




OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible

This is an author's version published in: <http://oatao.univ-toulouse.fr/> 25813

**To cite this version:**

Hodoul, Joanna . *Étude bibliographique de la résistance des puces aux antiparasitaires utilisés en médecine vétérinaire*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse – ENVT, 2019, 76 p.

Any correspondence concerning this service should be sent to the repository administrator: [tech-oatao@listes-diff.inp-toulouse.fr](mailto:tech-oatao@listes-diff.inp-toulouse.fr)

ANNEE 2019 THESE : 2019 – TOU 3 – 4099

---

# ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE DE LA RESISTANCE DES PUCES AUX ANTIPARASITAIRES UTILISES EN MEDECINE VETERINAIRE

---

THESE  
pour obtenir le grade de  
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

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

*par*

**Joanna HODOUL**

Née, le 22 septembre 1994 à Chambéry (73)

---

**Directeur de thèse : Mr Emmanuel LIENARD**

---

**JURY**

PRESIDENT :  
**Mr Alexis VALENTIN**

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :  
**Mr Emmanuel LIENARD**  
**Mme Emilie BOUHSIRA**

Maitre de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE  
Maitre de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

**Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation  
ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE**

**Directeur** : Professeur Pierre SANS

**PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE**

- M. BERTAGNOLI Stéphane, *Pathologie infectieuse*
- M. BOUSQUET-MELOU Alain, *Physiologie et Thérapeutique*
- Mme CHASTANT-MAILLARD Sylvie, *Pathologie de la Reproduction*
- Mme CLAUW Martine, *Pharmacie-Toxicologie*
- M. CONCORDET Didier, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
- M. DELVERDIER Maxence, *Anatomie Pathologique*
- M. ENJALBERT Francis, *Alimentation*
- Mme GAYRARD-TROY Véronique, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
- M. PETIT Claude, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. SCHELCHER François, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

**PROFESSEURS 1<sup>o</sup> CLASSE**

- M. BAILLY Jean-Denis, *Hygiène et Industrie des aliments*
- M. BERTHELOT Xavier, *Pathologie de la Reproduction*
- Mme BOURGES-ABELLA Nathalie, *Histologie, Anatomie pathologique*
- M. BRUGERE Hubert, *Hygiène et Industrie des aliments d'Origine animale*
- Mme CADIERGUES Marie-Christine, *Dermatologie Vétérinaire*
- M. DUCOS Alain, *Zootechne*
- M. FOUCRAS Gilles, *Pathologie des ruminants*
- M. GUERIN Jean-Luc, *Aviculture et pathologie aviaire*
- Mme HAGEN-PICARD, Nicole, *Pathologie de la reproduction*
- M. JACQUIET Philippe, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. LEFEBVRE Hervé, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. MEYER Gilles, *Pathologie des ruminants*
- Mme TRUMEL Catherine, *Biologie Médicale Animale et Comparée*

**PROFESSEURS 2<sup>o</sup> CLASSE**

- Mme BOULLIER Séverine, *Immunologie générale et médicale*
- Mme DIQUELOU Armelle, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
- M. GUERRE Philippe, *Pharmacie et Toxicologie*
- Mme LACROUX Caroline, *Anatomie Pathologique, animaux d'élevage*
- Mme LETRON-RAYMOND Isabelle, *Anatomie pathologique*
- M. MAILLARD Renaud, *Pathologie des Ruminants*
- M. MOGICATO Giovanni, *Anatomie, Imagerie médicale*
- M. RABOISSON Didier, *Productions animales (ruminants)*

**PROFESSEURS CERTIFIÉS DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE**

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

**MAÎTRES DE CONFÉRENCES HORS CLASSE**

- M. BERGONIER Dominique, *Pathologie de la Reproduction*

Mme CAMUS Christelle, *Biologie cellulaire et moléculaire*  
M. JAEG Jean-Philippe, *Pharmacie et Toxicologie*  
M. JOUGLAR Jean-Yves, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*  
M. LYAZRHI Faouzi, *Statistiques biologiques et Mathématiques*  
M. MATHON Didier, *Pathologie chirurgicale*  
Mme MEYNADIER Annabelle, *Alimentation*  
Mme PRIYMENKO Nathalie, *Alimentation*  
M. VOLMER Romain, *Microbiologie et Infectiologie*

#### **MAITRES DE CONFERENCES (classe normale)**

M. ASIMUS Erik, *Pathologie chirurgicale*  
Mme BENNIS-BRET Lydie, *Physique et Chimie biologiques et médicales*  
Mme BIBBAL Delphine, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*  
Mme BOUHSIRA Emilie, *Parasitologie, maladies parasitaires*  
M. CONCHOU Fabrice, *Imagerie médicale*  
M. CORBIERE Fabien, *Pathologie des ruminants*  
Mme DANIELS Hélène, *Microbiologie-Pathologie infectieuse*  
Mme DAVID Laure, *Hygiène et Industrie des aliments*  
Mme DEVIERS Alexandra, *Anatomie-Imagerie*  
M. DOUET Jean-Yves, *Ophtalmologie vétérinaire et comparée*  
Mme FERRAN Aude, *Physiologie*  
Mme JOURDAN Géraldine, *Anesthésie - Analgésie*  
Mme LALLEMAND Elodie, *Chirurgie des Equidés*  
Mme LAVOUE Rachel, *Médecine Interne*  
M. LE LOC'H Guillaume, *Médecine zoologique et santé de la faune sauvage*  
M. LIENARD Emmanuel, *Parasitologie et maladies parasitaires*  
Mme MEYNAUD-COLLARD Patricia, *Pathologie Chirurgicale*  
Mme MILA Hanna, *Elevage des carnivores domestiques*  
M. NOUVEL Laurent, *Pathologie de la reproduction (en disponibilité)*  
Mme PALIERNE Sophie, *Chirurgie des animaux de compagnie*  
Mme PAUL Mathilde, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles et porcins*  
M. VERGNE Timothée, *Santé publique vétérinaire – Maladies animales règlementées*  
Mme WARET-SZKUTA Agnès, *Production et pathologie porcine*

#### **ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT CONTRACTUELS**

M. DIDIMO IMAZAKI Pedro, *Hygiène et Industrie des aliments*  
M. LEYNAUD Vincent, *Médecine interne*  
Mme ROBIN Marie-Claire, *Ophtalmologie*  
Mme ROMANOS Lola, *Pathologie des ruminants*  
M. TOUITOU Florian, *Alimentation animale*

#### **ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS**

Mme BLONDEL Margaux, *Chirurgie des animaux de compagnie*  
M. CARTIAUX Benjamin, *Anatomie-Imagerie médicale*  
M. COMBARROS-GARCIA Daniel, *Dermatologie vétérinaire*  
M. GAIDE Nicolas, *Histologie, Anatomie Pathologique*  
M. JOUSSERAND Nicolas, *Médecine interne des animaux de compagnie*  
M. LESUEUR Jérémy, *Gestion de la santé des ruminants – Médecine collective de précision*

## **REMERCIEMENTS**

*Aux membres du jury de thèse,*

**À Monsieur le Professeur Alexis Valentin,**

Professeur des Universités,  
Praticien hospitalier,  
*Parasitologie,*

Qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence du jury de thèse. Hommages respectueux.

**À Monsieur le Docteur Emmanuel Liénard,**

Maître de Conférence de l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse,  
*Parasitologie - Maladies Parasitaires - Zoologie Appliquée,*

Qui m'a fait l'honneur d'accepter d'encadrer cette thèse, pour son aide et sa disponibilité. Qu'il trouve ici toute l'expression de mon respect et de ma gratitude.

**À Mademoiselle le Docteur Emilie Bouhsira,**

Maître de Conférence à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse,  
*Parasitologie - Maladies Parasitaires - Zoologie Appliquée,*

Qui m'a fait l'honneur d'avoir accepté le rôle d'assesseur de cette thèse. Sincères remerciements.

## Table des matières

Introduction aux enjeux du phénomène de résistance aux insecticides.....	7
I. Étude bibliographique de la puce <i>Ctenocephalides felis</i> (Bouché, 1835) et moyens de lutte .....	9
A. <i>Ctenocephalides felis</i> : présentation, biologie et rôle pathogène.....	9
1. Présentation .....	9
2. Morphologie .....	11
3. Cycle biologique.....	13
4. Rôle pathogène .....	16
B. Moyen de luttés : présentation des différents insecticides utilisés en médecine vétérinaire .....	23
1. Les neurotoxiques.....	24
2. Les régulateurs de croissance : IGR .....	32
II. Étude bibliographique de la résistance des puces aux insecticides.....	36
A. Définition de la résistance aux insecticides.....	36
1. Définition de la résistance aux insecticides par l'Organisation Mondiale de la Santé.....	36
2. Définition du taux de résistance (ou rapport de résistance RR) .....	36
3. Développement des résistances .....	37
4. Résistance croisée et résistance multiple.....	38
B. Mécanismes impliqués dans la résistance aux insecticides .....	38
1. Présentation des différents mécanismes .....	38
2. Mutation de la cible.....	39
3. Augmentation du métabolisme de l'insecticide par les enzymes de détoxification.....	43
C. Études récentes sur la résistance des puces aux insecticides utilisés en médecine vétérinaire .....	48
1. Méthodes de détection d'une résistance en laboratoire .....	48
2. Résistances aux insecticides de <i>C. felis</i> rapportées dans la littérature.....	58
3. Alternatives aux insecticides .....	65
4. Stratégies pour minimiser le développement, la progression et l'impact des résistances .....	66
Conclusion.....	67
Bibliographie.....	68

## **Tables des illustrations**

Figure 1 : Nombre d'espèces d'insectes résistantes à un ou plusieurs insecticides .....	8
Figure 2 : Arbre phylogénétique simplifié de <i>Ctenocephalides sp.</i> (d'après Beaucournu, Launay, 1990 ; Beaucournu, Menier, 1998) .....	9
Figure 3 : <i>Ctenocephalides felis</i> adulte (d'après Bouhsira, 2014).....	11
Figure 4 : Œuf et larve de <i>Ctenocephalides felis</i> .....	12
Figure 5 : Cycle biologique de <i>Ctenocephalides felis</i> (d'après Bouhsira, 2014) .....	13
Figure 6 : Zones des lésions retrouvées en cas de pulicose .....	17
Figure 7 : Mode d'action des organophosphorés et des carbamates .....	28
Figure 8 : Mode d'action des phénylpyrazolés et des isoxazolines .....	29
Figure 9 : Mode d'action des pyréthriinoïdes .....	30
Figure 10 : Mode d'action des néonicotinoïdes et des spinosynes .....	31
Figure 11 : Mode d'action des lactones macrocycliques .....	32
Figure 12 : Mode d'action des IGR de première génération.....	35
Figure 13 : Principaux mécanismes de résistance aux insecticides .....	39
Figure 14 : La <i>knockdown résistance</i> face aux pyréthriinoïdes.....	40
Figure 15 : La <i>dieldrin resistance</i> face aux phénylpyrazolés.....	41
Figure 16 : La <i>ace resistance</i> face aux organophosphorés et aux carbamates .....	42
Figure 17 : La 'Mu nAch resistance' face aux néonicotinoïdes et spinosynes .....	43
Figure 18 : Métabolisme de détoxification de l'insecticide .....	44
Figure 19 : Réaction d'hydrolyse par les carboxylestérasés .....	44
Figure 20 : Equation générale simplifiée d'une monooxygénation à cytochrome P450.....	46
Figure 21 : Équation générale simplifiée d'une réaction de conjugaison catalysée par la glutathion-S-transférase.....	47
Figure 22 : les différentes étapes dans la réalisation du test de sensibilité de l'OMS pour la concentration discriminante (d'après OMS, 2017) .....	51
Figure 23 : Les différentes étapes de la réalisation d'un test biologique sur un couple synergiste/insecticide (d'après OMS, 2017).....	53

## **Table des tableaux**

Tableau 1 : Adulticides neurotoxiques utilisables chez le Chien contre les puces (liste non exhaustive) ..	26
Tableau 2 : Adulticides neurotoxiques utilisables chez le Chat contre les puces (liste non exhaustive) ....	27
Tableau 3 : Inhibiteurs de croissance utilisables chez le Chien contre les puces (liste non exhaustive).....	33
Tableau 4 : Inhibiteurs de croissance utilisables chez le Chat (liste non exhaustive) .....	34

## Introduction aux enjeux du phénomène de résistance aux insecticides

Les insecticides sont utilisés dans de nombreux domaines. Leurs usages en agriculture ont participé au développement d'une production intensive afin de répondre aux besoins accrus d'une population humaine grandissante. Les insecticides ont également montré un réel intérêt dans le domaine de la santé publique, en particulier dans la lutte contre les insectes vecteurs de différents agents pathogènes zoonotiques ou non (comme les virus du Chikungunya, de la Fièvre jaune, de la Dengue, les *Trypanosoma* sp., les *Leishmania* sp., les filaires, etc.) (Savic et al., 2018). Les insecticides sont également utilisés en médecine vétérinaire, tant pour les animaux de production que pour les animaux de sport et de compagnie. Selon un rapport de mars 2010 de l'entreprise Vetnosis (Crosia, 2011), les antiparasitaires, toutes espèces confondues – animaux de sport et de compagnie et animaux de production, représentent 28% du marché du médicament vétérinaire. Cette utilisation massive s'explique par les désagréments importants causés par les piqûres des puces touchant les animaux mais également leurs propriétaires, par les maladies qu'elles peuvent transmettre comme par exemple la bartonellose ou encore la cestodose à *Dipylidium caninum* mais également par les troubles dermatologiques qu'elles peuvent entraîner. Ces derniers représentent plus de 50% des pathologies rencontrées en médecine vétérinaire et une des principales causes de consultation chez un vétérinaire (Guaguère, Prélaud, 2006).

