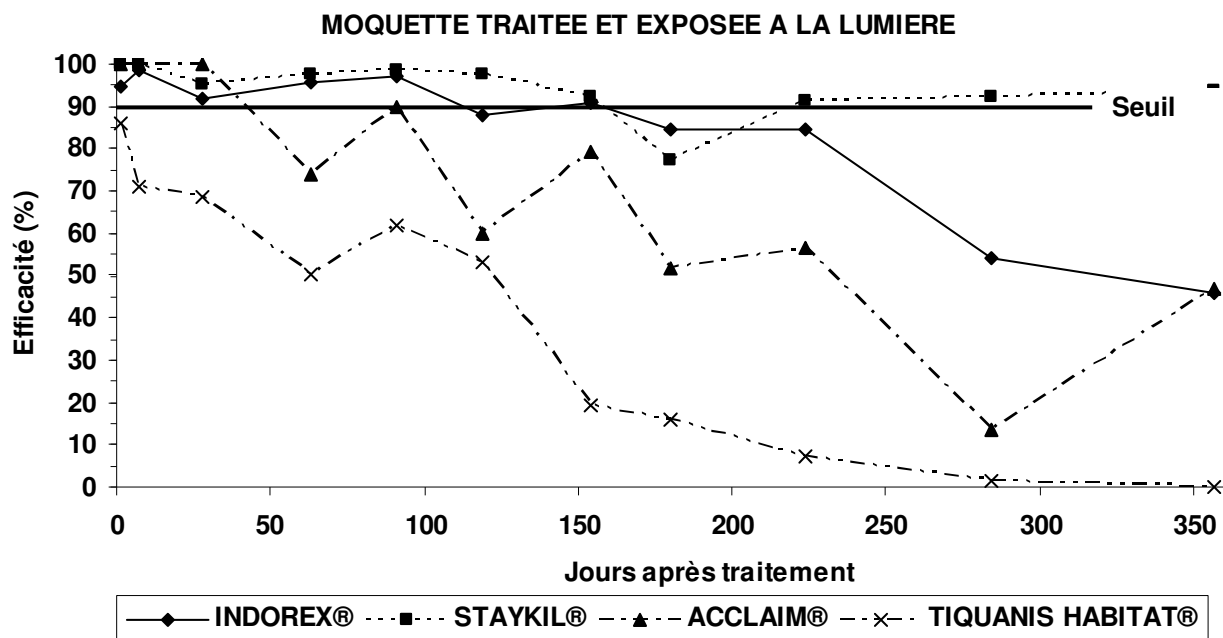


Figure 34 : Rémanence de l'activité IGR de moquettes traitées par quatre spécialités (INDOREX®, $C_{\text{Pyriproxyfène}}=1,47 \text{ mg/m}^2$; STAYKIL®, $C_{\text{Cyromazine}}=288,92 \text{ mg/m}^2$; ACCLAIM®, $C_{\text{Méthoprène}}=3,43 \text{ mg/m}^2$; et TIQUANIS®, $C_{\text{Flufénoxuron}}=1,30 \text{ mg/m}^2$) et exposées à la lumière

L'analyse statistique ANOVA multiparamétrique (test de student) révèle que l'essai 4 avec exposition lumineuse est soumis à l'influence de l'effet antiparasitaire du traitement, de l'effet temps, et de l'effet produit (STAYKIL® >> INDOREX® >> ACCLAIM® > TIQUANIS®). Il n'y a pas de différence entre les résultats des moquettes exposées par rapport à celles non exposées du Contrôle.

Les quatre produits ont un effet antiparasitaire significatif par rapport au Contrôle (absence de traitement) jusqu'au 154^{ème} jour pour TIQUANIS®, 180^{ème} jour pour ACCLAIM®, 284^{ème} jour pour STAYKIL® et jusqu'au 357^{ème} jour pour INDOREX® ($p < 0,05$).

L'effet antiparasitaire d'INDOREX® diminue de façon significative uniquement aux temps J284 et J357. INDOREX® conserve une EMS (>90%) avec quelques variations jusqu'au 154^{ème} jour puis diminue jusqu'à 46,1% (J357). STAYKIL® montre un effet antiparasitaire qui chute significativement à J180 par rapport à J1 avec une efficacité de 77,4% mais l'efficacité légèrement fluctuante reste globalement supérieure à 90% pendant 357 jours. On observe pour ACCLAIM® de grandes variations de la courbe où l'effet antiparasitaire diminue de façon significative par rapport à J1 aux temps J63, J119, J180, J224, J284, J357. L'EMS (>90%) d'ACCLAIM® est maintenue pendant 63 jours puis elle chute à 13,6% à J284. TIQUANIS® a un effet antiparasitaire qui diminue significativement à partir de J63 comparé à J1. L'efficacité de TIQUANIS® est inférieure à 90% dès le 1^{er} jour de traitement (86,4%) puis chute considérablement jusqu'à 0% à J357.

Pour tous les temps considérés, les effets antiparasitaires d'INDOREX® ne sont pas statistiquement différents d'ACCLAIM® et de STAYKIL®. Par contre, TIQUANIS® a montré un effet antiparasitaire significativement plus faible qu'INDOREX® jusqu'à J357 et que STAYKIL® jusqu'à J284. Dès J63, les effets antiparasitaires de TIQUANIS® et d'ACCLAIM® ne sont plus statistiquement différents.

Enfin, l'exposition lumineuse a un effet significatif sur la moquette traitée par ACCLAIM® dès J63 et STAYKIL® dès J180 (quelques fluctuations) en comparaison des moquettes seulement traitées.

4. Discussion

4.1. *Interprétation des résultats*

4.1.1. **Traitement curatif**

Lors d'un traitement curatif d'une moquette infestée de larves et de puces émergées, les résultats des essais 1 et 2 révèlent que les quatre aérosols ont une efficacité satisfaisante sur les puces (91% à 100%) et sur les larves présentes dans la moquette (arrêt d'émergence passé la fenêtre pupale). Les quatre aérosols ne sont pas statistiquement différents.

Lors du traitement curatif d'une moquette infestée de puces émergées (essai 1), des variations de concentrations en perméthrine sur la moquette (mg/m^2) sont observées pour un temps d'exposition identique. Ces variations sont dues aux différences de concentrations et de débits de vaporisation des aérosols, notamment pour l'aérosol ACCLAIM® qui a un débit nettement inférieur aux trois autres (voir calculs de débit de vaporisation des aérosols). Cela explique les résultats légèrement inférieurs (91 à 94%) d'ACCLAIM® par rapport aux trois autres aérosols.

Lors du traitement curatif d'une moquette infestée par les stades juvéniles de la puce (essai 2), des puces continuent à émerger pendant quelques jours. Cela peut s'expliquer de plusieurs manières. Tout d'abord, la perméthrine ne tue que partiellement les nymphes et puces adultes pré-émergées en latence dans les cocons (MILLER 2000). Or, les IGR ne sont pas actifs sur ces deux stades du cycle ce qui explique la sortie de quelques puces non atteintes par les antiparasitaires. Enfin, les brins de moquette protègent partiellement les parasites par rapport à un support lisse (cf. valeurs d'efficacité des principes actifs selon les supports). De même, la moquette bouclée utilisée dans l'étude protège plus les éléments parasitaires qu'une moquette saxony (MILLER 2000). L'ensemble de ces facteurs concourent à l'émergence de quelques puces après le traitement mais n'est pas la conséquence d'une inefficacité du traitement. Ce phénomène s'appelle la fenêtre pupale.

La durée de la fenêtre pupale chez TIQUANIS® (22 jours) correspond à un cycle complet dans les conditions optimales d'élevage. On peut émettre l'hypothèse que des œufs ont pu poursuivre leur développement en adulte ; soit certains œufs et larves ont été épargnés par l'IGR, soit la concentration en flufenoxuron ($1,30 \text{ mg/m}^2$) est insuffisante pour obtenir un effet larvicide satisfaisant, soit l'IGR n'a pas atteint suffisamment sa cible à cause d'un débit de vaporisation irrégulier dû à la valve à libération quantifiée (observations faites lors des tests de calcul de débit de vaporisation). On a observé que le débit de vaporisation varie entre le début et la fin de la pulvérisation.

Ces résultats montrent toute la difficulté des principes actifs à tuer les larves imbriquées à la base des brins de moquette (BYRON 1987, MILLER 2000). La nature de la moquette, son épaisseur et la force d'expulsion de l'aérosol influencent les résultats des traitements. A chaque aérosol correspondent une force d'expulsion, un débit, une hauteur et un temps de vaporisation qu'il convient de respecter (BYRON 1987).

4.1.2. Traitement préventif

L'action préventive du traitement de la moquette est assurée pendant plusieurs mois (7 à 14 mois) contre l'émergence de nouvelles puces (essai 3) pour INDOREX®, STAYKIL® et TIQUANIS® alors qu'ACCLAIM® n'a une rémanence insecticide que de 2 semaines. Cela peut s'expliquer par la faible concentration en perméthrine ($C_{pm}=75,01 \text{ mg/m}^2$). A durée de traitement égal, ACCLAIM® projette moins de principes actifs que les 3 autres aérosols. TIQUANIS® a la rémanence la plus longue (420j) avec une concentration en perméthrine moyenne ($C_{pm}=147,24 \text{ mg/m}^2$). On peut penser que le rapport en isomères cis/trans est plus élevé que pour INDOREX® et STAYKIL® ce qui lui octroie une efficacité supérieure. On observe que deux stratégies différentes sont utilisées ici pour lutter contre les puces adultes où TIQUANIS® mise sur une concentration élevée en perméthrine ($C_{pm}=147,24 \text{ mg/m}^2$) à l'origine d'une efficacité de longue durée (420j) et ACCLAIM® sur une concentration faible en perméthrine ($C_{pm}=75,01 \text{ mg/m}^2$) à l'origine d'une efficacité de courte durée (14j).

Le traitement préventif de la moquette par les IGR permet de lutter efficacement contre le développement des œufs et larves de puces (essai 4) pendant plusieurs mois (7 à 12 mois) pour INDOREX®, STAYKIL® et ACCLAIM® (non différents statistiquement). La rémanence (7 mois) du traitement à base de pyriproxifène (INDOREX® 0,02%, $C_{\text{Pyriproxifène}}=1,47 \text{ mg/m}^2$) est supérieure à celle (3 mois) obtenue sur moquette grâce à un traitement de pyriproxifène à 0,025% (HINKLE 1992) mais inférieure au 12 mois de protection annoncée pour une moquette traitée à 0,2 mg/m² de pyriproxifène (KAWADA 1996). ACCLAIM® à base de méthoprène (0,09%, $C_{\text{Méthoprène}}=3,43 \text{ mg/m}^2$) a une rémanence de 12 mois. De précédentes études annonçaient 7 mois pour une moquette traitée à 0,075% (HINKLE 1992) et également 12 mois à a concentration de 1 mg/m² (KAWADA 1996).