Cependant, cette utilisation massive d'insecticide a créé une pression de sélection importante où seuls les individus porteurs d'allèles de résistance peuvent survivre et se reproduire et transmettre cette résistance à leur descendance. Ce phénomène a été décrit pour la première fois en 1914 après avoir observé que le sulfure de calcium était moins efficace qu'auparavant pour lutter contre la Cochenille de San José ou les pucerons des vergers (Melander, 1914). Par la suite, quelques cas sporadiques d'insectes résistants aux pesticides ont été rapportés jusqu'aux années 40. Les premiers insecticides synthétiques dans les années 40 (dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT), cyclodiènes, organophosphorés...) ont montré une plus grande efficacité et un spectre d'action plus large mais leur utilisation massive et répétée s'est accompagnée d'une croissance du nombre de cas d'insectes résistants aux insecticides (Sparks, Nauen, 2015). La figure 1 illustre l'importante croissance du nombre de cas d'insectes résistants recensés (Forgash, 1984).



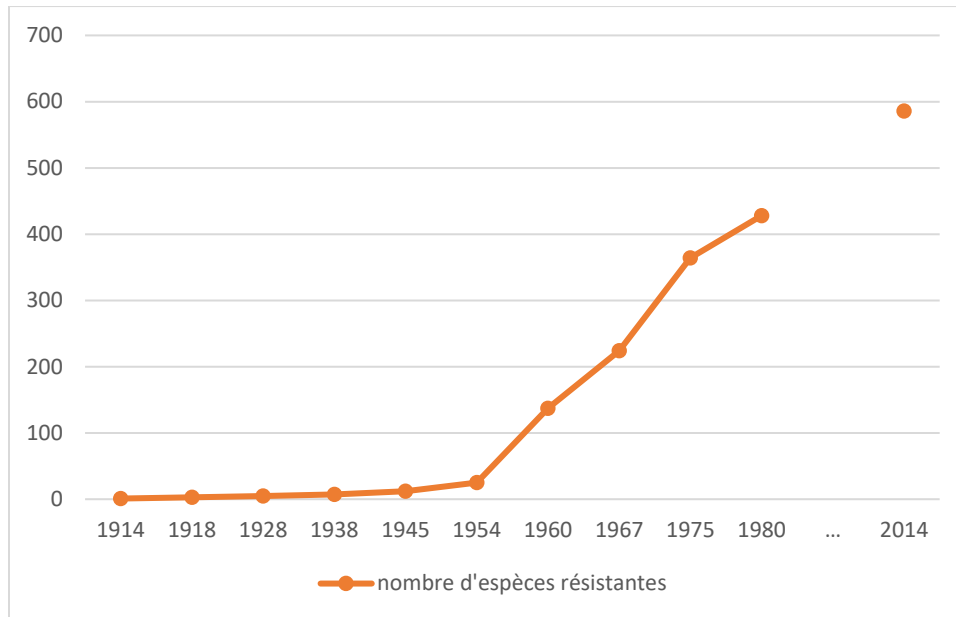


Figure 1 : Nombre d'espèces d'insectes résistantes à un ou plusieurs insecticides

Devant ces chiffres, l'étude et la gestion de ce phénomène se sont alors imposées. Certains organismes se sont alors créés afin de prévenir ou ralentir le développement de résistances chez les insectes. C'est le cas par exemple de l'IRAC (Insecticide Resistance Action Committee) créé en 1984 et qui est un regroupement de plusieurs industriels d'insecticides et d'acaricides contre les ravageurs des cultures mais aussi contre les vecteurs d'agents pathogènes pour les humains et les animaux.

Dans cette thèse, nous nous intéressons aux phénomènes de résistance dans l'espèce *Ctenocephalides felis* infestant les chiens et les chats. La première partie est une synthèse bibliographique des connaissances actuelles concernant la morphologie, la biologie et l'importance médicale de *C. felis*. La deuxième partie présente les connaissances actuelles concernant les différents mécanismes de résistance aux insecticides identifiés chez les insectes et ceux qui ont pour l'instant été identifiés chez la Puce du Chat, *Ctenocephalides felis*.

I. Étude bibliographique de la puce *Ctenocephalides felis* (Bouché, 1835) et moyens de lutte

A. *Ctenocephalides felis* : présentation, biologie et rôle pathogène

1. Présentation

1.1. Aspects taxonomiques

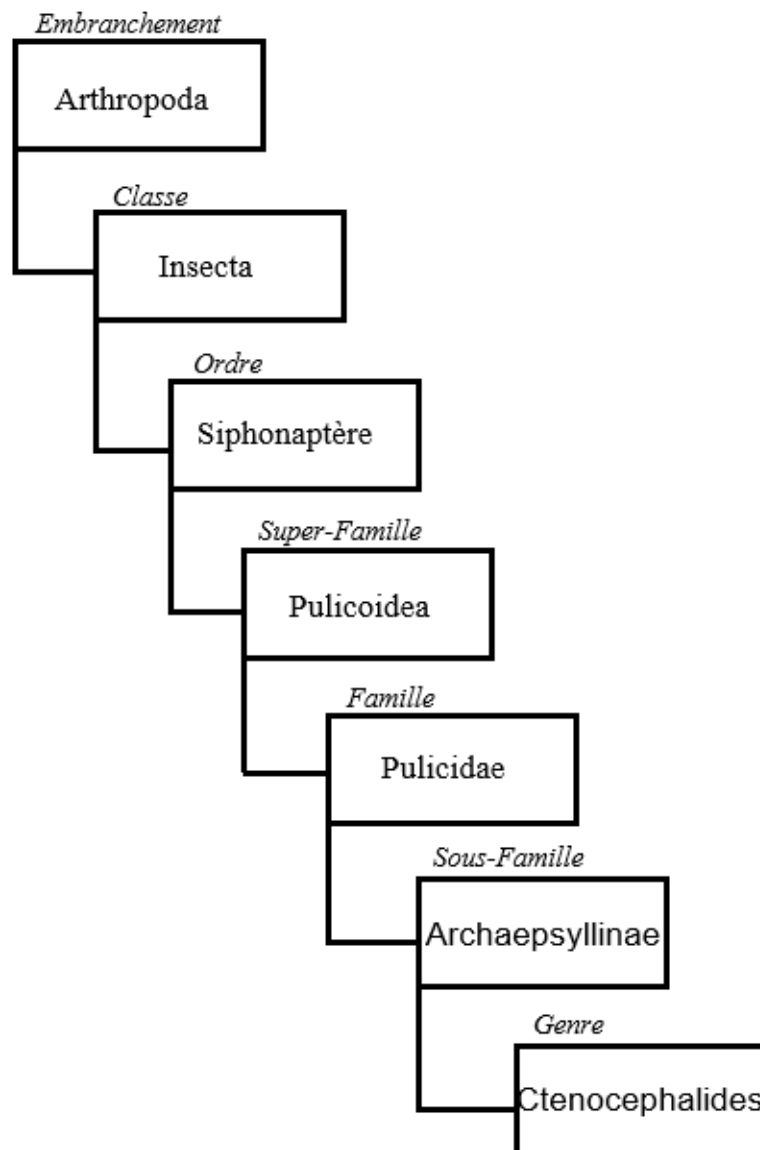


Figure 2 : Arbre phylogénétique simplifié de *Ctenocephalides sp.* (d'après Beaucournu, Launay, 1990 ; Beaucounu, Menier, 1998)

Les puces sont des insectes aptères de petite taille (1 à 4 mm) dont le corps est comprimé latéralement. Leur corps est divisé en trois parties : la tête, le thorax et l'abdomen. Elles possèdent trois paires de pattes dont les postérieures adaptées au saut. Enfin, elles possèdent un appareil buccal de type piqueur (Beaucournu, Launay, 1990 ; Beaucournu, Menier, 1998).

### 1.2. *Ctenocephalides felis* : une puce largement répandue

Les puces du genre *Ctenocephalides* sont les ectoparasites le plus fréquemment rencontrés chez les chiens et les chats du monde entier (Lawrence et al., 2015). Une enquête conduite sur 392 chiens parasités par des puces provenant de 80 départements de France en 1998 a révélé que 86.6% des puces retrouvées appartenaient à l'espèce *Ctenocephalides felis*, 11.2% appartenaient à l'espèce *Ctenocephalides canis* et le dernier pourcentage de puces retrouvées étaient des puces appartenant à d'autres genres (*Pulex irritans* 0.8%, *Archeopsylla erinacei* 1.3%) (Franc et al., 1998). Une autre enquête conduite cette fois-ci sur 403 chats parasités par des puces provenant de 75 départements de France en 2000 a révélé que 97.9% des puces retrouvées appartenaient à l'espèce *Ctenocephalides felis*, 0.5% à l'espèce *Ctenocephalide canis*, les autres espèces étant à nouveau trouvées de façon exceptionnelle (*Spilopsyllus cuniculi* : -0.9%, *Ceratophyllus sp.* : -0.3%, *Xenopsylla cheopis* : -0.07%, *Pulex irritans* : -0.07%, *Archeopsylla erinacei* : -0.07% et *Leptopsylla segnis* : -0.07% (Cadiergues et al., 2000)).

### 1.3. Répartition géographique

#### 1.3.1. Répartition dans le monde

De nombreuses études portant sur les puces montrent la présence de *Ctenocephalides felis* sur tous les continents du globe : en Afrique (Morsy et al., 1980 ; Ismail et al. 1982 ; Nihad et al., 1998), en Amérique (Dryden, Rust, 1994 ; Harman et al., 1987), en Asie (Klein, 1971 ; Shanta et al., 1980 ; Burgu et al., 1985 ; Manghaur et al., 1993), en Océanie (Wilson-Hanson, Prescott, 1982 ; Coman et al., 1981 ; O'Callaghan et al., 1984 ; Guzman, 1984) et en Europe (Liebisch et al., 1985 ; Kalvelage, Munster, 1991 ; Haarloev, Kristensen, 1977, Niak, 1972 ; Koutinas et al., 1995).

### 1.3.2. Répartition en France

À la différence de *Ctenocephalides canis* qui se retrouve préférentiellement en climat montagnard ou océanique aquitain, *Ctenocephalides felis* est présente sur l'ensemble du territoire français. Elle se retrouve préférentiellement en plaine : une étude a montré que chez les chiens vivant au-dessus de 400 mètres d'altitude, 11,2% des chiens parasités étaient porteurs de *Ctenocephalides felis* alors que 32,5% des chiens parasités étaient porteurs de *Ctenocephalides canis*. Enfin, *Ctenocephalides felis* infeste le pelage des animaux ayant un mode de vie aussi bien intérieur qu'extérieur (Franc et al., 1998 ; Cadiergues et al., 2000a).

## 2. Morphologie

### 2.1. Morphologie des adultes

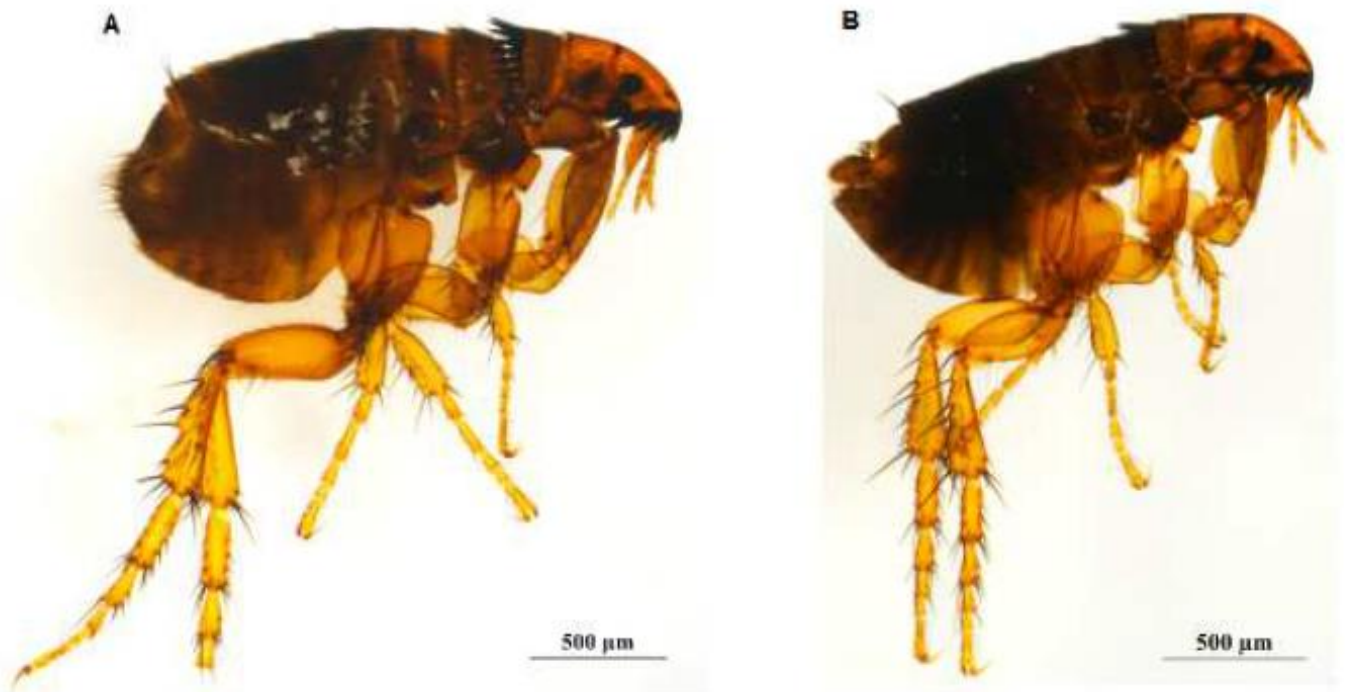


Figure 3 : *Ctenocephalides felis* adulte (d'après Bouhsira, 2014)

A : *C. felis* femelle ; B : *C. felis* mâle

*Ctenocephalides felis* est un insecte de couleur brun orangé à foncé et de petite taille : les femelles adultes mesurent entre 2,5 et 3,2 mm de long et les mâles adultes mesurent 1,5 à 2,3 mm de long (Bouhsira, 2014). Sa morphologie est adaptée à un déplacement dans le pelage de l'hôte : le corps est aplati latéralement et les épines présentes sur le tégument sont inclinées vers l'arrière. L'appareil buccal, de type piqueur, est adapté au mode d'alimentation de la puce hématophage. L'imago de *C. felis* possède trois paires de pattes, dont la troisième paire est très développée conférant à l'insecte la capacité de faire de grands sauts, permettant notamment l'infestation de l'hôte juste après l'émergence imaginaire (Beaucournu, Launay, 1990). *C. felis* peut faire des sauts d'une longueur moyenne de  $19,9 \pm 9,07$  cm et de hauteur moyenne de 13,2 cm (Cadiergues et al., 2000b).

## 2.2. Morphologie des œufs, des larves et des nymphes



Figure 4 : Œuf et larve de *Ctenocephalides felis*

A : larve, B : œuf

(Auteur de la photo : H. Dumas ; Référence de la photo : 95 292 ; <https://www.galerie-insecte.org/>)

Les œufs de *C. felis* sont ovoïdes, de couleur blanchâtre et mesurent en moyenne  $506,3 \pm 24,0 \mu\text{m}$  de long et  $333,2 \pm 18,2 \mu\text{m}$  de large (Cadiergues, 2000c). Juste après l'éclosion, les larves sont encore de la même couleur que les œufs. Puis, elles se colorent rapidement avec la prise de nourriture. Sur la Figure 4, la larve prend un repas constitué de sang digéré par les adultes, et du fait de la transparence de son tégument, la coloration du tube digestif est visible et progressive au fur et à mesure de l'avancée du bol alimentaire. La larve est allongée et mesure 0.5 à 1 mm de long au stade I. Elle mue deux fois pour atteindre environ 5 mm de long au stade larvaire III. Son appareil buccal de type broyeur lui permet de se nourrir de matières organiques telles que des squames, des débris alimentaires et fécaux, ou des déjections de puces adultes riches. Peu avant la mue nymphale, *C. felis* arrête de s'alimenter et tisse un cocon mesurant entre 4 et 6 mm grâce à des fibres de soie qu'elle produit au niveau de ses glandes salivaires. La larve, dans le cocon, se métamorphose alors en nymphe de morphologie très similaire à celle de l'adulte (Bouhsira, 2014).

### 3. Cycle biologique

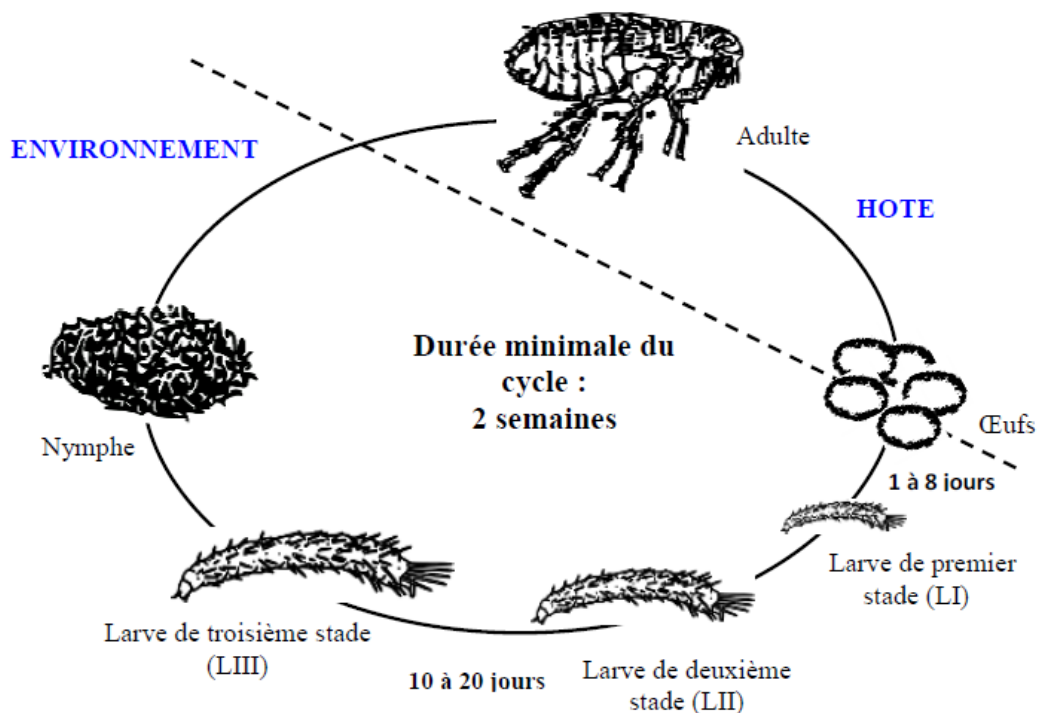


Figure 5 : Cycle biologique de *Ctenocephalides felis* (d'après Bouhsira, 2014)

*Ctenocephalides felis* est un insecte holométabole (c'est-à-dire avec une métamorphose complète avec un stade immobile nymphal). Son cycle évolutif débute avec l'œuf, suivi de trois stades larvaires, du stade nymphal et se termine avec l'imago (Figure 5). Il peut durer au minimum 14 jours à 27°C et jusqu'à 6 mois en l'absence de stimulation des cocons. En moyenne, il dure entre 3 et 5 semaines et dépend des conditions de température et d'humidité (Dryden, Rust, 1994).

### 3.1. Reproduction de *Ctenocephalides felis*

Bien que la parthénogénèse soit observée dans un grand nombre d'ordres d'insectes, *C. felis* nécessite l'accouplement d'un mâle et d'une femelle pour la ponte d'œufs viables. De plus, la ponte ne s'effectue qu'après le repas de la puce. En effet, une étude a montré que des femelles isolées pouvaient pondre, après un repas de sang, des œufs stériles. En revanche, en présence de mâles, ces mêmes femelles pouvaient pondre des œufs viables, 24 à 48 heures après leur repas. Enfin cette ponte ne s'observait pas si les femelles, bien qu'elles soient en présence de mâles, ne pouvaient pas se nourrir (Zakson-Aiken et al., 1996). Les femelles pondent en moyenne entre 20 et 30 œufs par jour. L'accouplement et la ponte ont lieu sur l'hôte (Dryden, Rust, 1994).

### 3.2. Les œufs

En deux heures, environ 60 % des œufs tombe du pelage de l'hôte dans l'environnement. Le plus grand nombre se retrouve sur le lieu de couchage de l'hôte mais ce dernier peut disséminer les œufs dans tous les endroits qu'il fréquente. L'éclosion dépend des conditions de température et d'humidité : à 27°C les premières éclosions peuvent avoir lieu dès le premier jour tandis que les premières larves n'apparaissent qu'à partir du troisième jour à 19°C. Les dernières éclosions s'observent jusqu'au septième jour (Cadiergues, 2000c). Enfin, 65 % des œufs ne résiste pas à une température de 3°C pendant 24 heures (Dryden, Rust, 1994).

### 3.3. Les larves

La larve LI ou larve de premier stade est appelée pronympe. Elle est peu active et ne se nourrit pas. Ce stade est très court et se termine par la première mue de croissance. La larve de deuxième stade LII est plus active. Elle fuit la lumière et a tendance à se réfugier sous les plinthes, les meubles, les coussins, à s'enfoncer dans les tapis ou les moquettes ou encore à se cacher sous des feuilles et des branchages à l'extérieur. C'est seulement à ce stade que la larve se nourrit. Ce stade dure entre 10 et 20 jours en moyenne. Une nouvelle métamorphose transforme la larve LII en prénymphe ou prépupe, la larve de troisième stade ou larve LIII. À la fin de ce stade, la larve LIII arrête de s'alimenter et commence à confectionner son cocon. C'est dans le cocon que la larve se métamorphose en nymphe (Bouhsira, 2014). La durée de développement de la larve est une nouvelle fois dépendante de la température et de l'humidité. Les conditions optimales de développement de la larve sont une température de 27 à 32°C et une humidité relative entre 75 et 92 %. En dessous de 13°C, les larves ne peuvent pas passer au stade nymphal. Les larves ne survivent pas à une humidité relative inférieure à 33 % quelle que soit la température. Elles cherchent donc à se protéger de la dessiccation dès le stade LII. Elles ne survivent pas non plus à une humidité relative de 100%, humidité pour laquelle de nombreux champignons se développent sur les larves (Silverman et al., 1981).

### 3.4. Les nymphes

L'aspect collant du cocon permet l'agglutination de débris de l'environnement et de grains de poussière le rendant difficilement visible. Il est possible de retrouver ces cocons aux mêmes endroits que les larves : sous les tapis, sous les meubles, sur les lieux de couchage des hôtes et dehors sur le sol ou dans la végétation (Bouhsira, 2014). L'éclosion est déclenchée par un stimulus : des vibrations (mouvement d'un animal à proximité, aspirateur, etc.), une variation de température ou encore une variation de dégagement de CO<sub>2</sub> (Beaucournu, Launay, 1990). Les nymphes peuvent rester dans leur cocon entre 6 jours dans des conditions de température et d'humidité favorable et en présence de stimulation jusqu'à 6 mois en l'absence de stimulation.



### 3.5. L'imago

La puce adulte nouvellement émergée recherche rapidement un hôte à infester. En conditions expérimentales, le temps moyen de survie de 50% de la population de *C. felis* à jeun est de 11,7 jours à 19°C et de 9,6 jours à 27°C. Après le premier repas de sang, le temps moyen de survie de 50% de la population de *C. felis* est de 4,9 jours à 19°C et de 3 jours à 27°C. Un nouveau repas sanguin est alors nécessaire à leur survie (Cadiergues, 2000c). La puce prend plusieurs repas dans la journée, ce qui est indispensable à la maturation des ovaires et la capacité à la reproduction (Dryden, Rust, 1994).

## 4. Rôle pathogène

### 4.1. Rôle pathogène direct

Les puces ont un rôle pathogène direct par les nuisances qu'elles créent par leurs piqûres. Ces nuisances peuvent même toucher l'Homme lors d'infestation massive car *C. felis* a une très faible spécificité d'hôte. La pulicose est une infestation prurigineuse avec ou sans réaction d'hypersensibilité. Lors d'infestation importante, la spoliation sanguine peut être marquée.

#### 4.1.1. Pulicose simple

La pulicose est la première cause de prurit sur un chien ou un chat. L'intensité du prurit est en regard du niveau d'infestation : plus il y a de puces, plus l'hôte est amené à se gratter. Lors de la piqûre, la puce inocule dans le derme de la salive aux propriétés irritantes (libération de protéases salivaires anticoagulantes et vaso-dilatatrices). Un chat infesté de puces passe en moyenne deux fois plus de temps à se toiletter et huit fois plus de temps à se gratter qu'un chat non parasité (Eckstein, Hart, 2000).

Les lésions observées sont des papules et un léger squamosis au niveau du triangle dorso-lombaire, en région périnéale et sur les cuisses. En cas de chronicité, une légère alopecie et une coloration du poil à cause du léchage répété peuvent être observées (Bouhsira, 2014).