TIQUANIS® a révélé une efficacité insuffisante à la concentration en flufénoxuron de 1,30 mg/m². Ces résultats ne sont pas en accord avec les indications annoncées par le laboratoire VETOQUINOL (4 mois) et les résultats d'une autre étude précédemment réalisée (FRANC 1998a). Par conséquent, ils ne seront pas exploités ici. Le flufénoxuron a probablement été sous-dosé dans cet essai malgré les précautions prises pour être dans le même ordre de grandeur que les autres aérosols. L'hypothèse d'un équilibrage en perméthrine/IGR différent des autres aérosols est donc avancée. On peut penser que l'absence d'indication pour l'application du traitement (durée ou surface de traitement) est préjudiciable à l'efficacité du produit. Rien n'indique à l'utilisateur la quantité de produit à pulvériser.

Les agressions ménagères qui peuvent être appliquées à une moquette traitée révèlent de grandes variations de résultats.

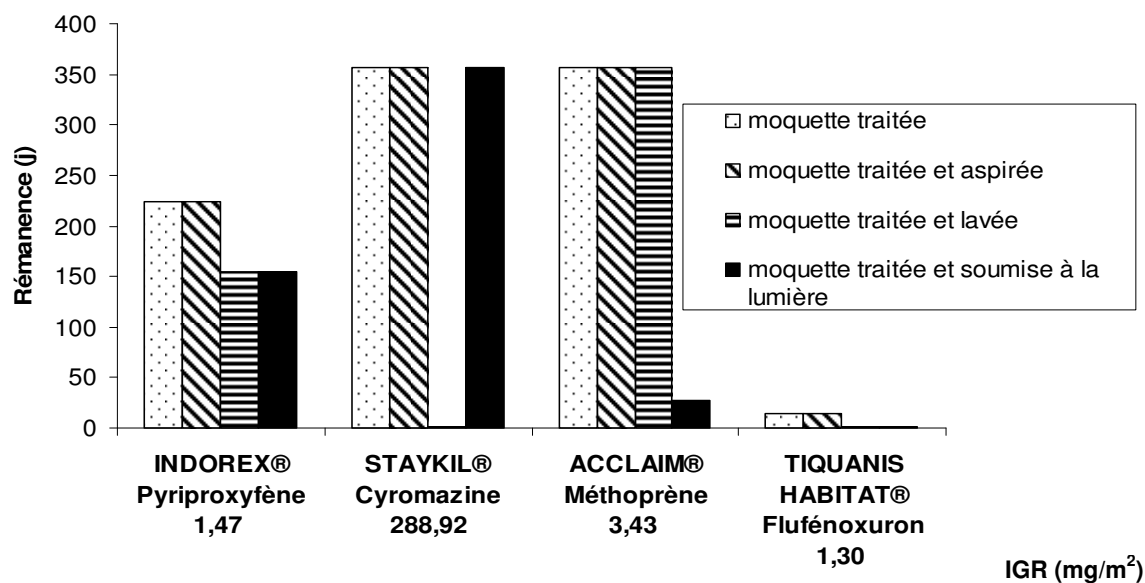


Figure 35 : Rémanence (>90%) de l'activité IGR d'une moquette traitée par quatre spécialités (INDOREX®, $C_{\text{Pyriproxyfène}}=1,47 \text{ mg/m}^2$; STAYKIL®, $C_{\text{Cyromazine}}=288,92 \text{ mg/m}^2$; ACCLAIM®, $C_{\text{Méthoprène}}=3,43 \text{ mg/m}^2$; et TIQUANIS®, $C_{\text{Flufénoxuron}}=1,30 \text{ mg/m}^2$) sans facteur d'agression environnementale (témoin positif), aspirée, lavée ou exposée à la lumière.

INDOREX® est globalement le produit qui résiste le mieux aux agressions ménagères. Il a une sensibilité moyenne au lavage et à la lumière ce qui confirme les études réalisées sur le pyriproxyfène (ROBERTS 1999). STAYKIL® est surtout très sensible au lavage et résistant à la lumière. En effet, la cyromazine n'est pas dégradée par la lumière (ROBERTS 1999). Par contre, les tensioactifs du shampoing (marque Hagerty) qui n'ont pas d'effet sur le développement larvaire sont très agressifs pour la cyromazine. La grande photosensibilité du méthoprène (ROBERTS 1999, [103]) explique la faible résistance d'ACCLAIM® à la lumière alors qu'il résiste bien au lavage. Dans un milieu extérieur exposé au soleil, le méthoprène (0,008%) tue totalement les puces en pendant un seul jour alors que le pyriproxyfène (0,016%) conserve son activité pendant 11 mois (HINKLE 1992).

L'aspirateur est très utile avant traitement pour réduire le nombre d'œufs et de larves présents dans la moquette (BYRON 1987). Après traitement, il n'influe pas sur les performances des aérosols. Ces résultats corroborent ceux précédemment obtenus montrant que l'aspirateur n'affecte pas de façon significative l'activité des insecticides contre les puces (RUST 1988). Ces résultats sont intéressants car l'aspirateur est l'appareil ménager le plus utilisé pour nettoyer la moquette.

Le lavage a un effet très variable sur les produits et dépend des propriétés chimiques des molécules. Le lavage de moquette est peu fréquent en pratique mais il est tellement agressif pour STAYKIL® qu'il est conseillé de retraiter la zone lavée après. Ceci confirme la précédente étude qui annonçait une réduction de 30 et 93% de l'activité d'une moquette traitée au diazinon et bendiocarb encapsulé suite à un shampoing de moquette (RUST 1988).

La lumière a un effet préjudiciable sur les analogues de l'hormone juvénile mais il doit être relativisé. Une moquette exposée à la lumière est certes un lieu privilégié de couchage des animaux. Les animaux aiment se coucher et se chauffer au soleil mais les conditions du milieu (température élevée, hygrométrie faible) ne sont pas très favorables au développement des formes larvaires. Par

conséquent, peu d'œufs évoluent à cet endroit (BYRON 1987). La chute d'activité des IGR dans ces conditions a donc une importance moindre dans le contrôle des puces.

Les variations d'efficacité en fonction des facteurs d'agressions du milieu domestique montrent que malgré le traitement anti-puce de la moquette, il peut perdurer des zones de faible contrôle des puces qui peuvent être à l'origine d'un redémarrage du cycle.

Ces essais ont montré la difficulté de traiter de façon efficace et homogène l'environnement domestique. On peut penser que l'utilisateur a plutôt tendance à passer plusieurs fois au même endroit et à insister sur les endroits très infestés bien qu'on ait démontré qu'un seul passage suffisait pour traiter efficacement la moquette. Ceci a pour conséquence de renforcer l'efficacité et de restreindre l'influence des agressions ménagères.

On note également l'importance du débit de pulvérisation des aérosols et la force de la pression de ceux-ci dans la dose libérée de principes actifs et la pénétration du support traité. Des études démontrent qu'à chaque pression des gaz propulseurs d'un aérosol correspond une hauteur de vaporisation pour obtenir une concentration efficace optimale (BYRON 1987). Compte tenu de la position des larves et pupes dans une moquette en laine bouclée (BYRON 1987, MILLER 2000), le respect de cette hauteur et le type d'aérosol sont à prendre en compte pour une activité efficace du produit.

L'importance du choix des principes actifs et du conditionnement a été démontrée dans nos essais. On a pu apprécier aussi la facilité d'utilisation des aérosols. On observe deux types d'aérosols : l'un à valve à libération continue (INDOREX®, STAYKIL® et ACCLAIM®) et vaporisation verticale, tête en bas, l'autre à libération quantifiée (TIQUANIS®) et vaporisation inclinée, tête en haut. Dans la pratique, le premier type de vaporisation apparaît plus simple d'utilisation et les projections de solution sur les mains est moindre.

La question peut être posée de la durée d'efficacité de la perméthrine lorsque l'on constate les deux stratégies différentes entre TIQUANIS® (longue rémanence) et ACCLAIM® (rémanence courte). La perméthrine a un intérêt majeur dans l'action curative des puces présentes dans l'environnement puisque l'IGR a une action sur les larves présentes et à venir. Mais, les zones de moindre efficacité des IGR par les facteurs d'agressions peuvent justifier l'intérêt de maintenir une longue durée d'activité de l'insecticide.

4.2. Risque d'intoxication à la perméthrine dans l'habitat

L'environnement domestique contient de nombreux produits chimiques polluant les habitations : détergents, formaldéhyde, benzène, amiante, anti-acariens, insecticides etc. (DOR 2004, KUSKE ET NICOLAS 2000). Il a été en effet démontré aux Etats-Unis que la perméthrine, comme d'autres insecticides utilisés dans la lutte contre les puces, persiste dans les poussières des maisons (COLT 2004). Or on sait que l'utilisation de certains pyréthrinoïdes (alléthrine, tétraméthrine), peut être à l'origine de migraine et de troubles du système sympathique (CLASS 1991). La perméthrine, absorbée par voie d'inhalation et de résorption de la peau, se retrouve sous forme de résidus dans le sang et les urines chez les mammifères et l'homme à la suite d'une exposition environnementale (LENG 2003, LENG 2004, RAMESH 2004). La perméthrine est connue pour être allergisante chez l'homme lors d'exposition chronique et élevée (MITSCHE 2000).

Le niveau d'exposition de la perméthrine en traitement de l'environnement est relativement faible et peu être abaissé quand il est associé à un IGR. La concentration de perméthrine en traitement unique de la moquette est de l'ordre de 255 mg/m² (RUST 1988, MILLER 2000). Les concentrations de perméthrine associée à un IGR calculées dans notre étude en respectant les indications des fabricants sont nettement plus faibles (22 à 56 mg/m²). Le manipulateur doit respecter scrupuleusement les indications d'utilisation et les précautions d'usage afin de réduire le risque d'exposition avec les principes actifs. L'étude a montré que le surdosage n'était pas utile car un seul passage de l'aérosol est suffisant pour une protection efficace d'au moins 6 mois. Par conséquent, 1 à 2 traitements annuels suffisent ce qui contribue à diminuer le risque de contact avec les produits toxiques. Le port de gants lors de l'application permet également d'éviter les projections d'aérosols sur les mains notamment avec les aérosols à valve doseuse (type TIQUANIS® HABITAT). Le risque d'intoxication par la perméthrine dans le cas de traitement de l'habitat est donc très faible.

En effet, le lien entre la santé et l'air intérieur demeure extrêmement complexe à établir dans la plupart des cas. La perméthrine comme les divers polluants ménagers paraît souvent difficile à incriminer du fait de sa faible toxicité et du faible degré d'exposition. En l'absence de certitude, des valeurs limites de toxiques ont été fixées en Belgique, en Allemagne et au Grand-Duché du Luxembourg pour les « ambulances vertes ». Les chiffres pour la perméthrine sont de 5 mg/kg pour le tapis et d'1 mg/kg pour la poussière (KUSKE ET NICOLAS 2000). En France, des conseillers indépendants en relation avec des allergologues hospitaliers travaillent également sur le dépistage des polluants ménagers. Diverses méthodes existent pour dépister les polluants dans l'habitat. La technique de chromatographie liquide utilisant l'ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay) (OEPKEMEIER 1999) permet d'évaluer le taux de perméthrine dans l'air ambiant avec une grande sensibilité.

En cas de refus du propriétaire d'utiliser des insecticides environnementaux pour des raisons de santé ou de convictions personnelles, le vétérinaire doit pouvoir proposer des solutions palliatives pour limiter la population de puces. Rappelons d'abord que le traitement de l'environnement s'inscrit dans un plan de lutte intégrée contre les puces. Les mesures générales d'hygiène ont montré leur efficacité en matière de limitation des puces : les bains et peignages des animaux, les pièges à puces et le passage régulier d'aspirateur (HICKMAN 2003). Un traitement répulsif à base d'huiles essentielles de citron (CITROSIL®, laboratoire DOLISOS) (DMV 2005) contribue aussi à faire fuir les puces.

Des propriétaires soucieux de ne pas utiliser d'insecticides peuvent faire la demande d'un médaillon métallique à champ magnétique, appelé CATANDOG® (en vente en Hollande, USA et Australie, mais non en France). Les informations sur ce produit sont consultables en ligne et la commande est possible [20]. Le site internet annonce un contrôle des puces et des tiques grâce aux propriétés répulsives et limitatives des populations d'arthropodes des chiens et chats de CATANDOG®. Or il a été démontré que CATANDOG® n'avait pas d'effet significatif sur la production d'œufs, sur la viabilité des œufs et sur les puces adultes infestant les chats (DRYDEN 2000). L'accès illimité à tout type d'informations plus ou moins fiables sur le net modifie aujourd'hui la demande des propriétaires qui sont de plus en plus informés et deviennent de plus en plus exigeants. En conséquence, le vétérinaire doit se tenir informé et être en mesure de répondre aux exigences des propriétaires qui se multiplient.

Quoi qu'il en soit, lors d'infestation massive, il est difficile d'éradiquer les puces issues de l'environnement sans traitement chimique.

4.3. Notion de lutte intégrée

D'après FRANC 2004

Le traitement de l'environnement peut être employé seul ou associé à une démarche globale de lutte contre les puces. La lutte intégrée vise l'ensemble des stades évolutifs de la puce sur l'animal et dans son environnement. Trois fronts d'attaques sont possibles pour traiter une pulicose :

1. Le traitement insecticide sur l'animal,
2. Le contrôle de la reproduction des puces sur l'animal,
3. Le traitement de l'environnement.

4.3.1. Traitement insecticide sur l'animal

L'insecticide permet l'élimination rapide des puces présentes sur l'animal, prévient de nouvelles piqûres et protège l'animal atteint de DAPP contre de nouvelles infestations.

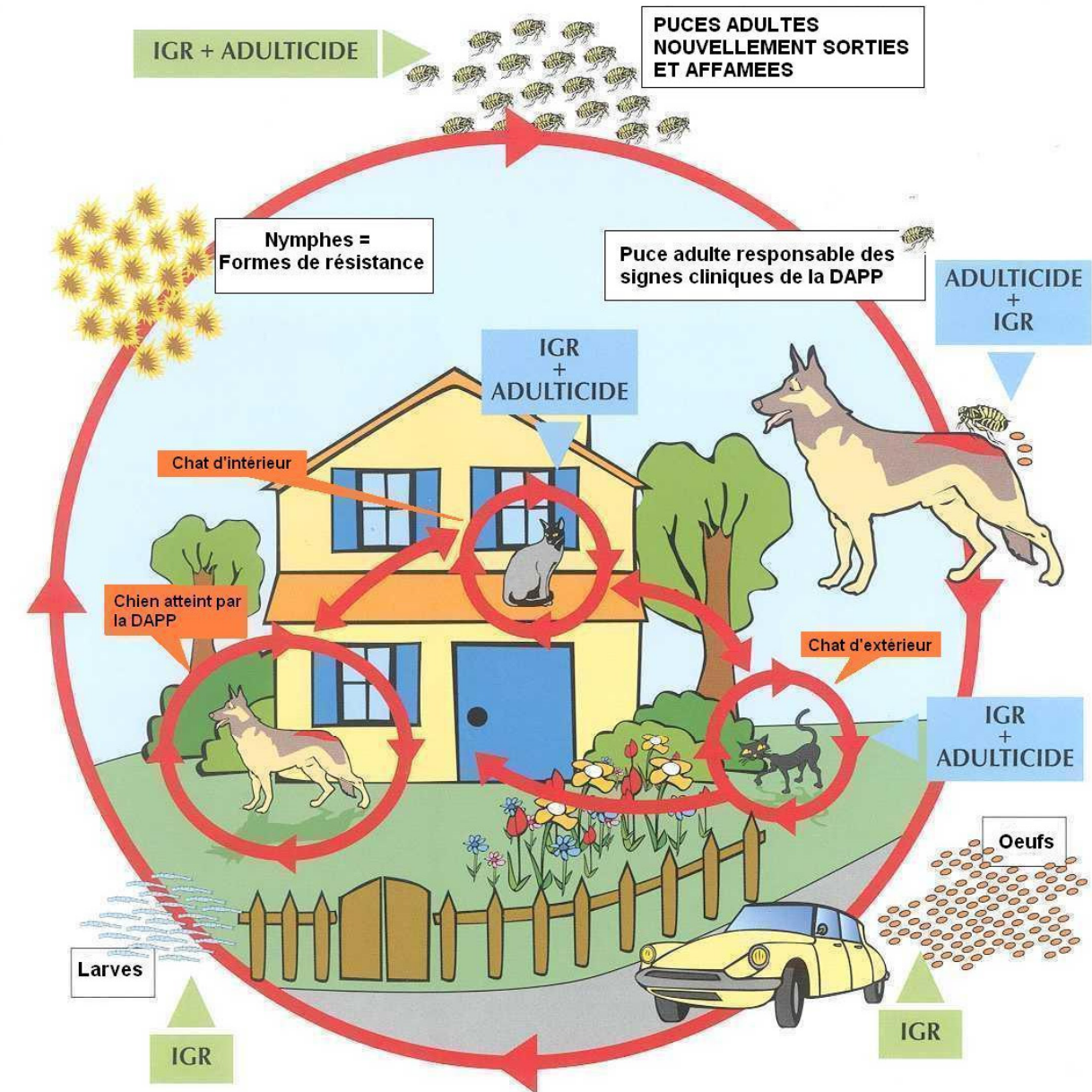
4.3.2. Contrôle de la reproduction des puces

Le contrôle de la reproduction des puces peut être réalisée par l'application répétée d'adulticides mais avec un risque de sélection de puces résistantes lors d'utilisation de produits de la même famille. L'administration d'IGR par voie locale ou systémique empêche l'évolution des œufs pondus par les puces présentes sur l'animal traité. Les deux produits, insecticide et IGR, peuvent être associés afin de réduire le risque de résistances et de prolonger l'action sur les œufs quand l'insecticide n'est plus efficace.

4.3.3. Traitement de l'environnement

L'éradication des œufs, larves et adultes dans l'environnement permet de diminuer rapidement la pression parasitaire et de contrôler la principale source de contamination.

Un plan de lutte intégrée implique un traitement de tous les animaux du foyer et demande, de la part des propriétaires, un respect strict du programme pendant plusieurs mois. L'infestation massive des animaux et de l'habitat et un animal atteint de DAPP sont des indications de choix. De nombreuses formulations et principes actifs existent afin que le vétérinaire propose un traitement adapté à l'animal, à son mode de vie, à son environnement et à la demande du propriétaire en matière de facilité d'emploi et de coût.



TRAITEMENT DE L'ANIMAL:
 AEROSOLS, SPOT-ON, LINE-ON: Adulticide seul ou associé à un IGR,
 INJECTABLE, COMPRIMES: Adulticide ou IGR

TRAITEMENT DE L'ENVIRONNEMENT:
 AEROSOLS ET DIFFUSEURS: IGR seul ou associé à Adulticide

N.B. Les IGR donnés aux animaux contribuent au traitement de l'environnement



Figure 36 : Adulticides et IGR dans la lutte anti-puce, exemple d'un premier traitement d'attaque (d'après JASMIN P., VIRBAC)

CONCLUSION

Notre étude montre que les quatre aérosols sont tous efficaces mais que des facteurs extérieurs peuvent diminuer la rémanence supposée du traitement. Les différences entre les aérosols sont la durée d'activité qui peut varier notamment en fonction des agressions de l'environnement domestique. Ces informations peuvent aider au choix du traitement.

Cette étude a révélé la complexité d'étudier un produit contenant plusieurs principes actifs aux propriétés différentes agissant sur des stades évolutifs différents. Les essais contrôlés réalisés ont montré la difficulté du respect des indications thérapeutiques de ce type de produit (\times s/m², hauteur de vaporisation). L'importance de la formulation galénique (débit de vaporisation, valve) et du choix des principes actifs (insecticide, IGR, isomères) a été démontrée.

L'étude a nécessité la mise en place de techniques innovantes au sein du laboratoire et l'augmentation de la productivité de l'élevage de puces avec un rendement optimal de 2000 œufs et 800 puces certains jours pour les infestations des pièces de moquettes et de parquet (support également testé mais résultats non présentés dans ce travail).

L'enjeu pour le vétérinaire est donc d'avoir une bonne connaissance du cycle de la puce, et des principes actifs et spécialités existants sur le marché. Il peut ainsi faire les choix thérapeutiques adéquats afin de lutter efficacement contre les puces et informer les propriétaires d'animaux sur les modes et sources de contamination. Les propriétaires, de leur côté, doivent comprendre que cela demande des efforts en terme de limitation des contaminations, d'observance des prescriptions, et de coût afin d'obtenir des résultats satisfaisants du plan de lutte anti-puce.

AGREMENT ADMINISTRATIF

Je soussigné, A. MILON, Directeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, certifie que
Melle FOUGERES Véronique, Marie, Anne a été admis(e) sur concours en : 1996
a obtenu son certificat de fin de scolarité le 16 Juin 2005:
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

Je soussigné, M FRANC Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,
autorise la soutenance de la thèse de :

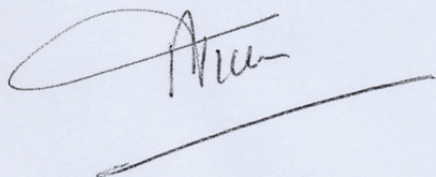
M FOUGERES Véronique, Marie, Anne

intitulée :

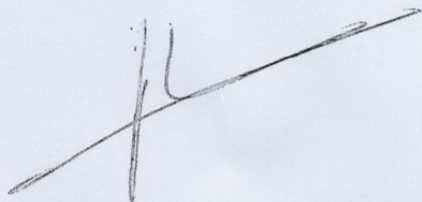
La lutte anti-puce : méthode d'évaluation de traitements de l'environnement domestique à base de perméthrine et d'IGR

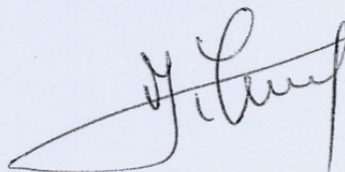
**Le Professeur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Professeur Michel FRANC**