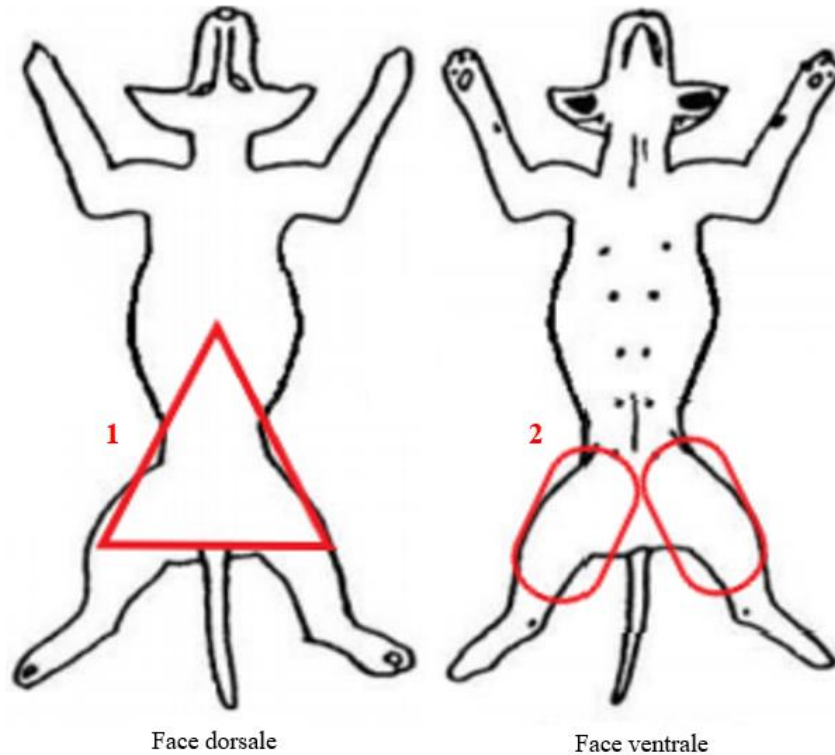


Figure 6 : Zones des lésions retrouvées en cas de pulicose  
1 : triangle thoraco-lombaire ; 2 : cuisses

#### 4.1.2. Dermatite par allergie aux piqûres de puces (DAPP)

Certains animaux deviennent, à la suite d'expositions répétées, allergiques aux piqûres de puces. La présence d'une seule puce peut alors entraîner un prurit très intense. C'est une cause très fréquente de consultation chez un vétérinaire. Le Chien semble plus sensible que le Chat. Les signes cliniques sont proches de la pulicose simple au moins en début d'évolution. Lors d'évolution chronique, les lésions peuvent s'aggraver en pyodermite superficielle ou profonde. À terme, la peau se modifie avec une hyperpigmentation et une lichénification de celle-ci (Bouhsira, 2014).

#### 4.1.3. Dermatites compliquées causées par les puces chez le Chat

Outre la DAPP où il est également possible d'observer des lésions auto-induites de la face et du cou (excoriations dues au grattage) et une hypersensibilité dorsale, les chats parasités peuvent, quant à eux, présenter des entités cliniques propres à leur espèce comme la dermatite miliaire. Celle-ci se caractérise par des papules croûteuses localisées sur la ligne du dos, la face et le cou. La dermatite miliaire peut également être généralisée. Plus rarement, des lésions du complexe granulome éosinophilique félin peuvent survenir. Celles-ci peuvent se manifester sous forme de plaques, ulcères ou granulomes et sont caractérisées par leur richesse en granulocytes éosinophiles à l'examen histologique (Bouhsira, 2014).

#### 4.1.4. Spoliation sanguine

Une autre conséquence directe d'une infestation par les puces est la spoliation sanguine. À la différence des réactions d'hypersensibilité aux piqûres, cette dernière est d'autant plus marquée que l'animal est jeune et l'infestation massive. Une puce adulte a une consommation journalière moyenne estimée à 13,6 µL de sang. Les femelles *C. felis* peuvent consommer un volume sanguin correspondant à 15 fois leur poids. Ainsi, une anémie chronique ferriprive peut être observée chez les animaux fortement infestés (Dryden, Rust, 1994). En 1998, une étude menée au Brésil sur quatre veaux fortement infestés a décrit des animaux léthargiques, déshydratés, présentant des muqueuses pâles et une perte de poids notable (Araujo et al., 1998). En 1993, un chaton de 6 semaines sévèrement infesté de puces a été admis dans un centre hospitalier vétérinaire américain. Son hématoците a été mesuré à 3%. Après transfusion, traitement antipuce et réalimentation, le chaton a présenté une sévère tachypnée. Les examens complémentaires ont permis de mettre en évidence un œdème pulmonaire et une cardiomégalie sévère. Celle-ci était secondaire à l'anémie du chaton (Yaphe et al., 1993). De telles conséquences sont tout de même rares et concernent principalement les très jeunes animaux fortement infestés.

## 4.2. Rôle pathogène indirect

*Ctenocephalides felis* a également un rôle pathogène indirect car elle est le vecteur d'helminthes, virus et bactéries.

### 4.2.1. Vecteur d'helminthes

#### 4.2.1.1. Cestode : *Dipylidium caninum*

*Dipylidium caninum*, plathelminthe de taille moyenne (10 à 70 cm de long, 2 à 3 mm de large) appartenant à la classe des Cestodes, est un parasite fréquent de l'intestin grêle du Chat, du Chien et même parfois de l'Homme. Les œufs du parasite directement infestant sont ingérés par les larves LII de *Ctenocephalides felis*, hôte intermédiaire de *D. caninum* (Guzman, 1984). Les chiens et les chats, hôtes définitifs, se parasitent eux-mêmes en ingérant, durant leur toilette, les puces infestées contenant le stade cysticercoïde. Les vers se développent alors dans les intestins des chiens et des chats. La période prépatente est de 4 à 6 semaines. Les proglottis gravides ou segments ovigères contiennent des capsules ovifères résultant de la fragmentation de l'utérus. Chaque capsule ovifère contient entre 3 et 30 œufs. Ces segments ovigères très musculieux se détachent (il n'y a pas d'orifice de ponte) et ressemblent à des grains de riz. Les signes cliniques d'un animal infesté de *D. caninum* sont rarement des troubles gastro-intestinaux et beaucoup plus fréquemment du prurit anal voire une obstruction du canal des glandes anales. L'animal présente alors le signe du traîneau (Gopinath et al., 2018).

L'Homme est un hôte accidentel et les infestations par *D. caninum* concernent principalement les enfants de bas âges. En effet, un tiers des cas rapportés concerne des enfants âgés de moins de 6 mois mais ces chiffres sont peut-être sous-estimés. L'infestation se fait par ingestion d'une puce parasitée (Molina et al., 2003).

#### 4.2.1.2. Nématode : *Acanthocheilonema reconditum*

*Acanthocheilonema reconditum* est une des filaires de petite taille (de 13 mm de long chez le mâle jusqu'à 32 mm chez la femelle) infestant le Chien et appartenant à la sous-famille des Onchocercinae. L'hôte intermédiaire majeur de ce nématode est *Ctenocephalides felis*. Plus secondairement d'autres espèces de puces et des poux (*Heterodoxus spiniger*, *Linognathus setosus*) peuvent également intervenir. Environ 5% des populations de puces et de poux est infesté par *A. reconditum* (Otranto, 2013). Les adultes se retrouvent principalement dans les tissus sous-cutanés des membres et du dos des chiens, hôtes définitifs du parasite. Les microfilaires, quant à elles, sont dans la circulation systémique. La microfilaire est alors ingérée par la puce au cours du repas de sang. Elle évolue ensuite dans la puce jusqu'au stade LIII qui est le stade infestant. Le chien s'infesterait par ingestion de la puce contenant les LIII, l'infestation par piqûre n'est pas encore totalement exclue, bien que peu probable (Napoli et al., 2014).

#### 4.2.2. Vecteur de virus

Contrairement aux helminthes et aux bactéries, peu d'études ont été menées sur la transmission de virus par *Ctenocephalides felis*. Une étude réalisée en 2003 a montré que les puces du chat pouvaient être des vecteurs du virus leucémogène félin (FeLV) *in vitro* et probablement aussi *in vivo* (Vobis et al., 2003). Une autre étude menée en 2009 a montré que les puces du chat pouvaient être des vecteurs du calicivirus félin (Mencke et al., 2009). Les deux études ont montré que les puces pouvaient inoculer le virus par leur piqûre mais aussi le sécréter dans leurs fèces, les chats pourraient alors s'infecter en se léchant.

### 4.2.3. Vecteur de bactéries

#### 4.2.3.1. Les mycoplasmes

Les mycoplasmes sont des bactéries qui parasitent les globules rouges engendrant une anémie hémolytique sévère. Trois espèces ont été décrites chez le chat : *Mycoplasma haemofelis* (la plus pathogène), *Candidatus Mycoplasma Haemominutum* et *Candidatus Mycoplasma turicensis*. Une étude menée en 2005 a montré qu'une transmission de *Candidatus Mycoplasma haemominutum* et *Mycoplasma haemofelis* par l'intermédiaire de *Ctenocephalides felis* était possible dans les conditions expérimentales (Woods et al., 2005). Cependant, ce mode de contamination semble très minoritaire par rapport à une contamination directe par morsure entre congénère (Bouhsira, 2014).

#### 4.2.3.2. *Yersinia pestis*

*Yersinia pestis* est une bactérie Gram négatif responsable de la Peste, zoonose affectant principalement les petits mammifères et les puces qui les parasitent. Elle se transmet d'un animal à l'autre par les puces et l'homme peut être également infecté par les piqûres de puces mais aussi par contact rapproché avec une autre personne infectée. La Peste peut être très grave chez l'Homme chez qui le taux de létalité varie de 30 à 100% en l'absence de traitement et suivant la forme clinique. La Peste présente un risque zoonotique pour l'Homme dans tous les foyers regroupant des animaux porteurs. Un recensement de ces foyers a été établi par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) : la Peste est endémique dans l'ouest des États-Unis et certaines régions d'Asie, Afrique et Amérique du Sud. Les principaux vecteurs de cette bactérie sont les puces des rongeurs à savoir *Xenopsylla cheopis* et *Oropsylla montana* (McElroy et al., 2010). Il a été démontré que *Ctenocephalides felis* serait un très mauvais vecteur du bacille mais qu'il ne faudrait toutefois pas négliger du fait de sa présence prédominante dans les habitations humaines (Bouhsira, 2014). Enfin, les chats sont très sensibles à la peste et peuvent présenter un risque de contamination humaine par la morsure mais également par leur comportement de chasseur en ramenant des rats parasités par des puces infectées dans les foyers (McElroy et al., 2010).

#### 4.2.3.3. *Rickettsia* spp.

*Ctenocephalides felis* peut être le vecteur d'au moins deux espèces de rickettsies, bactéries Gram négatif : *Rickettsia typhi* agent du typhus murin et *Rickettsia felis* agent de la rickettsiose boutonneuse à puce. Ces deux maladies sont des zoonoses.

Le principal réservoir de *Rickettsia typhi* est le Rat et la transmission se fait principalement par les puces du rat, en particulier *Xenopsylla cheopis* et parfois par les puces du chat, *Ctenocephalides felis* (McElroy et al., 2010). La séroprévalence de *R. typhi* est importante chez les Chats et les Chiens en Europe et aux États-Unis. Les animaux et l'Homme s'infectent par la contamination d'une plaie cutanée par des déjections de puces infectées (Bouhsira, 2014).

Les principaux réservoirs et vecteurs de *Rickettsia felis* sont les puces *Ctenocephalides felis* (McElroy et al., 2010). Ces rickettsies ont été retrouvées dans 21.2% des puces *Ctenocephalides felis* et *Ctenocephalides canis* (Lawrence et al., 2015). Cette bactérie est transmise de façon verticale (*i.e.* de génération en génération par transmission transovarienne) et de stade à stade. La présence de *R. felis* dans les glandes salivaires de *C. felis* laisse supposer une transmission possible à l'hôte vertébré, essentiellement le Chat, lors du repas sanguin de la puce bien qu'il ne soit pas exclu qu'une transmission par les fèces se produise également (Bouhsira, 2014).

#### 4.2.3.4. *Bartonella henselae*

*Bartonella henselae* est une bactérie Gram négatif responsable de la zoonose appelée Maladie des Griffes du Chat. Le principal réservoir de cette bactérie est le Chat domestique. Les Chiens et d'autres animaux peuvent également être impliqués en tant que source d'infection pour l'Homme. Les Chats sont porteurs asymptomatiques. *Ctenocephalides felis* est le principal vecteur de *B. henselae*. Les bactéries sont transmises entre les animaux et de l'animal à l'Homme par la contamination d'une plaie cutanée (comme une plaie de morsure ou de griffade) par des déjections de puces infectées (McElroy et al., 2010).

## B. Moyen de lutttes : présentation des différents insecticides utilisés en médecine vétérinaire

Les moyens de lutte sont nombreux pour permettre :

- D'éliminer rapidement les puces sur l'animal infesté, notamment chez les animaux atteints de DAPP
- De prévenir les réinfestations, en effet on rappelle qu'en moyenne 5% seulement de la population se trouve sur l'hôte tandis que 95% des puces évolue dans l'environnement
- Une bonne observance par les propriétaires, les antiparasitaires se présentent sous différentes formulations (spot-on, comprimés, colliers, spray...) pour un usage facilité et adapté.