**Vu :
Le Directeur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Professeur Alain MILON**



**Vu :
Le Président de la thèse :
Professeur Jean-Paul SEGUOLA**





**Vu le : 24 NOV. 2006
Le Président
de l'Université Paul Sabatier
Professeur Jean-François SAUTEREAU**






REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. AL-MAJALI A.M. 2004. Seroprevalence of and risk factors for *Bartonella henselae* and *Bartonella quintana* infections among pet cats in Jordan. *Preventive Veterinary Medicine*, **64**, 63-71
2. ARAUJO F.R. et coll. 1998. Severe cat flea infestation of dairy calves in Brazil. *Veterinary Parasitology*, **80**, 83-86
3. BARDT D., SCHEIN E. 1997. Zur Problematik von therapieresistenten Flohpopulationen am Beispiel des Stammes "Cottontail". *Kleintierpraxis*, **41**, 8, 561-566
4. BASS C., SCHROEDER I., TURBERG A., FIELD L.M., WILLIAMSON M.S. 2004. Identification of mutations associated with pyrethroid resistance in the para-type channel sodium channel of the cat flea, *Ctenocephalides felis*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, **34**, 1305-1313
5. BAYOUMI A.E., PEREZ-PERTEJO Y., ZIDAN H.Z., BALANA-FOUCE R., ORDONEZ D. 2003. Cytotoxicity effects of two antimolting insecticides in mammalian CHO-K1 cells. *Ecotoxicology and Environment Safety*, **55**, 1, 19-23
6. BEAUCOURNU J.C., MENIER K. 1998. Le genre *Ctenocephalides*, Stiles et Collins, 1930 (Siphonaptera, Pulicidae). *Parasite*, **5**, 3-16
7. BECK W. PFISTER K. 2004. Recent investigations on the population dynamics of cat fleas (*Ctenocephalides felis*) and the concept of an integrated flea control. *Praktischer Tierarzt*, **85**, 8, 555-563
8. BERESFORD-JONES W.P. 1981. Prevalence of fleas on dogs and cats in an area of central London. *Journal of Small Animal Practice*, **22**, 27-29
9. BERNIT E. et coll. 2003. *Bartonella quintana* and *Mycobacterium tuberculosis* coinfection in an HIV-infected patient with lymphadenitis. *Journal of Infection*, **46**, 244-255
10. BEUGNET F. 2004. Antiparasitaires externes chez les carnivores domestiques. *EMC-Vétérinaire*, **1**, 138-153
11. BICHAT-SETA V. 2002. Produits insecticides destinés à la lutte contre les puces dans l'environnement. Th. : Med. Vet. : Alfort : n°6610-2002-167. 127p
12. **BONNEAU S., FOUGÈRES V., MERCIER P., WACKOWIEZ G. 2000. 25th Congress of World Small Animal Veterinary Association (WSAVA-FECAVA), Amsterdam, Hollande, 25-29 Avril 2000**
13. BOSSARD R.L., BROCE A.B. 2002. Evaluation of glass, nylon fabric and filter paper as substrates in insecticide bioassays of cat fleas (Siphonaptera: Pulicidae). *Journal of Entomological Science*, **37**, 2, 182-192.
14. BYRON D.W. 1987. Aspects of the biology, behavior, bionomics, and control of immature stages of the cat flea *Ctenocephalides felis felis* (Bouché) in the domiciliary environment. Ph.D.: Entomology, Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, VA, 135p
15. CADIERGUES M.-C. 1993. Contribution à l'étude du contrôle des puces chez le chien par un inhibiteur de synthèse de la chitine : le fluphénacur. Th. : Med. Vet. : Toulouse : n°084. 76p
16. CADIERGUES M.-C., HOURCQ P., CANTALOUBE B., FRANC M. 2000a. First bloodmeal of *Ctenocephalides felis felis* (Siphonaptera: Pulicidae) on cats: Time to initiation and duration of feeding. *Journal of Medical Entomology*, **37**, 4, 634-636
17. CADIERGUES M.-C. 2000b. *Ctenocephalides canis* (Curtis, 1826) [Siphonaptera : Pulicidae] : Données épidémiologiques et biologiques. Th. : Sciences Agronomiques : Toulouse, Institut National Polytechnique ; n°1749. 198 p
18. CADIERGUES M.-C., DELOFFRE P., FRANC M. 2000c. Répartition des espèces de puces rencontrées chez le chat en France. *Revue de Médecine Vétérinaire*, **151**, 5, 447-450
19. CAMPICHE S., BECKER-VAN SLOOTEN K., RIDEAU C., TARRADELLAS J. 2005. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **63**, 2, 216-225
20. CATANDOG'S. Page d'accueil. (Consultée le 30 novembre 2005). Adresse URL : <http://www.catandogs.net/english/>
21. CHESNEY C.J. 1995. Species of flea found on cats and dogs in south west England: further evidence of their polyxenous state and implications for flea control. *Veterinary Record*, **136**, 14, 356-358

22. CLARKE B.J., JEWESS P.J. 1990. The inhibition of chitin synthesis in *Spodoptera littoralis* larvae by flufenoxuron, teflubenzuron and diflubenzuron. *Pesticide Science*, **28**, 377-388
23. CLASS T.J., KINTRUP J. 1991. Pyrethroids as household insecticides: analysis, indoor exposure and persistence. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, **340**, 446-453
24. CLEE S.A., CLARKE B.J., JENNER D.W., WILLIAMSON F.A. 1990. Cytochemical effects of the acylureas flufenoxuron and diflubenzuron on the incorporation of chitin into insect cuticle. *Pesticide Science*, **28**, 367-375
25. COLT J.S. et coll. 2004. Comparison of pesticide levels in carpet dust and self-reported pest treatment practices in four US sites. *Journal of Exposure Analysis and Environmental Epidemiology*, **14**, 1, 74-83
26. COMITE FRANÇAIS DES AEROSOLS, Commission Pharmacie. 1991. Préparations pharmaceutiques pressurisées. *S.T.P. Pharma Pratiques*, **1**, 1, 41-50
27. COMMISSION NATIONALE DE PHARMACOVIGILANCE VETERINAIRE. 2003. Avis CNPV-01 sur les mesures à prendre pour faire cesser les effets indésirables des spécialités antiparasitaires externes à base de perméthrine utilisées en « spot-on » chez les carnivores domestiques et rapport d'expertise de pharmacovigilance relatifs à l'avis CNPV-01 du 18/03/2003
28. COWARD P.S. 1991. Fleas in Southern England. *Veterinary Record*, **13**, p 129
29. Cyromazine, Pesticides Residues In Food 1990, Meeting on Pesticides Residues, Toxicological Evaluations. (Page consultée le 6 mai 2006). IPCS INCHEM - Chemical Safety Information from Intergovernmental Organizations. [en ligne]. Adresse URL : <http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v90pr06.htm>
30. Cyromazine. (Page consultée le 20 avril 2006). General Chemical Co., LTD. [en ligne]. Adresse URL: <http://www.generalchem.cn/template/crop/Cyromazine.htm>
31. DEAN S.R., MEOLA R.W. 1997. Effect of juvenile hormone and juvenile hormone mimics on sperm transfer from the testes of the male cat flea (Siphonaptera: Pulicidae). *Journal of Medical Entomology*, **34**, 4, 485-488
32. DEAN S.R., MEOLA R.W., MEOLA S.M., SITTERTZ-BHATKAR H., SCHENKER R. 1999. Mode of action of lufenuron in adult *Ctenocephalides felis* (Siphonaptera: Pulicidae). *Journal of Medical Entomology*, **36**, 4, 486-492
33. DICTIONNAIRE DES MEDICAMENTS VETERINAIRES (DMV). 2005. Antiparasitaires de l'habitat et de l'environnement. Antiparasitaires pour locaux et matériels d'élevage. Editions du Point Vétérinaire, Maisons-Alfort, 13ème Edition, 1765 p, 181, 184
34. DONAHUE Jr W.A., YOUNG R. 1992. Evaluating a synergized pyrethrin/(S)-methoprene spray against feline flea infestations. *Veterinary Medicine*, **87**, 10, 999-1007
35. DONAHUE Jr W.A., YOUNG R. 1996. Assessing the efficacy of (S)-methoprene collars against flea egg hatch on pets. *Veterinary Medicine*, **91**, 11, 1000-1005
36. DOPA A. 1997. Dictionnaire des sciences pharmaceutiques et biologiques. Paris VIII^{ème}, Ed. Louis Pariente, Coll. Académie Nationale de Pharmacie, 523p, 56-57
37. DOR F., ZEGHNOUN A., BROSELIN P. 2004. Estimation de l'exposition des populations aux polluants présents à l'intérieur des habitations. *Institut de Veille Sanitaire. Ed. France-Repro Maisons-Alfort*, 79p
38. DRYDEN M.W. 1989. Host association, on-host longevity and egg production of *Ctenocephalides felis felis*. *Veterinary Parasitology*, **34**, 117-122
39. DRYDEN M.W., GAAFAR S.M. 1991. Blood consumption by the cat flea, *Ctenocephalides felis* (Siphonaptera: Pulicidae). *Journal of Medical Entomology*, **29**, 394-400
40. DRYDEN M.W., GILLARD R. 1995. Biologie de *Ctenocephalides felis felis* et lutte contre les puces du chien et du chat. *Pratique Médicale et Chirurgicale de l'Animal de Compagnie*, **30**, 207-217
41. DRYDEN M.W., PAYNE P.A., SMITH V. 2000. Evaluation of the CatanDog's® tag to prevent flea infestations, inhibit flea reproduction or repel existing flea infestations on cats. *Veterinary Parasitology*, **92**, 303-308