Les molécules utilisables sont des adulticides neurotoxiques interagissant avec le système nerveux central des puces et des régulateurs de croissance interagissant avec le développement normal des puces. Elles s'utilisent seules ou en association sur l'animal et/ou dans l'environnement. Pour l'environnement, il est également possible d'utiliser des adulticides. Toutefois, il est préférable de combiner des molécules larvicides avec une lutte hygiénique (aspiration, lavage...) car les formes immatures sont majoritaires dans l'environnement. Le Comité de surveillance des résistances aux antiparasitaires agricoles (Insecticide Resistance Action Committee ou IRAC) référence une trentaine de familles antiparasitaires, définies selon leur mode d'action. Les antiparasitaires utilisés en médecine vétérinaire se retrouvent dans une dizaine de ces familles. La plupart de ces antiparasitaires sont des molécules neurotropes.



## 1. Les neurotoxiques

### 1.1. Les adulticides neurotoxiques utilisables en médecine vétérinaire

Le tableau 1 illustre les adulticides neurotoxiques utilisables chez le Chien contre les puces.

Classes chimiques	Principes actifs	Exemples de noms déposés	Indications parasites externes (AMM)	Formulations
<b>Carbamates</b>	Propoxur	Kiltix®	Retrait de l'AMM par l'ANSES le 17/04/2012	Collier
<b>Isoxazolines</b>	Afoxolaner	Nexgard®	Tiques et puces (1 mois)	Comprimé
	Fluralaner	Bravecto®	Tiques et puces (3 mois)	Comprimé, <i>Spot-on</i>
	Sarolaner	Simparica®	Tiques, puces, (4 semaines) gale sarcoptique, gale des oreilles, démodécie	Comprimé
	Lotilaner	Credelio®	Tiques et puces (1 mois)	Comprimé
<b>Lactones macrocycliques</b>	Selamectine	Stronghold®	Puces (1 mois), gale sarcoptique, gale des oreilles, poux	<i>Spot-on</i>
<b>Néonicotinoïdes</b>	Imidaclopride (+ perméthrine)	Advantix®	Tiques et puces (4 semaines), poux, phlébotomes	<i>Spot-on</i>
	Imidaclopride (+ moxidectine)	Advocate®	Puces (4 semaines), gale sarcoptique, gale des oreilles, poux, démodécie	<i>Spot-on</i>
	Imidaclopride (+ fluméthrine)	Seresto®	Tiques et puces (7 à 8 mois), phlébotomes, poux	Collier
	Nitenpyram	Capstar®	Puces (action rapide mais pas de rémanence)	Comprimé

Classes chimiques	Principes actifs	Exemples de noms déposés	Indications parasites externes (AMM)	formulations
<b>Néonicotinoïdes</b>	Dinotéfurane (+ pyriproxifène + perméthrine)	Vectra®3D	Tiques et puces (1 mois), phlébotomes, moustiques	<i>Spot-on</i>
<b>Organosphosphorés</b>	Dimpylate (ou diazinon)	Dimpygal®	Tiques, puces, agents des gales, poux, mélophages	Solution
<b>(Phényl)Pyrazolés</b>	Pyriprole	Prac-Tic™	Tiques et puces (4 semaines)	<i>Spot-on</i>
	Fipronil	Frontline® Spray	Tiques (30 jours) et Puces (60 à 90 jours)	Spray
		Frontline® Spot-on	Tiques (1 mois) et Puces (2 mois)	<i>Spot-on</i>
		Flevox®	Tiques (1 mois) et Puces (2 mois)	<i>Spot-on</i>
		Fiprokil®	Tiques (1 mois) et Puces (2 mois)	<i>Spot-on</i>
		Eliminall®	Tiques (1 mois) et Puces (2 mois)	<i>Spot-on</i>
		Effipro®	Tiques (1 mois) et Puces (2 mois)	<i>Spot-on</i>
	Fipronil (+ amitraz +(S)-méthoprène)	Certifect®	Tiques et puces (5 semaines), poux	<i>Spot-on</i>
	Fipronil (+perméthrine)	Effitix®	Tiques et puces (4 semaines), phlébotomes, moustiques	<i>Spot-on</i>
		Frontline® Tri-act	Tiques et puces (4 semaines), Phlébotomes, moustiques et mouches d'étable	<i>Spot-on</i>
		Synergix®	Tiques et puces (4 semaines), phlébotomes, moustiques	<i>Spot-on</i>
Fipronil (+(S)-méthoprène)	Frontline® Combo	Tiques (4 semaines), puces (8 semaines), poux broyeur	<i>Spot-on</i>	

Classes chimiques	Principes actifs	Exemples de noms déposés	Indications parasites externes (AMM)	formulations
Pyréthroïdes (ou Pyrétrinoïdes)	Deltaméthrine	Scalibor®	Tiques, moustiques, phlébotomes <small>⚠ pas d'indication pour les puces</small>	Collier
	Fluméthrine	Cf. Seresto®		
	Perméthrine	Cf. Advantix®, Vectra®3D, Effitix®		
Pulvex® Shampooing		Puces, tiques, poux, aoûtats	shampooing	
Spinosines	Spinosad	Comfortis™	Puces (4 semaines)	comprimé

Tableau 1 : Adulticides neurotoxiques utilisables chez le Chien contre les puces (liste non exhaustive)

Le tableau 2 illustre les adulticides neurotoxiques utilisables chez le Chat contre les puces.

Classes chimiques	Principes actifs	Exemples de noms déposés	Indications parasites externes (AMM)	Formulations
Carbamates	Propoxur	Catmack®	Puces (7 jours)	Pulvérisation
Isoxazolines	Fluralaner	Bravecto®	Tiques et puces (12 semaines)	Spot-on
	Sarolaner (+ selamectine)	Stronghold® Plus	Puces (5 semaines), Tiques (4 semaines), gale des oreilles, poux broyeur	Spot-on
	Lotilaner	Credelio®	Tiques et puces (1 mois)	Comprimé
Lactones macrocycliques	Selamectine	Stronghold®	Puces (1 mois), gale des oreilles, poux	Spot-on
Néonicotinoïdes	Imidaclopride	Advantage®	Puces (4 semaines)	Spot-on
	Imidaclopride (+ moxidectine)	Advocate®	Puces (4 semaines), gale notoédrique, gale des oreilles	Spot-on
	Imidaclopride (+ fluméthrine)	Seresto®	Tiques et puces (7 à 8 mois)	Collier

Classes chimiques	Principes actifs	Exemples de noms déposés	Indications parasites externes (AMM)	formulations
<b>Néonicotinoïdes</b>	Nitenpyram	Capstar®	Puces (pas de rémanence)	Comprimé
	Dinotéfurane (+ pyriproxifène)	Vectra®Felis	Puces (1 mois)	Spot-on
<b>Organophosphorés</b>	Dimpylate	Dimpylate Biocanipro	Puces (8 mois)	Collier
<b>(Phényl)pyrazolés</b>	Fipronil	Frontline® Spray	Tiques (2 semaines) et Puces (40 jours), poux broyeur	Spray
		Frontline® Spot-on	Tiques (2 semaines) et Puces (4 semaines)	Spot-on
		Flevox®	Tiques (1 semaine) et Puces (4 semaines)	Spot-on
		Fiprokil®	Tiques (2 semaines) et Puces (5 semaines)	Spot-on
		Eliminall®	Tiques et puces (4 semaines)	Spot-on
		Effipro®	Tiques (4 semaines) et Puces (6 semaines)	Spray
	Fipronil (+S)- méthoprène)	Frontline® Combo	Tiques (2 semaines) et puces (4 semaines), poux	Spot-on
		Strectis®	Tiques (5 semaines) et puces (8 semaines)	Spot-on
	Fipronil (+pyriproxifène)	Effipro®Duo	Tiques (1 semaine) et puces (5 semaines)	Spot-on
	Fipronil (+ S)- méthoprène + eprinomectine + praziquantel)	Broadline®	Tiques (3 semaines), puces (1 mois), gale notoédrique	Spot-on
Fluméthrine	Cf. Seresto®			
<b>Spinosines</b>	Spinosad	Comfortis™	Puces (4 semaines)	Comprimé

Tableau 2 : Adulticides neurotoxiques utilisables chez le Chat contre les puces (liste non exhaustive)

## 1.2. Mode d'action des neurotoxiques

### 1.2.1. Les inhibiteurs des cholinestérases

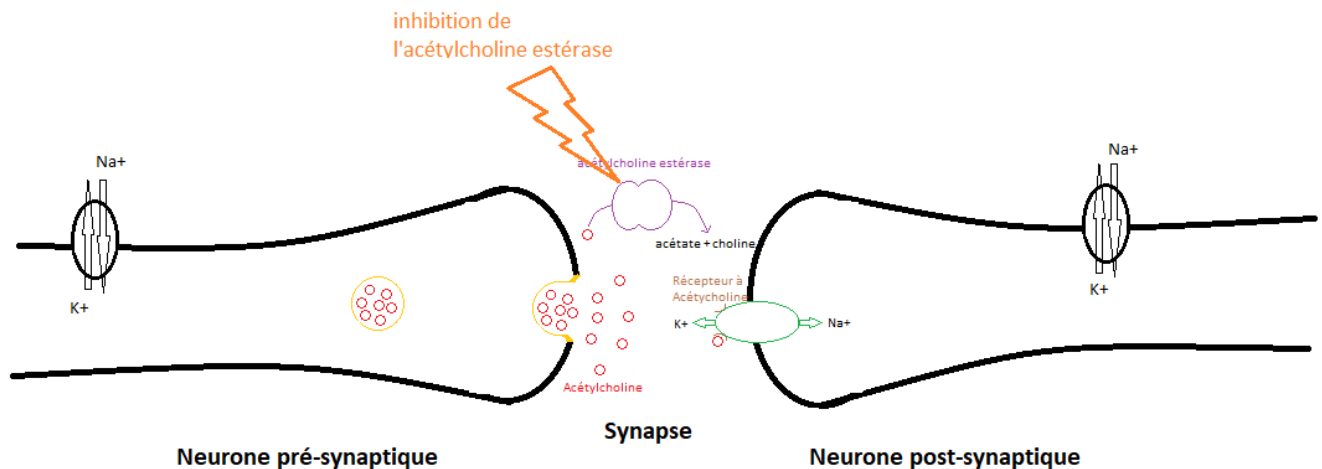


Figure 7 : Mode d'action des organophosphorés et des carbamates

Les organophosphorés et les carbamates agissent au niveau de la synapse entre deux neurones.

Afin de comprendre leurs modes d'action, il est nécessaire de présenter un rappel sur le fonctionnement d'une synapse et de la transmission d'un message nerveux. Le message nerveux se transmet de proche en proche sur le neurone présynaptique par une dépolarisation de la membrane créée par des échanges d'ions sodium ( $\text{Na}^+$ ) et potassium ( $\text{K}^+$ ). Au niveau de la jonction neuro-neuronale, le message nerveux entraîne la formation d'acétylcholine (liaison d'une molécule d'acétate et d'une molécule de choline) et sa libération dans l'espace synaptique. Ces molécules se fixent alors à des récepteurs à acétylcholine situés sur la membrane du neurone post-synaptique et provoquent une hyperpolarisation de cette membrane. Le message nerveux est alors conduit sur le neurone post-synaptique. Après transmission du message nerveux, le retour à un état de repos est assuré par des enzymes, les acétylcholinestéases, qui clivent l'acétylcholine en une molécule d'acétate et une molécule de choline. Ces molécules isolées ne peuvent plus se fixer aux récepteurs à acétylcholine et la membrane du neurone post-synaptique retourne à un état de repos.

Les organophosphorés et les carbamates inhibent l'acétylcholinestérase, entraînent une accumulation d'acétylcholine sur les récepteurs cholinergiques et produisent ainsi une stimulation continue des fibres nerveuses. Les insectes meurent par une paralysie tonique.

Ils font partie des premiers antiparasitaires utilisés en médecine vétérinaire mais sont de moins en moins utilisés voire interdits pour certains produits à cause de leur grande toxicité pour les animaux domestiques ainsi que pour leurs propriétaires.

### 1.2.2. Inhibiteurs du GABA

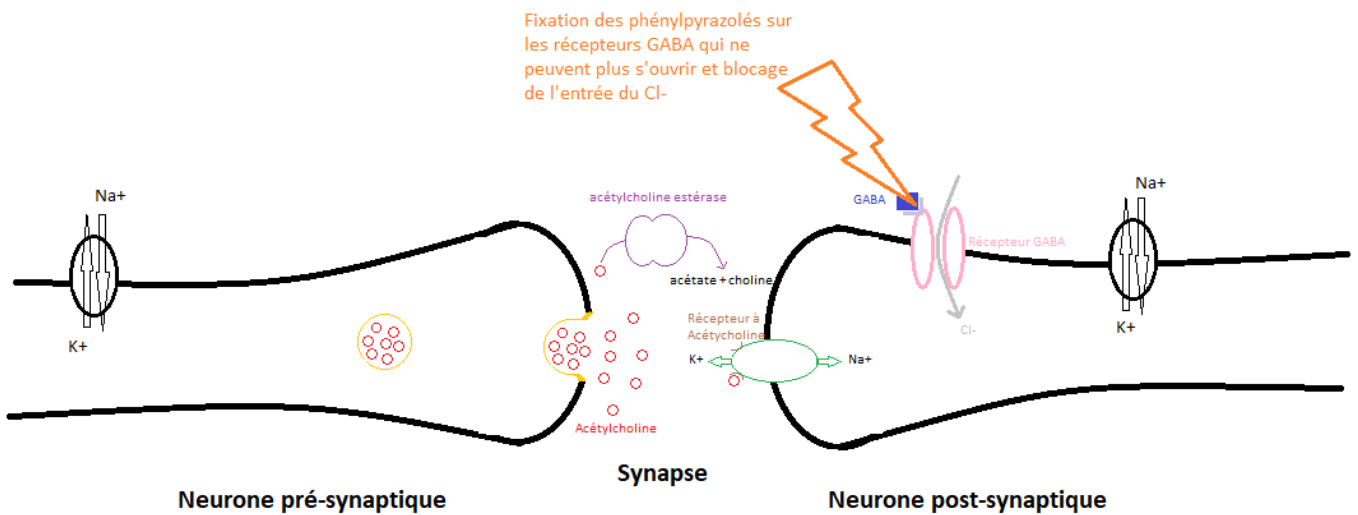


Figure 8 : Mode d'action des phénylpyrazolés et des isoxazolines

Les phénylpyrazolés et les isoxazolines agissent au niveau des récepteurs de l'acide  $\gamma$ -aminobutyrique (GABA) des neurones post-synaptiques.