42. DRYDEN M.W., RUST M.K. 1994a. The cat flea: biology, ecology and control. *Veterinary Parasitology*, **52**, 1-19
43. DRYDEN M.W., SMITH V. 1994b. Cat flea cocoon formation and development of naked flea pupae. *Journal of Medical Entomology*, **31**, 2, 272-277
44. ECKSTEIN R.A., HART B.L. 2000. Grooming and control of fleas in cats. *Applied Animal Behaviour Science*, **68**, 141-150
45. EL GAZZAR L.M., KOEHLER P.G., PATTERSON R.S., MILIO J. 1986. Insect growth regulators: mode of action on the cat flea, *Ctenocephalides felis* (Siphonaptera: Pulicidae). *Journal of Medical Entomology*, **23**, 6, 651-654
46. EL GAZZAR L.M., PATTERSON R.S., KOEHLER P.G. 1988. Activity of chitin synthesis inhibitors on the cat flea, *Ctenocephalides felis* Bouché. *Journal of Agricultural Entomology*, **5**, 2, 117-120
47. FAQs : Is Acclaim Safe? (Page consultée le 26 avril 2006). CEVA Santé Animale UK. [en ligne]. Adresse URL : http://www.dap-pheromone.com/corporateukpro.nsf/FO_Menu/7FE84A5DBD8E1660C1256E78004AD1AF?OpenDocument&Expand=8.1.1
48. Flea control. (Page consultée le 4 mai 2006). BUG INFO. [en ligne] Adresse URL : http://www.buginfo.com/articles/flea_cntrl.cfm
49. Flufenoxuron. (Page consultée le 20 avril 2006). Compendium of Pesticide Common Names. [en ligne]. Adresse URL : <http://www.alanwood.net/pesticides/flufenoxuron.html>
50. FRANC M. 1994. Puces et méthodes de lutte. *Revue Scientifique et Technique de l'Office International des Epizooties*, **13**, 4, 1019-1037
51. FRANC M. 1998a. *Ctenocephalides felis* (Bouché, 1835) [Siphonaptera: Pulicidae]: Données épidémiologiques et biologiques. Méthodes d'évaluation des moyens de lutte. Th. : Parasitologie : Toulouse, Université Paul Sabatier ; n° 2974. 289p
52. FRANC M. 2004. Lutter contre les puces dans l'habitat. *Action Vétérinaire*, Supplément, **1686**, 14-17
53. FRANC M., CADIERGUES M.-C. 1995. Utilisation du Lufénuron dans le contrôle des infestations du chien par *Ctenocephalides felis*. *Revue de Médecine Vétérinaire*, **146**, 7, 481-484
54. FRANC M., CADIERGUES M.-C. 1997a. Mode of contamination of dogs by adult fleas (*Ctenocephalides felis*) in different controlled environments. *Revue de Médecine Vétérinaire*, **148**, 1, 23-26
55. FRANC M., CADIERGUES M.-C. 1997b. Susceptibility of the cat flea, *Ctenocephalides felis* (Siphonaptera: Pulicidae) to four pyrethroids. *Parasite*, **4**, 1, 91-3
56. FRANC M., CADIERGUES M.-C. 1998b. Antifeeding effect of several insecticidal formulations against *Ctenocephalides felis* on cats. *Parasite*, **5**, 83-86
57. FRANC M., CADIERGUES M.-C. 1999. Méthodes d'évaluation des antiparasitaires externes destinés à la lutte contre les puces chez les carnivores domestiques. *Bulletin de la Société Vétérinaire Pratique de France*, **83**, 5, 281-306
58. FRANC M., CHOQUART P., CADIERGUES M.-C. 1998c. Répartition des espèces de puces rencontrées chez le chien en France. *Revue de Médecine Vétérinaire*, **149**, 2, 135-140
59. FRANCES E. 1996. Contribution à l'étude de *Ctenocephalides canis*. Données bibliographiques. Th. : Med. Vet. : Toulouse : n° TOU 3-4073. 49p
60. GAREY J., WOLFF M.S. 1998. Estrogenic and Antiprogestagenic Activities of Pyrethroid Insecticides. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **251**, 855 – 859
61. GHEKIERE A., FOCKEDEY N., VERSLYCKE T., VINCX M., JANSSEN C.R. 2006. Marsupial development in the mysid *Neomysis integer* (Crustacea: Mysidacea) to evaluate the effects of endocrine-disrupting chemicals. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, [en ligne], Avril 2006, (page consultée le 6 mai 2006). Accessible sur le site de Elsevier Science Direct. Adresse URL : http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_aset=V-WA-A-W-AW-MSAYZA-UUW-U-AAVEYDUVYE-AAVDVCAWYE-YZUAWVDUW-AW-U&_rdoc=1&_fmt=summary&_udi=B6WDM-4JS1MWW-1&_coverDate=04%2F19%2F2006&_cdi=6770&_orig=search&_st=13&_sort=d&_view=c&_acct=

62. GRAF J.F. 1999. The role of insect growth regulators in the control of ectoparasites. 17th *International Conference of World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP)*, Copenhagen, Denmark, 15-19 août 1999
63. GREEK J.S., MORIELLO K.A. 1991. Treatment of common parasitocidal toxicities in small animals. *Feline Practice*, **19**, 4, 11-18
64. GUICHARD C. 1967. Technologie pharmaceutique - pharmacie galénique. Paris, Ed. Médicales Flammarion, Coll. *Éléments de*, 570 p, 43-49, 439-444
65. GURFIELD A.N. et coll. 2001. Epidemiology of *Bartonella* infection in domestic cats in France. *Veterinary Microbiology*, **80**, 185-198
66. HAARLOEV N., KRISTENSEN S. 1977. Skin diseases of cat and dog. III. Fleas of cats and dogs in Denmark. *Tierärztliche Praxis*, **5**, 4, 507-511
67. HARALAMPIDIS S.T. 1977. Contribution to the study of parasites of cats and their public health importance. Th: Med. Vet.: Thessaloniki, Aristotelian University: 177p
68. HASCOET M.M., CAVELIER M. 1978. Les pyréthriinoïdes de synthèse. *Acad. Agric. Gr.*, 1371-1387.
69. HICKMAN A., COX C. 2003. Managing fleas without poisons. *Journal of Pesticide Reform*, **23**, 4, 6-7
70. HINAIDY H.K. 1991. A contribution on the biology of *Dipylidium*. *Journal of Veterinary Medicine. Series B*, **38**, 5, 329-336
71. HINKLE N.C. 1992. Biological factors and larval management strategies affecting cat flea (*Ctenocephalides felis felis*, Bouché) populations. Ph.D.: University of Florida. 189p
72. HINKLE N.C., KOEHLER P.G., PATTERSON R.S. 1998. Host grooming efficiency for regulation of cat flea (Siphonaptera: Pulicidae) populations. *Journal of Medical Entomology*, **35**, 3, 266-269
73. HSU M.H., WU W.J. 2000. Effects of multiple mating on female reproductive output in the cat flea (Siphonaptera: Pulicidae). *Journal of Medical Entomology*, **37**, 6, 828-834
74. HSU M.H., WU W.J. 2001. Off-host observations of mating and postmating behaviours in the cat flea (Siphonaptera: Pulicidae). *Journal of Medical Entomology*, **38**, 3, 352-360
75. HUDSON B.W., PRINCE F.M. 1958. A method for large scale rearing of the cat flea, *Ctenocephalides felis felis* (Bouché). *Bull. W.H.O.*, **19**, 1126-1129. In *Veterinary Parasitology*, 1989, **34**, 117-122
76. HUTCHINSON M.J., JACOBS D.E., FOX M.T., JEANNIN Ph., POSTAL J.-M. 1998. Evaluation of flea control strategies using fipronil on cats in a controlled simulated home environment. *Veterinary Record*, **142**, 356-357
77. JACKSON M.H., HUTCHINSON W.M. 1993. Unwanted cats-physical condition, *Toxoplasma* infection and ectoparasites. *British Veterinary Journal*, **149**, 3, 295-297
78. JACOBS D.E., HUTCHINSON M.J., KRIEGER K.J., BARDT D. 1996. A novel approach to flea control on cats, using pyriproxyfen. *Veterinary Record*, **139**, 559-561
79. KAKKO I., TOIMELA T., TÄHTI H. 2003. The synaptosomal membrane bound ATPase as a target for the neurotoxic effects of pyrethroids, permethrin and cypermethrin. *Chemosphere*, **51**, 475-480
80. KAKKO I., TOIMELA T., TÄHTI H. 2004. The toxicity of pyrethroid compounds in neural cell cultures studied with total ATP, mitochondrial enzyme activity and microscopic photographing. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, **15**, 95-102
81. KALVELAGE H., MUNSTER M. 1991. *Ctenocephalides canis* and *Ctenocephalides felis* infestation in dogs and cats. Biology of the agent, epizootiology, pathogenesis, clinical signs, diagnosis and methods of control. *Tierärztliche Praxis*, **19**, 2, 200-206
82. KAWADA H., HIRANO M. 1996. Insecticidal effects of the insect growth regulators methopren and pyriproxyfen on the cat flea (Siphonaptera: Pulicidae). *Journal of Medical Entomology*, **33**, 5, 819-822

83. KENNY M.J., BIRTLES R.J., DAY M.J., SHAW S.E. 2003. *Rickettsia felis* in the United Kingdom. *Emerging Infectious Disease*, **9**, 8, 1023-1024
84. KERN W.H., KOEHLER P.G., PATTERSON R.S. 1992. Diel patterns of cat flea (Siphonaptera: Pulicidae) egg and fecal deposition. *Journal of Medical Entomology*, **29**, 2, 203-206
85. KOUTINAS A.F., PAPAZHARIADOU M.G., RALLIS T.S., TZIVARA N.H., HIMONAS C.A. 1995. Flea species from dogs and cats in northern Greece: environmental and clinical implications. *Veterinary Parasitology*, **58**, 109-115
86. KRISTENSEN S., HAARLOEV N., MOURIER H. 1978. A study of skin diseases in dogs and cats. IV. Patterns of flea infestation in dogs and cats in Denmark. *Nordisk Veterinaermedicin*, **30**, 10, 401-413
87. KUSKE M., NICOLAS J. 2000. Les pollutions dans l'air à l'intérieur des bâtiments – Diagnostic - Incidences sur la santé. Fondation Universitaire Luxembourgeoise, Prévention Santé, Province du Luxembourg, Belgique, 141p.
88. LARHANTEC B. 2003. 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. Th. : Med. Vet. : Nantes : N-2003-047
89. LELLOUCH J., LAZAR P. 1991. Méthodes statistiques en expérimentation biologique. Paris : Ed. Médecines-Sciences Flammarion. 286p (Collection Statistique en médecine et Biologie)
90. LEMKE L.A.; KOEHLER P.G., PATTERSON R.S. 1989. Susceptibility of the cat flea (Siphonaptera: Pulicidae) to pyrethroids. *Journal of Economic Entomology*, **82**, 3, 839-841.
91. LENG G., GRIES W. 2004. Simultaneous determination of pyrethroid and pyrethrin metabolites in human urine by gas chromatography–high resolution mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, **814**, 285-294
92. LENG G., RANFT U., SUGIRI D., HADNAGY W., BERGER-PREI E., IDEL H. 2003. Pyrethroids used indoors: Biological monitoring exposure to pyrethroids following an indoor pest control operation. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, **206**, 85-92
93. LIEBISCH A., BRANDES R., HOPPENSTEDT K. 1985. Tick and flea infections of dogs and cats in the German Federal Republic. *Praktische Tierarzt*, **66**, 10, 817-824
94. LINLEY J.R, BENTON A.H., DAY J.F. 1994. Ultrastructure of the eggs of 7 fleas' species. *Journal of Medical Entomology*, **31**, 6, 813-827
95. MACDONALD J.M. 1995. Flea control: an overview of treatment concepts for North America. *Veterinary Dermatology*, **6**, 3, 121-130
96. MASKIELL G. 1995. Clinical impressions of S-methoprene-impregnated collars and lufenuron for flea control in dogs and cats. *Australian Veterinary Practice*, **25**, 3, 142-143
97. MEDLEAU L., HNILICA K.A. 2001. Small Animal dermatology: a color atlas and therapeutic guide. Philadelphia: W.B. Saunders, 356p
98. MELTER O. et coll. 2003. Detection and characterization of feline *Bartonella henselae* in the Czech Republic. *Veterinary Microbiology*, **93**, 261-273
99. MEOLA R., MEIER K., DEAN S., BHASKARAN G. 2000. Effect of pyriproxyfen in the blood diet of the cat fleas on adult survival, egg viability, and larval development. *Journal of Medical Entomology*, **37**, 4, 503-506
100. MEOLA R., READY S., MEOLA S. 1993a. Physiological effects of the juvenoid pyriproxyfen on adults, eggs, and larvae of the cat flea. *Proceeding of the first International Conference on Insect Pests in the Urban Environment*, Cambridge, Grande-Bretagne, 30 juin – 3 juillet 1993, 221-228
101. MEOLA S., PALMA K., MEOLA R. W. 1993b. Flea eggs: target of the new IGR on-animal treatments. *Proceeding of the first International Conference on Insect Pest in the Urban Environment*, Cambridge, Grande-Bretagne, 30 juin – 3 juillet 1993, 207-213
102. Methoprene and S-Methoprene, Pesticide residues in food 2001. Joint Meeting on Pesticides Residues, Toxicological Evaluations. (Page consultée le 6 mai 2006). IPCS INCHEM - Chemical Safety Information from Intergovernmental Organizations. [en ligne]. Adresse URL : <http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/2001pr09.htm#1.0>