Le message nerveux arrive au neurone post-synaptique et provoque l'entrée du Na<sup>+</sup> dans le neurone, ce qui dépolarise la membrane. Cette dépolarisation est à l'origine de la contraction musculaire. Quand les molécules GABA se fixent sur leur récepteur, des ions Cl<sup>-</sup> rentrent à leur tour dans le neurone et repolarise la cellule. Ce mécanisme inhibe l'excitation cellulaire et permet de retourner à un état de repos.

Les phénylpyrazolés, antagonistes des molécules GABA, se fixent aux récepteurs-canaux GABA et empêchent leur ouverture. Le retour de la cellule neuronale à un état de repos est alors impossible et les puces meurent par paralysie tonique. Les isoxazolines ont le même mode d'action mais se fixent sur un site différent des phénylpyrazolés.

Les récepteurs cibles des phénylpyrazolés sont spécifiques des arthropodes, ainsi leur utilisation donne lieu à moins d'intoxication pour les mammifères que pour les organophosphorés et les carbamates (Bouhsira, 2014).

### 1.2.3. Modulateurs du canal sodium

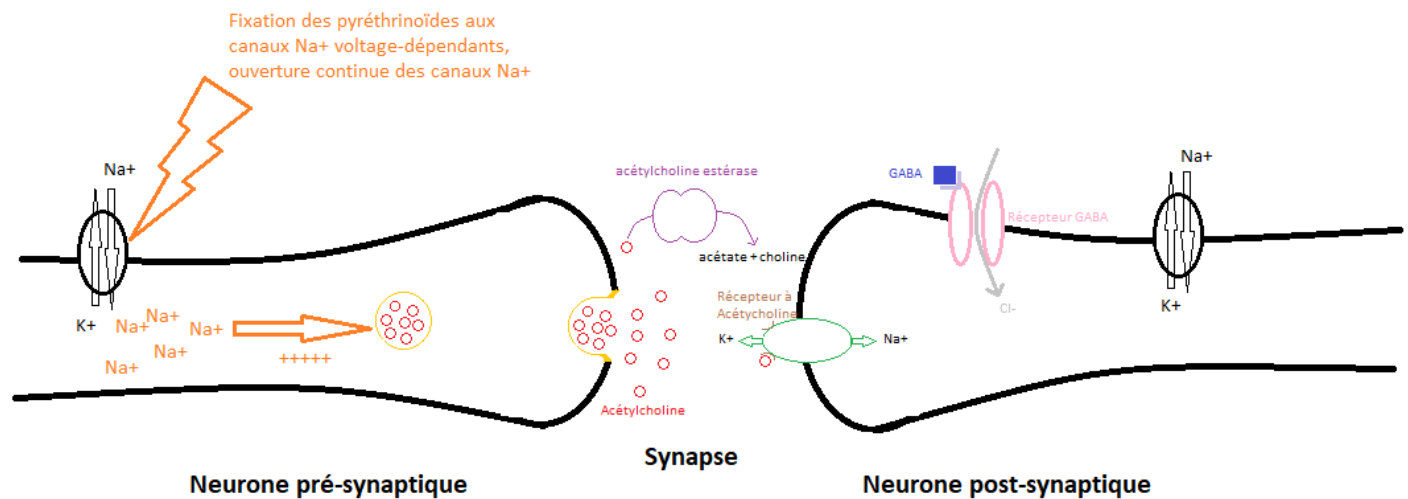


Figure 9 : Mode d'action des pyrétroïdes

Les pyrétroïdes se fixent aux canaux sodium voltage-dépendant. Les canaux sont maintenus ouverts et les ions Na<sup>+</sup>, en entrant dans la cellule neuronale, dépolarisent la membrane. Cette dépolarisation permanente provoque chez l'insecte une mort par paralysie spastique.

Les pyrétroïdes sont globalement peu toxiques chez les mammifères. Néanmoins, l'utilisation de la perméthrine est interdite chez le Chat (sauf pour une spécialité auriculaire à application externe très faiblement dosée). En effet, ces derniers ne possèdent pas la glucuronyltransférase, une enzyme hépatique indispensable à la métabolisation de ces molécules.

#### 1.2.4. Fixation aux récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine

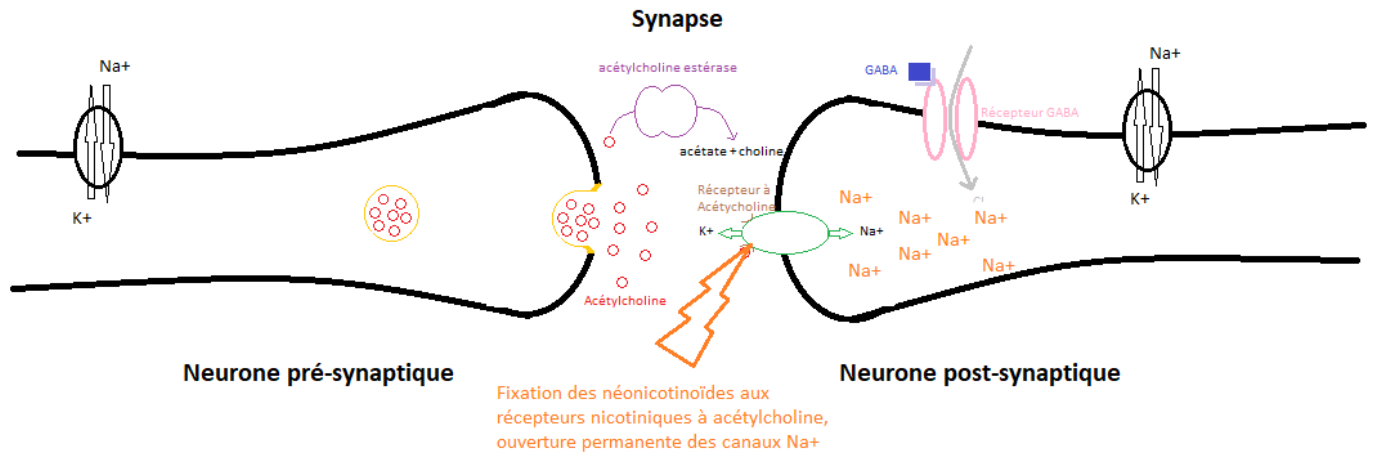


Figure 10 : Mode d'action des néonicotinoïdes et des spinosynes

Les néonicotinoïdes sont des agonistes de l'acétylcholine. Leur fixation sur les récepteurs nicotiniques à acétylcholine entraîne le maintien de l'ouverture du canal sodium. Il se produit alors une dépolarisation permanente de la membrane post-synaptique et l'insecte meurt par paralysie spastique (contraction permanente). Les spinosynes ont le même mode d'action mais se fixent sur un site différent des néonicotinoïdes.

Les néonicotinoïdes ciblent également des récepteurs spécifiques aux insectes ce qui rend cette classe d'insecticide très peu toxique pour les mammifères domestiques.



### 1.2.5. Action gaba-ergique

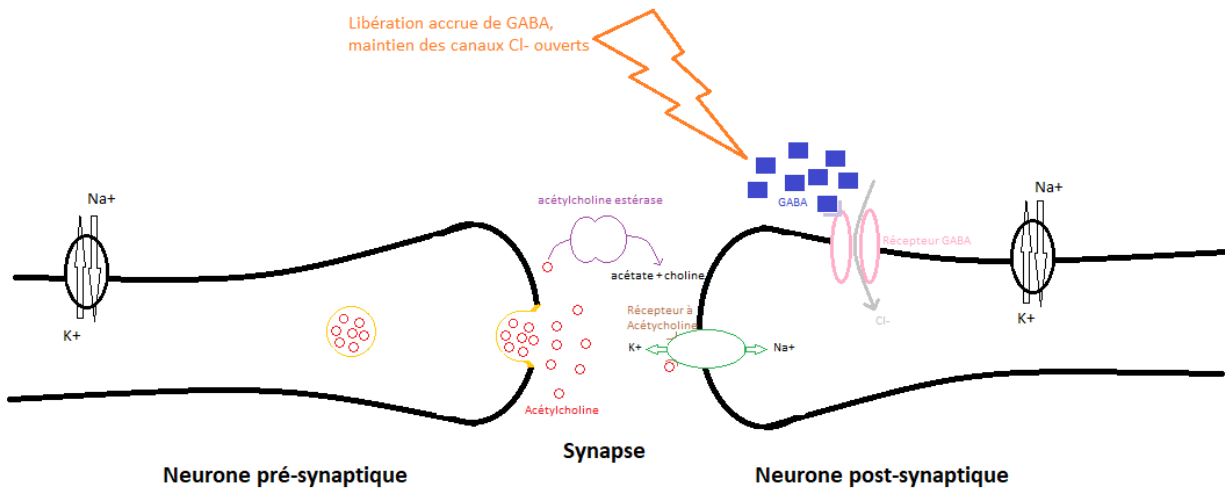


Figure 11 : Mode d'action des lactones macrocycliques

Les lactones macrocycliques favorisent la libération de molécules GABA. La fixation continue de ces molécules sur les récepteurs GABA post-synaptiques entraîne le maintien de l'ouverture des canaux  $\text{Cl}^-$ . Ainsi, la cellule neuronale se retrouve dans un état d'hyperpolarisation permanente et l'insecte meurt par paralysie flasque.

## 2. Les régulateurs de croissance : IGR

Les IGR (« Insect Growth Regulator ») sont des inhibiteurs de la reproduction et du développement normal des insectes. Il existe deux catégories :

- Les IGR de première génération : ce sont des analogues de l'hormone juvénile interférant avec les hormones de croissance de l'insecte.
- Les IGR de deuxième génération : ce sont des inhibiteurs de la synthèse de chitine et donc inhibant le développement normal de l'insecte.

## 2.1. Les inhibiteurs de croissance utilisables en médecine vétérinaire

Le tableau 3 illustre les inhibiteurs de croissance utilisables chez le Chien contre les puces.

<b>Classes chimiques/mode d'action</b>	<b>Principes actifs</b>	<b>Exemples de noms déposés</b>	<b>Indications parasites externes (AMM)</b>	<b>Formulations</b>
<b>Analogues de l'hormone juvénile = IGR de première génération</b>	(S)-méthoprène		Cf. Certifect® et Frontline® Combo	
	Pyriproxyfène	Vectra® 3D	« Empêche la multiplication des puces pendant deux mois suivant l'application en empêchant l'éclosion des œufs (activité ovicide) et en inhibant le développement des adultes issus d'œufs pondus par les puces adultes (activité larvicide) »	Spot-on
	Pyriproxyfène (+perméthrine)	Duowin® Spray	« limitation des réinfestations par inhibition du développement jusqu'au stade adulte pendant 11 semaines »	Spray
<b>Inhibiteur de la synthèse de chitine = IGR de deuxième génération</b>	Lufénuron	Program®	« traitement prophylactique de la multiplication des puces par stérilisation des œufs »	Comprimé

Tableau 3 : Inhibiteurs de croissance utilisables chez le Chien contre les puces (liste non exhaustive)

Le tableau 4 illustre les inhibiteurs de croissance utilisables chez le Chat contre les puces.

<b>Classes chimiques/mode d'action</b>	<b>Principes actifs</b>	<b>Exemples de noms déposés</b>	<b>Indications parasites externes (AMM)</b>	<b>Formulations</b>
<b>Analogues de l'hormone juvénile = IGR de première génération</b>	(S)-méthoprène	Cf. Broadline <sup>®</sup> , Frontline <sup>®</sup> Combo et Strectis <sup>®</sup>		
	Pyriproxifène	Cf. Effipro <sup>®</sup> Duo et Vectra <sup>®</sup> Felis		
<b>Inhibiteur de la synthèse de chitine = IGR de deuxième génération</b>	Lufénuron	Program <sup>®</sup>	« Prévention de la multiplication des puces et des stades larvaires, par inhibition du développement des œufs. Le produit est efficace sur les œufs et les stades larvaires des puces »	Suspension injectable, suspension buvable

Tableau 4 : Inhibiteurs de croissance utilisables chez le Chat (liste non exhaustive)

## 2.2. Mode d'action des inhibiteurs de croissance

### 2.2.1. Les analogues de l'hormone juvénile

Les IGR de première génération sont des analogues de l'hormone juvénile. Ainsi, en présence de ces insecticides, l'éclosion des œufs en larves est bloquée si le contact a lieu peu après la ponte et la mue des larves L3 au stade pupe inhibée si le contact est réalisé lors de la deuxième moitié de la vie larvaire.