103. Methoprene, Data Sheets on Pesticides n°47, Pesticide Documents. (Page consultée le 6 mai 2006). IPCS INCHEM - Chemical Safety Information from Intergovernmental Organizations. [en ligne]. Adresse URL: http://www.inchem.org/documents/pds/pds/pest47_e.htm
104. Methoprene, Pesticide residues in food 1984. Joint Meeting on Pesticides Residues, Toxicological Evaluations. (Page consultée le 20 avril 2006). IPCS INCHEM - Chemical Safety Information from Intergovernmental Organizations. [en ligne]. Adresse URL : <http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v84pr31.htm>
105. METZGER M.E., RUST M.K. 1996a. Egg production and emergence of adult cat fleas (Siphonaptera: Pulicidae) exposed to different photoperiods. *Journal of Medical Entomology*, **33**, 4, 651-655
106. METZGER M.E., RUST M.K. 1997. Effect of temperature on cat flea (Siphonaptera: Pulicidae) development and overwintering. *Journal of Medical Entomology*, **34**, 2, 173-178
107. METZGER M.E., RUST M.K., REIERSON D.A. 1996b. Activity of insecticides applied to turfgrass to control adult cat fleas (Siphonaptera: Pulicidae). *Journal of Economic Entomology*, **89**, 4, 935-939
108. MILLER R.J., BROCE A.B., DRYDEN M.W., HOPKINS T. 1999. Susceptibility to insect growth regulators and cuticle deposition of the cat flea (Siphonaptera: Pulicidae) as a function of age. *Journal of Medical Entomology*, **36**, 6, 780-787
109. MILLER R.J., DRYDEN M.W., BROCE A.B. SUITER D.R. 2000. Pupation site selection of cat fleas (Siphonaptera: Pulicidae) in various carpet types and its influence on insecticide efficacy. *Journal of Economic Entomology*, **93**, 4, 1391-1397
110. MITSCHKE T., BORCK H., HERR B., BAYAS N., HOPPE H.W., DIEL F. 2000. Pyrethroid syndrome in an animal keeper. *Allergy Copenhagen*, **55**, 1, 93-94
111. MU X, LEBLANC G.A. 2004. Cross communication between signalling pathways: juvenoid hormones modulate ecdysteroid activity in a crustacean. *Journal of Experimental Zoology. Part A, Comparative Experimental Biology*, **301**, 10, 793-801
112. NASUTI C., CANTALAMESSA F., FALCIONI G., GABBIANELLI R. 2003. Different effects of Type I and Type II pyrethroids on erythrocyte plasma membrane properties and enzymatic activity in rats. *Toxicology*, **191**, 233-244
113. OEPKEMEIER S. et coll. 1999. Determination of permethrin in indoor air by liquid chromatography with enzyme linked immunosorbent assay. *Analytica Chimica Acta*, **393**, 103-108
114. OSBRINK W.L.A., RUST M.K. 1985. Cat flea (Siphonaptera: Pulicidae): Factors influencing host-finding behaviour in the laboratory. *Annals of the Entomological Society of America*, **78**, 29-34
115. Permethrin, Data Sheets on Pesticides N° 51, Pesticide Documents. (Page consultée le 6 mai 2006). IPCS INCHEM - Chemical Safety Information from Intergovernmental Organizations. [en ligne]. Adresse URL: http://www.inchem.org/documents/pds/pds/pest51_e.htm
116. Permethrin, Environmental Health Criteria N°94. (Page consultée le 6 mai 2006). IPCS INCHEM - Chemical Safety Information from Intergovernmental Organizations. [en ligne]. Adresse URL: <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc94.htm>
117. PHARMACOPEE FRANÇAISE. Monographie : « Préparations pharmaceutiques pressurisées ». Maisonneuve Ed., juillet 1987, X^{ème} édition
118. Pyriproxyfen, An Introduction to Insecticides. (Page consultée le 20 avril 2006). Radcliffe's IPM World Text Book, University of Minnesota. [en ligne]. <http://ipmworld.umn.edu/chapters/ware.htm>
119. Pyriproxyfen, International Chemical Safety Cards N°1269. (Page consultée le 6 mai 2006). IPCS INCHEM - Chemical Safety Information from Intergovernmental Organizations. [en ligne]. Adresse URL: <http://www.inchem.org/documents/icsc/icsc/eics1269.htm>
120. Pyriproxyfen, Joint Meeting on Pesticides Residues, Toxicological Evaluations, Pesticide Residues In Food 1999. (Page consultée le 6 mai 2006). IPCS INCHEM - Chemical Safety Information from Intergovernmental Organizations. [en ligne]. Adresse URL : <http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v99pr12.htm>

121. RAJAPAKSE C.N.K., MEOLA R., READIO J. 2002. Comparative evaluation of juvenoids for control of cat fleas (Siphonaptera: Pulicidae) in topsoil. *Journal of Medical Entomology*, **39**, 6, 889-894
122. RAMESH A., RAVI P.E. 2004. Electron ionization gas chromatography–mass spectrometric determination of residues of thirteen pyrethroid insecticides in whole blood. *Journal of Chromatography B*, **802**, 371–376
123. RICHARDSON J.A. 2000. Permethrin spot-on toxicoses in cats. *The Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, **10**, 2, 103-106
124. ROBERTS T., HUTSON D. 1999. Metabolic pathways of agrochemicals. Part II: Insecticides and fungicides. *London: The Royal Society of Chemistry*. 1475p. 678-684, 839-849
125. ROBINSON W.H. 1995. Distribution of cat flea larvae in the carpeted household environment. *Veterinary Dermatology*, **6**, 3, 145-150
126. ROLAIN J.-M., FRANC M., DAVOUST B., RAOULT D. 2003. Molecular Detection of *Bartonella quintana*, *B. koehlerae*, *B. henselae*, *B. clarridgeiae*, *Rickettsia felis*, and *Wolbachia pipientis* in Cat Fleas, France. *Emerging Infectious Diseases*, **9**, 3
127. ROSS D.H., PENNINGTON R.G., CRUTHERS L.R., SLONE R.L. 1997. Efficacy of a permethrin and pyriproxyfen product for control of fleas, ticks and mosquitoes on dogs. *Canine Practice*, **22**, 2-3, 53-59
128. RUST M.K. 1994. Interhost movement of adult cat fleas (Siphonaptera: Pulicidae). *Journal of Medical Entomology*, **31**, 3, 486-489
129. RUST M.K., REIERSON D.A. 1988. Performance of insecticides for control of cat fleas (Siphonaptera: Pulicidae) indoors. *Journal of Economic Entomology*, **81**, 1, 236-240
130. RUST M.K., REIERSON D.A. 1989. Activity of insecticides against the preemerged adult cat flea in the cocoon (Siphonaptera: Pulicidae). *Journal of Medical Entomology*; **26**, 4, 301-305
131. SALEH M.A., KAMEL A., EL-DEMERDASH A., JONES J. 1998. Penetration of household insecticides through different types of textile fabrics. *Chemosphere*, **36**, 7, 1543-1552
132. SEILLER M., MARTINI M.C. 1996. Formes pharmaceutiques pour application locale. *Paris, Ed. Lavoisier Tec & Doc*, 504p, 311-339
133. SHAW S.E., KENNY M.J. TASKER S, BIRTLES R.J. 2004. Pathogen carriage by the cat flea *Ctenocephalides felis* (Bouché) in the United Kingdom. *Veterinary Microbiology*, **102**, 183-188
134. SHIPSTONE M.A., MASON K.V. 1995. The use of insect development inhibitors as an oral medication for the control of the fleas *Ctenocephalides felis*, *C. canis* in the dog and cat. *Veterinary Dermatology*, **6**, 3, 131-137
135. SILVERMAN J., RUST M.K. 1985. Extended longevity of preemerged adult cat flea (Siphonaptera: Pulicidae) and factors stimulating emergence from the pupal cocoon. *Annals of the Entomological Society of America*, **78**, 763-768
136. SILVERMAN J., RUST M.K., REIERSON D.A. 1981. Influence of temperature and humidity on survival and development of the cat flea, *Ctenocephalides felis* (Siphonaptera: Pulicidae). *Journal of Medical Entomology*, **18**, 78-83
137. STANNECK D., LARSEN K.S., MENCKE N. 2002a. An evaluation of the effects of pyriproxyfen on eggs and adults of the cat flea, *Ctenocephalides felis felis* (Siphonaptera: Pulicidae). *Irish Veterinary Journal*, **55**, 8, 383-387
138. STANNECK D., LARSEN K.S., MENCKE N. 2002b. In vitro evaluations of the effect of pyriproxyfen on juvenile cat fleas, *Ctenocephalides felis* (Siphonaptera: Pulicidae). *Irish Veterinary Journal*, **55**, 9, 454-455
139. STANNECK D., LARSEN K.S., MENCKE N. 2003. Pyriproxyfen concentration in the coat of coat of the cats and dogs after topical treatment with a 1.0% w/v spot-on formulation. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, **26**, 233-235
140. STAYKIL® Household Flea Spray, Safety Data Sheet. NOVARTIS ANIMAL HEALTH UK LIMITED.

141. SUMIDA K., SAITO K., OOE N., ISOBE N., KANEKO H., NAKATSUKA I. 2001. Evaluation of in vitro methods for detecting the effects of various chemicals on the human progesterone receptor, with a focus on pyrethroid insecticides. *Toxicology Letters*, **118**, 147–155
142. SURRALLES J., XAMENA N., CREUS A., CATALFIN J., NORPPA H., MARCOS R. 1995. Induction of micronuclei by five pyrethroid insecticides in whole-blood and isolated human lymphocyte cultures. *Mutation Research*, **341**, 169-184
143. TAYLOR M.A. 2001. Recent developments in ectoparasiticides. *The Veterinary Journal*, **161**, 253-268
144. THIEMANN T., FIELDEN L.J., KELRICK M.I. 2003. Water uptake in the cat flea *Ctenocephalides felis* (Pulicidae: Siphonaptera). *Journal of Insect Physiology*, **49**, 1085-1092
145. TIQUANIS HABITAT® Solution Pressurisée Fiche de données sécurité. (Page consultée le 10 mai 2006). VETOQUINOL France. [en ligne]. Adresse URL : http://www.vetoquinol.fr/veterinaire/affiche_fiche_secu.php3?nom_du_produit=TIQUANIS@%20Habitat%20Solution%20pressurisée&animaux=34
146. TOMLIN C.D.S. 1997. The pesticide manual. 11th Edition. Alton: *The British Crop Protection Council Publications*. 1606p, 321-322, 817-818, 1072-1073
147. TRAYLER K.M., DAVIS J.A. 1996. Sensitivity of *Daphnia carinata* sensu lato to the insect growth regulator, pyriproxyfen. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **33**, 2, 154-156
148. UEDA K., GAUGHAN L. C., CASIDA J. E. 1974. Photodecomposition of resmethrin and related pyrethroids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **22**, 2, 212-220
149. VERSLYCKE T., POELMANS S., DE WASCH K., DE BRABANDER H.F., JANSSEN C.R. 2004. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **23**, 5, 1289-96
150. WADE S.E., GEORGI J.R. 1988. Survival and reproduction of artificially fed cat fleas, *Ctenocephalides felis* Bouché (Siphonaptera: Pulicidae). *Journal of Medical Entomology*, **25**, 186-190
151. WALL R., SHAW S.E. PENALIGGON J. 1997. The prevalence of flea species on cats and dogs in Ireland. *Medical and Veterinary Entomology*, **11**, 404-406
152. WARREN S. 1986. Flea busters: principles of flea control. *Modern Veterinary Practice*, **67**, 8, 732-734
153. WEDINCAMP J., FOIL Jr. et L.D. 2002. Vertical transmission of *Rickettsia felis* in the cat flea (*Ctenocephalides felis* Bouché). *Journal of Vector Ecology*, **27**, 1, 96-101
154. WOUTERS W., VAN DEN BERCKEN J. 1978. Action of pyrethroids. *General Pharmacology*, **9**, 387-397
155. WUCHER N. 1994. Mécanismes hormonaux de la mue. Utilisation des régulateurs de croissance dans la lutte insecticide. Th. : Med. Vet. : Lyon : n° 10. 83p
156. YERUHAM I, ROSEN S., HADANI A. 1989. Mortality in calves, lambs and kids caused by severe infestation of the cat flea *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835) in Israel. *Veterinary Parasitology*, **30**, 4, 351-356
157. YERUHAM I., KOREN O. 2003. Severe infestation of a she-ass with the cat flea *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835). *Veterinary Parasitology*, **115**, 365-367
158. YERUHAM I., ROSEN S., BRAVERMAN Y. 1996. *Ctenocephalides felis* flea infestation in horses. *Veterinary Parasitology*, **62**, 341-343
159. YOUNG D.R., JEANNIN P.C., BOECKH A. 2004. Efficacy of fipronil/(S)-methoprene combination spot-on for dogs against shed eggs, emerging and existing adult cat fleas. *Veterinary Parasitology*, **125**, 397-407
160. ZERBA E. 1988. Insecticidal activity of pyrethroids on insects of medical importance. *Parasitology Today*, **4**, 7, S3-S7

ANNEXES

Annexe 1
LISTE DES PREPARATIONS PHARMACEUTIQUES
PRESSURISEES UTILISEES CONTRE LES PUCES DE
L'ENVIRONNEMENT EN FRANCE

D'après le Dictionnaire des Médicaments Vétérinaires 2005

Noms déposés	Principes actifs	Formulations	Volume	Rémanence	Laboratoires	
TIQUANIS® HABITAT	- Perméthrine - Flufénoxuron	Pulvérisateur	1000 ml	Non indiquée	VETOQUINOL	
		Solution pressurisée	250 ml	4 mois		
		Mini-Diffuseur	110 ml	Non indiquée		
			220 ml	Non indiquée		
PARASTOP®	- Perméthrine - Pyriproxifène - Butoxyde de Pipéronyle	Pulvérisateur	500 ml	Non indiquée	VIRBAC	
		Mini-Diffuseur	75 ml	6 mois		
		Grand-Diffuseur	250 ml	6 mois		
	- Perméthrine - Fenoxycarb - Butoxyde de Pipéronyle	Aérosol	405 ml	6 mois		
		Diffuseur	150 ml	Non indiquée		
		Insecticide pour arrosage	340 ml	4 mois		
INSECTICIDE HABITAT®	- Esdépalléthrine - Bioresméthrine - Méthoprène - Butoxyde de Pipéronyle	Aérosol/ Diffuseur	200 ml	6 mois	CLEMENT- THEKAN	
						HABITAT AEROSOL
ECO-LOGIS®	- Perméthrine - Méthoprène	Aérosol	300 ml	6 mois		VETOCENTRE (BIOCANINA)
		Diffuseur	100 ml	Non indiquée		
CITROSIL®	- Huiles essentielles	Aérosol	300 ml	3 mois	DOLISOS	

Annexe 2

TEST DE L'AEROSOL INDOREX®

Date : 13/07/1999
Composition: Perméthrine % IGR Pyriproxifène %

ASPECT DU PRODUIT

Echantillon	1	2	3	
Flacon	BE	BE	BE	BE: Bon Etat
Valve	BE	BE	BE	

HAUTEUR DE VAPORISATION cm

DIAMETRE DU DISQUE DE PULVERISATION cm

MESURE DU DEBIT

Durée de pulvérisation, s

Echantillon n°2

Echantillon n°3

Masse		Masse nette	Masse		Masse nette
initiale (g)	finale (g)	(g)	initiale (g)	finale (g)	(g)
481	473	8	480	473	7
473	468	5	473	466	7
468	461	7	466	459	7
461	454	7	459	452	7
454	447	7	452	445	7
447	440	7	445	438	7
440	432	8	438	431	7
432	425	7	431	424	7
425	418	7	424	420	4
418	411	7	420	414	6
411	405	6	414	408	6
405	398	7	408	402	6
398	391	7	402	396	6
391	384	7	396	390	6
384	377	7	390	384	6
377	370	7	384	377	7
370	363	7	377	371	6
363	356	7	371	365	6
356	350	6	365	358	7
350	343	7	358	352	6
343	337	6	352	347	5
337	331	6	347	341	6
331	325	6	341	335	6
325	318	7	335	329	6

Masse moyenne Δp (g)
Débit massique D_m (g/s)

Annexe 3

TEST DE L'AEROSOL STAYKIL®

Date : 13/07/1999
Composition: Perméthrine % IGR Cyromazine %

ASPECT DU PRODUIT

Echantillon
 Flacon
 Valve

1	2	3
BE	BE	BE
BE	BE	BE

BE: Bon Etat

HAUTEUR DE VAPORISATION cm

DIAMETRE DU DISQUE DE VAPORISATION cm

MESURE DU DEBIT

Durée de pulvérisation, s

Echantillon n°2

Echantillon n°3

Masse		Masse nette	Masse		Masse nette
initiale (g)	finale (g)	(g)	initiale (g)	finale (g)	(g)
499	492	7	499	493	6
492	485	7	493	487	6
485	479	6	487	481	6
479	473	6	481	474	7
473	467	6	474	469	5
467	461	6	469	463	6
461	455	6	463	457	6
455	450	5	457	451	6
450	444	6	451	446	5
444	439	5	446	440	6
439	433	6	440	435	5
433	428	5	435	429	6
428	423	5	429	424	5
423	418	5	424	419	5
418	413	5	419	414	5
413	407	6	414	408	6
407	401	6	408	403	5
401	396	5	403	397	6
396	391	5	397	392	5
391	386	5	392	387	5
386	381	5	387	382	5
381	376	5	382	377	5
376	371	5	377	372	5
371	366	5	372	367	5

Masse moyenne Δp (g)
Débit massique D_m (g/s)

Annexe 4

TEST DE L'AEROSOL ACCLAIM®

Date : 13/07/1999
Composition: Perméthrine % IGR S-Méthoprène %

ASPECT DU PRODUIT

Echantillon
 Flacon
 Valve

1	2	3
BE	BE	BE
BE	BE	BE

BE: Bon Etat

HAUTEUR DE VAPORISATION cm

DIAMETRE DU DISQUE DE VAPORISATION cm

MESURE DU DEBIT

Durée de pulvérisation, s

Echantillon n°2

Echantillon n°3

Masse		Masse nette	Masse		Masse nette
initiale (g)	finale (g)	(g)	initiale (g)	finale (g)	(g)
410	407	3	414	411	3
407	403	4	411	408	3
403	400	3	408	404	4
400	397	3	404	400	4
397	393	4	400	396	4
393	390	3	396	392	4
390	386	4	392	389	3
386	382	4	389	385	4
382	379	3	385	381	4
379	376	3	381	378	3
376	372	4	378	374	4
372	369	3	374	371	3
369	366	3	371	368	3
366	363	3	368	364	4
363	360	3	364	361	3
360	356	4	361	357	4
356	353	3	357	354	3
353	350	3	354	350	4
350	346	4	350	347	3
346	343	3	347	343	4
343	340	3	343	340	3
340	337	3	340	336	4
337	334	3	336	333	3
334	331	3	333	330	3

Masse moyenne Δp (g)
Débit massique D_m (g/s)

Annexe 5

TEST DE L'AEROSOL TIQUANIS HABITAT®

Date : 13/07/1999
Composition: Perméthrine % IGR Flufénoxuron %

ASPECT DU PRODUIT

Echantillon
 Flacon
 Valve

1	2	3
BE	BE	BE
BE	BE	BE

BE: Bon Etat

HAUTEUR DE VAPORISATION cm

DIAMETRE DU DISQUE DE VAPORISATION cm

MESURE DU DEBIT

Durée de pulvérisation,

Echantillon n°2

Echantillon n°3

Masse		Masse nette	Masse		Masse nette
initiale (g)	finale (g)	(g)	initiale (g)	finale (g)	(g)
314	305	9	315	305	10
305	296	9	305	297	8
296	287	9	297	289	8
287	276	11	289	280	9
276	267	9	280	272	8
267	257	10	272	267	5
257	248	9	267	255	12
248	239	9	255	247	8
239	232	7	247	238	9
232	223	9	238	230	8
223	216	7	230	223	7
216	209	7	223	217	6
209	201	8	217	210	7
201	194	7	210	202	8
194	186	8	202	195	7
186	178	8	195	188	7
178	170	8	188	181	7
170	163	7	181	173	8
163	156	7	173	167	6
156	150	6	167	160	7
150	143	7	160	153	7
143	137	6	153	147	6
137	130	7	147	141	6
130	123	7	141	135	6

Masse moyenne Δp (g)
Débit massique D_m (g/s)

Annexe 6

RESULTATS DU TRAITEMENT SUR LES PUCES ADULTES

Tableau 24 : Efficacité (%) des aérosols (perméthrine) sur les puces à J+2h

jour après Trt	0	7	14	21	28	56	119	161	210	420
INDOREX®	100	100	100	100	100	100	88	96	63,27	14
STAYKIL®	100	100	100	96	98	96	86	88	69,39	6
ACCLAIM®	92	92	95,9	66	54	48	40	0	0	2
TIQUANIS®	100	100	100	100	100	100	92	96	97,96	94

Tableau 25 : Efficacité (%) des aérosols (perméthrine) sur les puces à J+8h

jour après Trt	0	7	14	21	28	56	119	161	210	420
INDOREX®	100	100	100	100	100	100	100	100	87,76	60
STAYKIL®	100	100	100	100	96	98	96	98	83,67	66
ACCLAIM®	90	97,9	95,9	83,7	72	70	76	60	30,61	8
TIQUANIS®	100	100	100	100	100	100	100	98	100	100