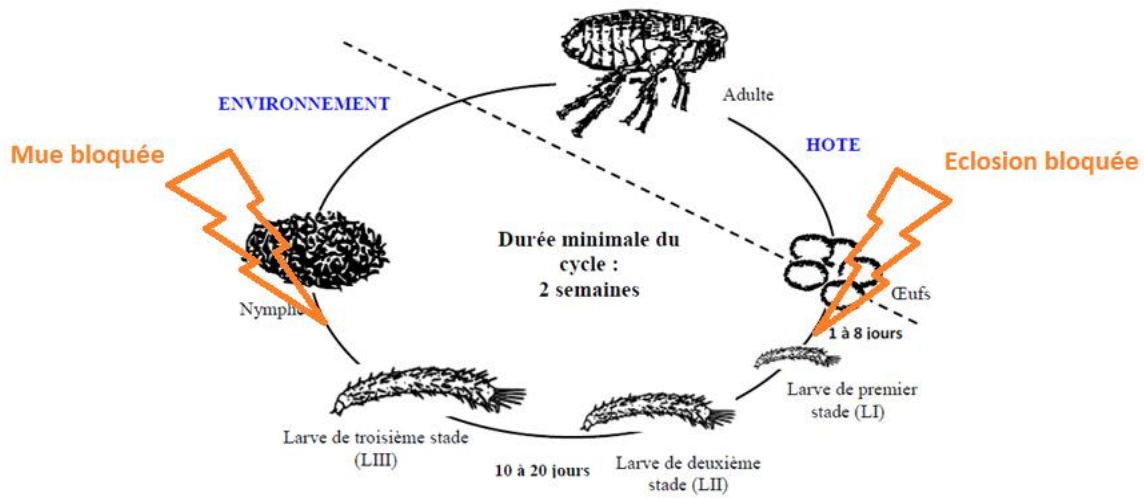


Figure 12 : Mode d'action des IGR de première génération

### 2.2.2. Les inhibiteurs de la synthèse de chitine

La chitine est un élément constitutif de la cuticule. Elle est synthétisée à chaque mue. La chitine est présente dans les parties antérieures et postérieures du tube digestif. Les IGR de deuxième génération, en inhibant la synthèse de chitine, empêchent alors l'éclosion des œufs, les mues larvaires et provoquent l'arrêt de l'alimentation des larves.

## II. Étude bibliographique de la résistance des puces aux insecticides

### A. Définition de la résistance aux insecticides

#### 1. Définition de la résistance aux insecticides par l'Organisation Mondiale de la Santé

La résistance aux insecticides est définie par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) comme étant un trait héréditaire conférant aux insectes résistants une tolérance accrue vis-à-vis d'un insecticide ou d'un groupe d'insecticides leur permettant de survivre à une concentration du pesticide normalement létale pour leur espèce (Organisation Mondiale de la Santé, 1992).

Le critère retenu par l'OMS pour déclarer l'existence d'une résistance à un insecticide est la survie d'au moins 20% des insectes exposés à l'insecticide.

#### 2. Définition du taux de résistance (ou rapport de résistance RR)

Le taux de résistance (ou ratio de résistance ou rapport de résistance  $RR_{50}$ ) d'une population d'individus se définit comme le rapport de la concentration létale 50 (ou  $LC_{50}$ ) de la population testée sur celui d'une population sensible. La concentration létale 50 d'un produit est la concentration provoquant la mort 50% des individus exposés à ce produit (Paris, 2000).

$$\text{taux de résistance } RR_{50} = \frac{LC_{50} \text{ population testée}}{LC_{50} \text{ population sensible}}$$

Ce ratio des  $LC_{50}$  permet de quantifier le degré de résistance de la population d'étude :

- $RR_{50} < 5$  : la souche est sensible, il n'y a pas de résistance
- $5 < RR_{50} < 10$  : résistance présente dans la population étudiée
- $RR_{50} > 10$  : très forte résistance dans la population

À titre d'exemple, chez une souche de laboratoire de *C. felis* il est rapporté un  $RR_{50}$  égal à 690 pour le malathion (Bossard et al., 1998). Cela signifie que ces puces résistantes sont, au maximum, 690 fois plus résistantes aux insecticides utilisés que les puces sensibles. Cette estimation du  $RR_{50}$  a été obtenue après 19 générations de puces élevées en présence de malathion afin de maintenir une pression de sélection régulière (Moyses, Buchy, 1996). Ce rapport reste néanmoins bas comparé à d'autres espèces d'arthropodes résistantes : un  $RR_{50}$  de 92 000 est rapporté chez la mouche des cornes pour le fenvalerate (Sheppard, Joyce, 1992), un  $RR_{50}$  de 6800 est rapporté chez la fausse-teigne pour les toxines de *Bacillus thuringiensis* (Tabashnik et al., 1993), un  $RR_{50}$  de 4744 est rapporté chez la tique *Boophilus decoloratus* pour le fenvalerate (Coetzez et al., 1987).

En 2019, la base de données de l'*Arthropod Pesticide Resistance Database* (APRD) rapporte 12 cas de résistance aux insecticides pour *Ctenocephalides canis* et 28 cas de résistance pour *Ctenocephalides felis* (Mota-Sanchez, Wise). Coles et Dryden (2014) nuancent la déclaration d'une résistance : quand un rapport de résistance est rapporté entre deux populations, cela ne signifie pas forcément qu'une population est résistance mais qu'il existe une sensibilité différente entre les deux populations face au produit utilisé (Coles, Dryden, 2014).

### 3. Développement des résistances

La présence de l'insecticide crée un nouvel environnement pour les insectes. Les individus sensibles ne survivent pas à la présence de l'insecticide tandis que les individus résistants survivent grâce à des particularités biologiques que les autres n'ont pas. C'est la sélection naturelle. Ces particularités biologiques sont en fait des mutations géniques préexistantes au sein de la population considérée : les individus possèdent des « allèles de résistance ». Ces allèles codent alors pour des protéines interférant avec l'action de l'insecticide, soit en empêchant son entrée, soit en le dégradant, soit en modifiant sa cible. Par la suite, les individus résistants se reproduisent et transmettent à leur descendance ces allèles de résistance qui leur ont permis de survivre en présence de l'insecticide. C'est une adaptation à un nouvel environnement. En réalité, l'insecticide ne fait pas apparaître la résistance mais sélectionne des individus résistants.

Ainsi, lors d'une exposition de longue durée à un insecticide, la fréquence d'individus portant les allèles de résistance augmente au détriment des individus sensibles (Centre National d'Expertise sur les Vecteurs, 2014).

#### 4. Résistance croisée et résistance multiple

Un insecte peut être résistant à plusieurs insecticides : il s'agit alors de parasite multi-résistant. Cela peut être dû à deux phénomènes. Le premier est la résistance croisée : une unique propriété de l'insecte confère à celui-ci une « protection croisée » à plusieurs insecticides. Le deuxième est la résistance multiple : il existe chez l'insecte cette fois-ci plusieurs propriétés, chacune le protégeant d'un insecticide différent (Milani, 1963).

#### B. Mécanismes impliqués dans la résistance aux insecticides

La connaissance des mécanismes de résistance des puces aux insecticides est essentielle pour l'élaboration de stratégie de contrôle de ces insectes.

##### 1. Présentation des différents mécanismes

Les principaux mécanismes de résistance décrits chez les puces sont liés à des modifications physiologiques et biochimiques propres aux individus résistants. Les modifications biochimiques sont de loin les plus importantes : ces modifications peuvent concerner les protéines cibles de l'insecticide dont certaines mutations limitent leur affinité ou bien concerner les enzymes de détoxification responsables d'une dégradation de l'insecticide en métabolites moins toxiques voire inactifs. Les modifications physiologiques concernent la diminution de la pénétration cuticulaire, l'augmentation de l'excrétion de l'insecticide ou sa séquestration. La bibliographie sur ces derniers mécanismes ne révèle que peu d'information mais semble s'accorder sur leur rareté et leur rôle très secondaire par rapport aux mécanismes corrélés à des modifications biochimiques (Centre National d'Expertise sur les Vecteurs, 2014 ; Cadiergues, 2009 ; Haubruge, Amichot, 1998).

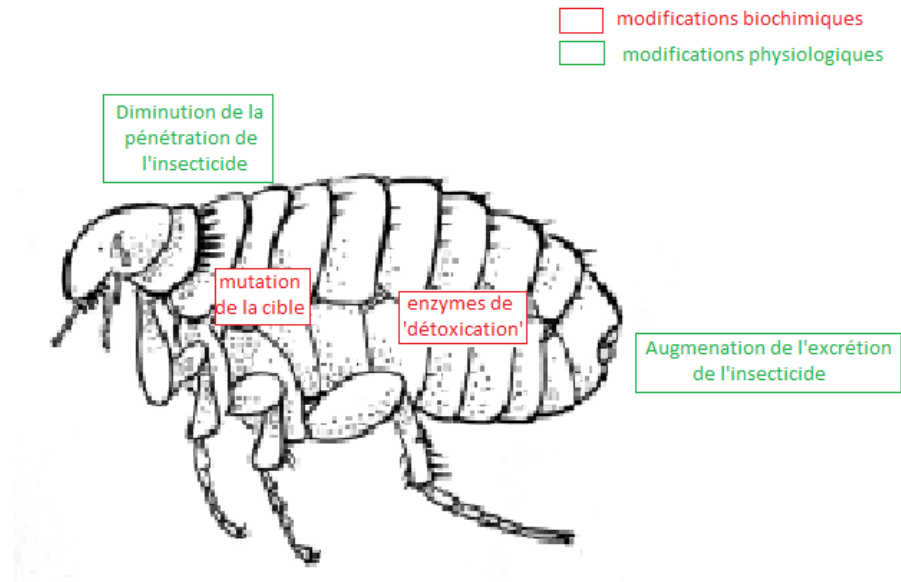


Figure 13 : Principaux mécanismes de résistance aux insecticides

## 2. Mutation de la cible

Comme précédemment décrit dans la partie I.B., les insecticides ciblent différentes protéines : les canaux sodium, les acétyl-choline estérases, les récepteurs GABA et les récepteurs des acétylcholines. Plusieurs mutations de ces protéines peuvent engendrer une résistance.

### 2.1. La « *knockdown resistance* »: kdr

L'effet '*knockdown*' est provoqué par les insecticides appartenant aux familles des pyréthriinoïdes et organochlorés (comme le DDT). Ces insecticides se fixent sur les canaux sodium voltage dépendants situés sur la membrane des nerfs du système nerveux de l'insecte et retardent leur fermeture, ce qui perturbe la transmission synaptique du message nerveux.

La *knockdown resistance* est due à des mutations ponctuelles sur des gènes codant les protéines canaux sodium voltage dépendant. Plus précisément, différentes mutations ont été identifiées sur le domaine II (S4-S6) du gène de la protéine comme étant responsables de cette résistance. En effet, celles-ci entraînent des modifications structurelles de ces protéines.



Les pyréthriinoïdes et les organochlorés ont alors moins d'affinité avec les canaux sodium voltage dépendants et s'y fixent plus difficilement (Haubruge, Amichot, 1998 ; Soderlund, Knipple, 2003). Les gènes responsables de la *knockdown resistance* sont en général récessifs, ainsi le phénotype résistant n'est observable à la génération suivante que chez les individus homozygotes.

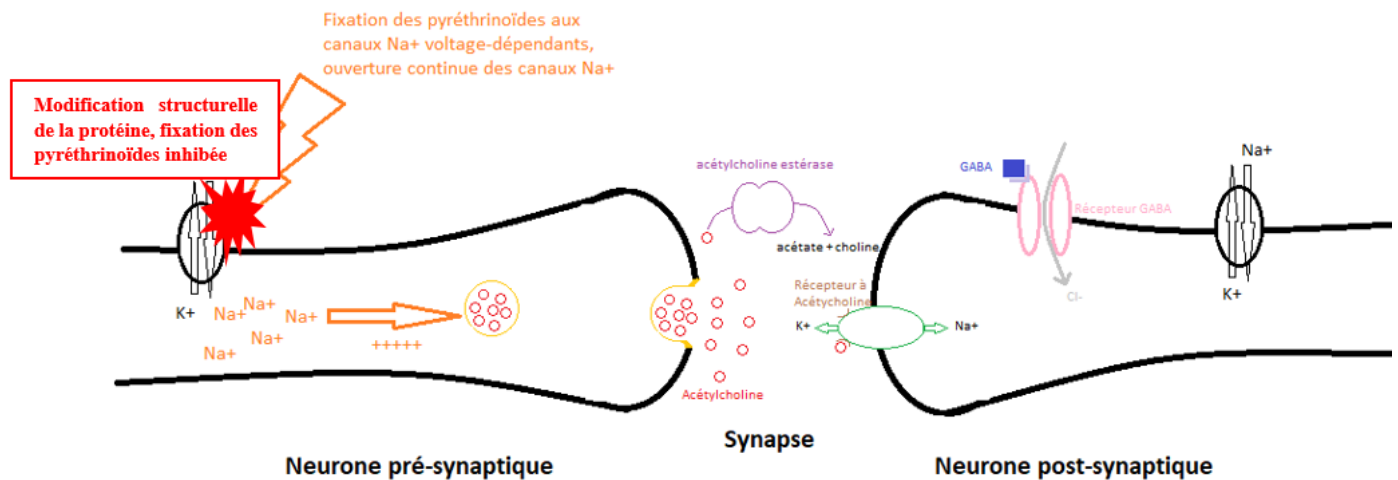


Figure 14 : La *knockdown resistance* face aux pyréthriinoïdes

Remarque : L'insecte porteur à l'état homozygote des allèles *kdr* possède une résistance croisée pour les pyréthriinoïdes et les organochlorés.