Tableau 26 : Efficacité (%) des aérosols (perméthrine) sur les puces à J+24h

jour après Trt	0	7	14	21	28	56	119	161	210	420
INDOREX®	100	100	100	100	100	100	100	100	98	78
STAYKIL®	100	100	100	91,8	96	100	98	100	93,9	76
ACCLAIM®	92	100	95,9	81,6	78	84	84	67,3	55,1	36
TIQUANIS®	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Annexe 7

RESULTATS DU TRAITEMENT CURATIF SUR LES STADES JUVENILES

Tableau 27 : Nombre total de puces émergées selon les aérosols et le nombre de jours après traitement

J après Trt	Témoin	INDOREX® Pyriproxyfène	STAYKIL® Cyromazine	ACCLAIM® Méthoprène	TIQUANIS® Flufénoxuron
1	1	0	0	0	0
2	9	6	6	9	10
5	20	12	13	25	21
6	27	16	22	30	28
7	39	19	28	37	35
8	49	19	28	41	41
9	57	19	28	45	43
12	83	19	28	46	51
13	97	19	30	47	52
14	105	19	30	47	53
15	113	19	30	47	53
16	122	19	30	47	56
19	143	19	30	47	56
20	154	19	30	47	56
21	159	19	30	47	56
22	172	19	30	47	57
23	181	19	30	47	57
26	202	19	30	47	57
27	214	19	30	47	57
28	219	19	30	47	57
30	232	19	30	47	57
33	242	19	30	47	57
34	250	19	30	47	57
35	251	19	30	47	57
36	252	19	30	47	57

Annexe 8

RESULTATS DU TRAITEMENT PREVENTIF SUR LES STADES JUVENILES

Tableau 28 : Efficacité (%) du traitement préventif sur les stades juvéniles selon le jour après traitement et l'aérosol (Témoin positif)

Témoin positif												
J après Trt	1	7	14	28	63	91	119	154	180	224	284	357
INDOREX® Pyriproxyfène	100	100	97,4	100	98,6	95	93,5	98,9	100	97,7	89,3	81,7
STAYKIL® Cyromazine	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
ACCLAIM® Méthoprène	100	100	100	100	100	100	100	100	98,8	100	96	93,3
TIQUANIS® Flufénoxuron	96,9	81,3	91,7	81,6	54,8	40,1	56,8	57,8	25,8	22,7	39,4	4,32

Tableau 29 : Efficacité (%) du traitement préventif sur les stades juvéniles soumis à l'aspiration selon le jour après traitement et l'aérosol

Aspiration												
J après Trt	1	7	14	28	63	91	119	154	180	224	284	357
INDOREX® Pyriproxyfène	98,5	100	100	100	98,5	98,7	95,9	100	97,4	92,6	83,3	65,2
STAYKIL® Cyromazine	100	100	98,5	100	100	100	98,9	100	100	100	97,8	98,4
ACCLAIM® Méthoprène	100	100	100	100	100	100	98,9	100	100	100	97,8	97,3
TIQUANIS® Flufénoxuron	92,1	93,4	96,7	68,9	45,6	25,3	50	85,3	65	0	46,9	0

Tableau 30 : Efficacité (%) du traitement préventif sur les stades juvéniles soumis au lavage selon le jour après traitement et l'aérosol

Lavage												
J après Trt	1	7	14	28	63	91	119	154	180	224	284	357
INDOREX® Pyriproxyfène	94,3	93	95	98,5	90,4	92,4	90,2	100	88,3	69,1	57,3	29
STAYKIL® Cyromazine	100	81,3	74,3	88,8	54,4	32,1	78,6	75,6	68,2	64,1	70,7	61,4
ACCLAIM® Méthoprène	98,6	100	100	100	100	98,8	96,3	100	96,7	97,9	98,5	100
TIQUANIS® Flufénoxuron	89,4	49,1	54,6	77,6	51,7	8,01	0	54,4	34,4	2,14	31,7	0

Tableau 31 : Efficacité (%) du traitement préventif sur les stades juvéniles soumis à la lumière selon le jour après traitement et l'aérosol

Lumière												
J après Trt	1	7	14	28	63	91	119	154	180	224	284	357
INDOREX® Pyriproxyfène	94,9	98,5		91,8	95,6	96,9	87,9	90,7	84,6	84,7	54,1	46,1
STAYKIL® Cyromazine	100	100		95,2	97,6	98,6	97,5	92,1	77,4	91,3	92,3	93,7
ACCLAIM® Méthoprène	100	100		100	74	89,9	59,8	79	51,6	56,4	13,6	46,9
TIQUANIS® Flufénoxuron	86,4	71,2		68,8	50,3	62	53,1	19,4	15,8	7,47	1,52	0

Annexe 9 PUBLICATION [12]

COMPARATIVE SIMULATED FIELD STUDY FOR THE TREATMENT OF HOUSEHOLD AGAINST *Ctenocephalides felis*

BONNEAU, S. ¹, FOUGERES, V. ², MERCIER, P. ¹, WACKOWIEZ, G. ¹
¹ VIRBAC S.A France, ² ENVT. France

BACKGROUND

A comparative and controlled simulated field study was run to measure the immediate efficacy and persistent activity over a 56 day period after application on carpet of 4 household Permethrin + IGR flea sprays: INDOREX[®], STAYKIL[®], ACCLAIM[®] and TIQUANIS[®], against *Ctenocephalides felis*.

MATERIALS & METHODS

Each product was sprayed at D0 according to the manufacturer's recommended dose rate. Threshold point of efficacy was fixed at 95%. **Adulticidal and ovicidal/larvicidal trials were performed on separate carpet pieces.**

Adulticidal activity:

Artificial infestation with 50 adult live fleas was induced on the carpet at D0, D7, D14, D21, D28 and D56. Live flea counts were performed 2 hours and 24 hours after artificial infestation at each observation day.

Ovicidal and larvicidal activity:

Four replicates of 10 eggs of *Ctenocephalides felis* were daily laid down the carpet from D-25 to D0 (to obtain all life cycle flea stages). Adult (live or dead) flea count was performed from D0 to D36.

RESULTS

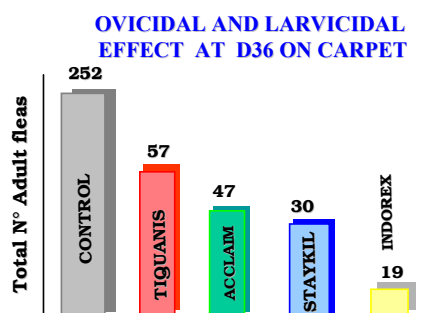
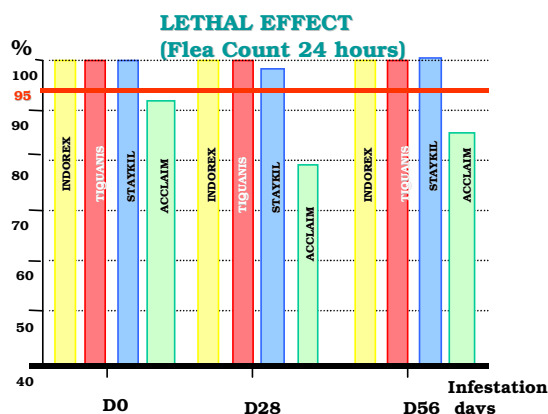
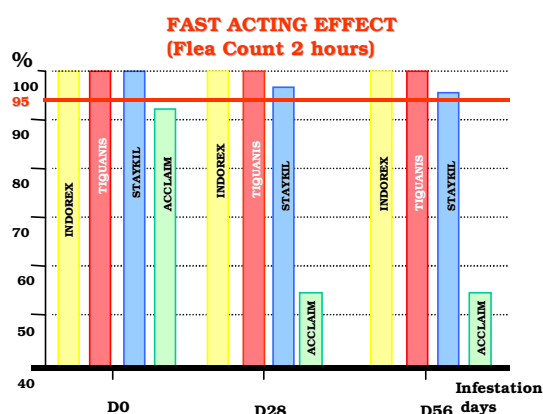
At D0, all the products had a similar Fast Acting Effect with no significant difference. ACCLAIM[®] showed a Lethal Effect inferior to the threshold point (91%). At D56, all the products were efficient except ACCLAIM[®] that showed Fast Acting and Lethal effects inferior to the threshold point (48% and 84%) and significantly different from the other products.

The percentage of adult emergence inhibition on the treated carpet after 36 days was significantly higher with INDOREX[®] than with the other products.

CONCLUSION

At D56, only two products INDOREX[®] and TIQUANIS[®] killed 100% of adult fleas within 2 hours.

INDOREX[®] showed the best ovicidal and larvicidal activity (92.5%) against immature stages of fleas. The combination of Pyriproxyfen and Permethrin in INDOREX[®] showed the best control in breaking the flea life cycle in the environment.



INDOREX[®] Permethrin + Pyriproxyfen VIRBAC Laboratories - STAYKIL[®] Permethrin + Cyromazine NOVARTIS Laboratories - ACCLAIM[®] Permethrin + S. Methoprene SANOFI Laboratories - TIQUANIS[®] Permethrin + Flufenoxuron VETOQUINOL Laboratories
 Product trade mark may change from one country to another.

SUIVI DE L'ELIMINATION URINAIRE DE LA HYOSCINE BUTYLBROMURE CHEZ LE CHEVAL DANS LE CADRE DE LA LUTTE CONTRE LE DOPAGE

RESUME

Notre travail de thèse a permis d'estimer un temps de détection de la hyoscine butylbromure dans les urines de cheval en vue d'aider les vétérinaires praticiens à fixer leur propre délai d'attente. Dans un premier temps, différentes valeurs de limite de détection (RLOD) plausibles ont été établies en s'appuyant sur le modèle PK/PD proposé par TOUTAIN et LASSOURD. Puis, 8 chevaux en exercice régulier ont reçu une administration unique de hyoscine butylbromure par voie intraveineuse à la dose recommandée de 0,3 mg/kg. Le suivi cinétique de l'élimination urinaire de la hyoscine butylbromide a permis d'établir qu'entre 2 et 4 jours après l'injection, les concentrations urinaires sont inférieures aux différentes valeurs de RLOD sélectionnées.

MOTS CLES

Cheval, hyoscine butylbromure, scopolamine, dopage, contrôle des médications, approche européenne, modèle PK/PD, concentration sans effet biologique, limite de détection, temps de détection.

URINARY ELIMINATION OF HYOSCINE BROMOBUTYLATE IN HORSE WITHIN THE FIGHT AGAINST DOPING

ABSTRACT

The aim of our work was to estimate a hyoscine bromobutylate detection time in the horses'urine, in order to help the veterinary practitioners to select their own withdrawal period. Initially, various values of possible RLOD (Recommended Limits of Detection) of hyoscine bromobutylate in urines were established, bases on the model PK/PD suggested by TOUTAIN and LASSOURD. Then 8 horses undergoing regular exercise received a single intravenous injection of hyoscine bromobutylate at the recommended dosage of 0,3 mg/kg. The kinetic study of urinary elimination of the hyoscine bromobutylate allowed establishing that 2 to 4 days after treatment the urinary concentrations are lower than the different values selected of RLOD.

KEY WORDS

Horse, hyoscine bromobutylate, scopolamine, doping, medical controls, european approach, PK/PD, irrelevant concentration, recommended limits of detection, withdrawal period.