## 2.2. La « *resistance to dieldrin* » : Rdl

La résistance à la dieldrine est le résultat d'une mutation ponctuelle sur l'un des allèles du gène Rdl codant pour le récepteur canal du GABA. Ces récepteurs sont les cibles des insecticides de la famille des cyclodiènes (comme la dieldrine) et des phénylpyrazolés qui se fixent aux récepteurs GABA, bloquent le passage d'ions chlorure et perturbent ainsi les transmissions de messages nerveux. Le gène Rdl code pour une protéine réceptrice du GABA dont le site de liaison avec l'insecticide est modifié lors de mutation. Cette mutation est semi-dominante et répandue chez les insectes car peu coûteuse d'un point de vue évolutif. L'insecticide se fixe plus difficilement car l'affinité avec le récepteur est moindre même à l'état hétérozygote.

Les insectes possédant cette mutation seront donc résistants aux insecticides de la famille des cyclodiènes et des phénylpyrazoles (Haubruge, Amichot, 1998 ; Soderlund, Knipple, 2003).

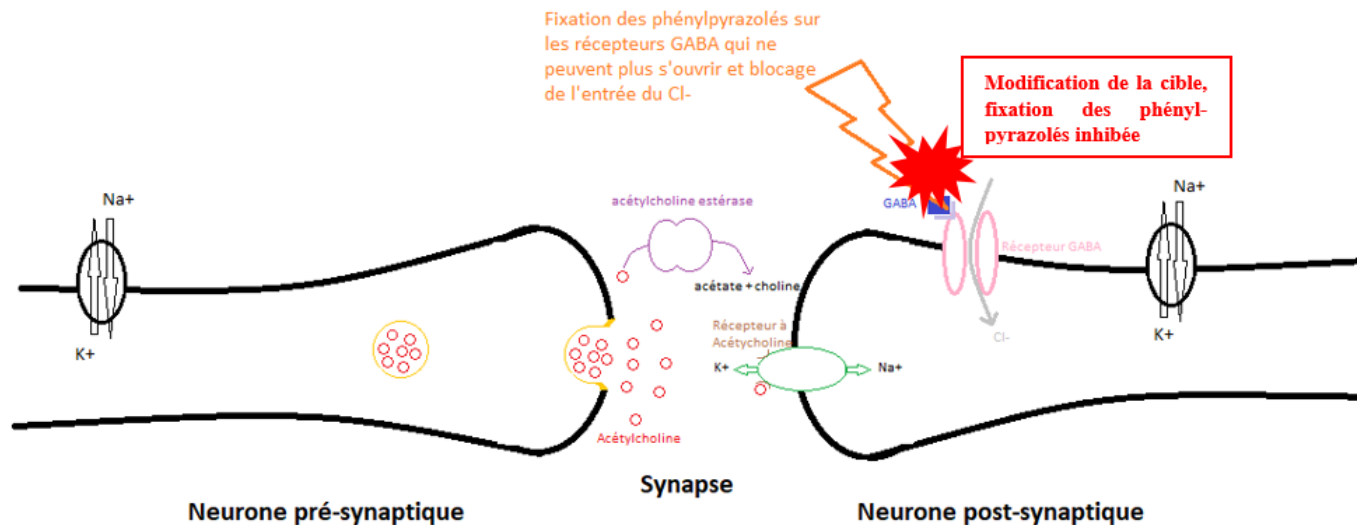


Figure 15 : La *dieldrin resistance* face aux phénylpyrazolés

### 2.3. La « *acetylcholinesterase insensible* » : ace R

L'acétylcholine est une molécule libérée par le neurone présynaptique et qui se fixe sur le neurone post-synaptique. Cette fixation permet la transmission du message nerveux d'un neurone à l'autre. L'acétylcholinestérase est une enzyme dégradant l'acétylcholine au niveau de la synapse cholinergique, nécessaire au retour à une situation de repos. Sans cette dégradation, l'accumulation d'acétylcholine au niveau de la synapse provoque un état d'hyperexcitabilité interférant avec la transmission du message nerveux et conduisant à terme à la mort de l'insecte. Les insecticides appartenant à la famille des organophosphorés et des carbamates se fixent sur l'enzyme, empêchant ainsi la dégradation de l'acétylcholine. La résistance à ces insecticides est en fait due à une mutation récessive sur le gène *ace-1* ou le gène *ace-2* (et *ace-3* pour les tiques). Ces mutations ponctuelles entraînent la formation de protéines, modifiées et possédant moins d'affinités avec les insecticides. Les insectes possédant ces mutations à l'état homozygote seront donc résistants à la fois aux organophosphorés et aux carbamates (Haubruge, Amichot, 1998 ; Soderlund, Knipple, 2003).

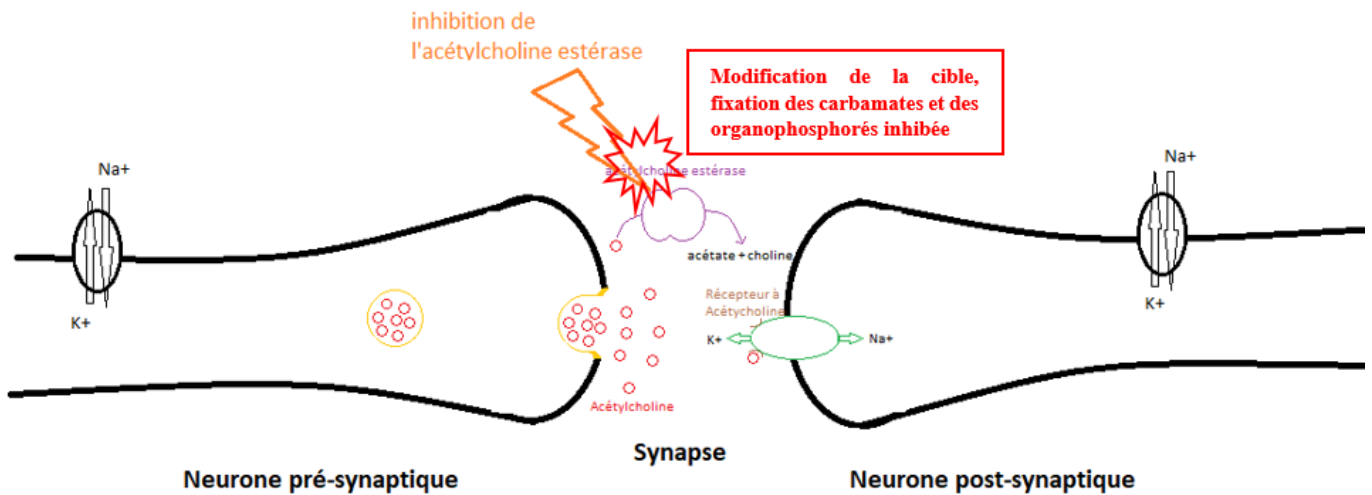


Figure 16 : La *ace* resistance face aux organophosphorés et aux carbamates

Remarque : L'insecte *ace R* possède une résistance croisée pour les organophosphorés et les carbamates.

Il est possible également qu'une duplication de gènes *ace* (combinant les allèles de résistance et sauvages) soit présente chez un même individu, notamment chez *Anopheles gambiae* (Assogba et al., 2016). Ce phénomène a également été décrit pour le gène *Rdl* chez *Drosophila melanogaster* (Remnant et al., 2013).

#### 2.4. Les mutations de récepteur nicotinique de l'acétylcholine : Mu nAChR

La résistance aux insecticides de la famille des spinosynes et des néonicotinoïdes est due à des mutations ponctuelles sur le gène codant les protéines réceptrices nicotiques de l'acétylcholine. Les spinosynes et les néonicotinoïdes sont des agonistes du récepteur nicotinique de l'acétylcholine. En leur présence, le récepteur est continuellement activé et le message nerveux très modifié.

Les insectes présentant ces mutations possèdent des récepteurs de conformation différente sur lesquelles les insecticides ne peuvent pas se fixer par manque d'affinité (Haubruge, Amichot, 1998 ; Soderlund, Knipple, 2003).

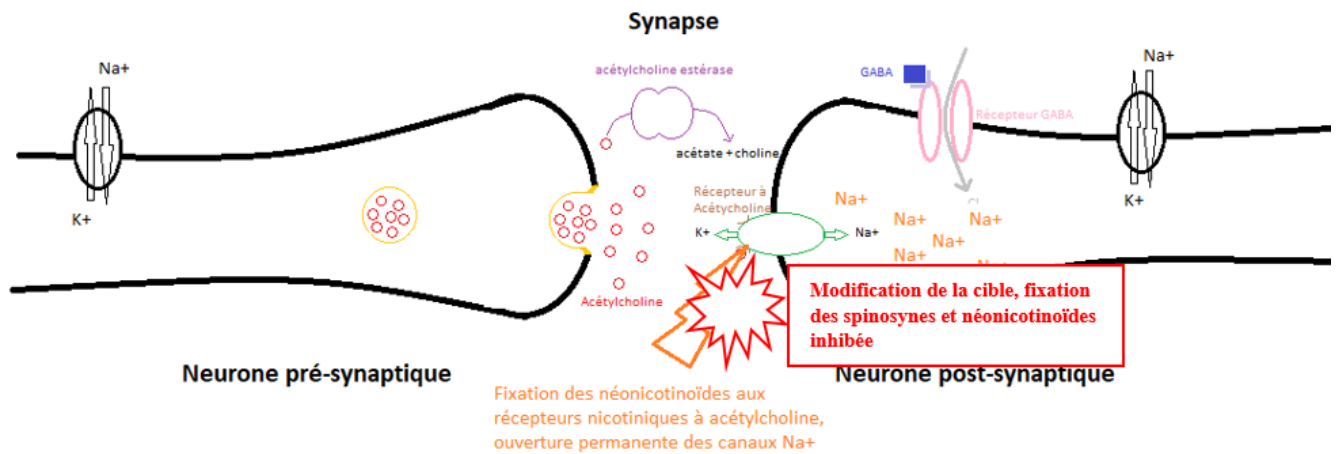


Figure 17 : La 'Mu nACh resistance' face aux néonicotinoïdes et spinosynes

### 3. Augmentation du métabolisme de l'insecticide par les enzymes de détoxification

Les insecticides sont, pour le plupart, des substances lipophiles et difficilement excrétables. Le métabolisme de l'insecte a pour but de rendre les xénobiotiques (ici les insecticides) plus hydrophiles donc moins toxiques et plus facilement excrétables grâce à des biotransformations. Celles-ci peuvent se diviser en deux phases : la phase I regroupe les réactions de fonctionnalisation (oxydation, réduction, hydrolyse) et la phase II regroupe les réactions de conjugaison.

L'insecticide peut être transformé par les réactions de la phase I et/ou de la phase II. Ces réactions font intervenir différentes enzymes dites de 'détoxification' : les carboxylestérases, les monooxygénases à cytochromes P-450 et les glutathion S-transférases (Haubruge, Amichot, 1998 ; Rubert et al., 2016 ; Louat, 2013).

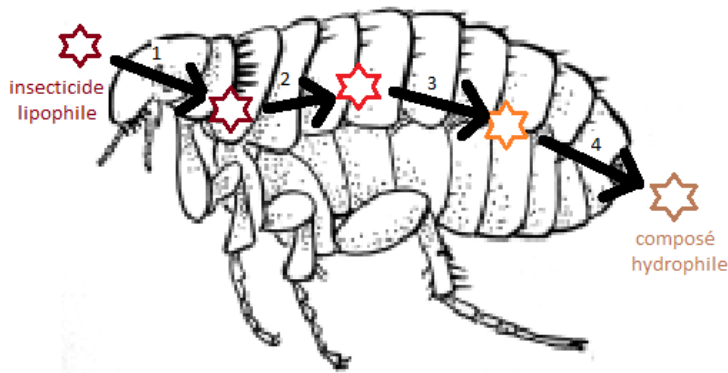


Figure 18 : Métabolisme de détoxification de l'insecticide

1 : pénétration de l'insecticide ; 2 : phase I (fonctionnalisation) ; 3 : phase II (conjugaison) ; 4 : excrétion

### 3.1. Les carboxylestérases

Les carboxylestérases sont des enzymes permettant des réactions d'hydrolyse et font donc partie des enzymes de détoxification de la phase I : les carboxylesters sont hydrolysés en un alcool et un acide carboxylique (Montella et al., 2012).

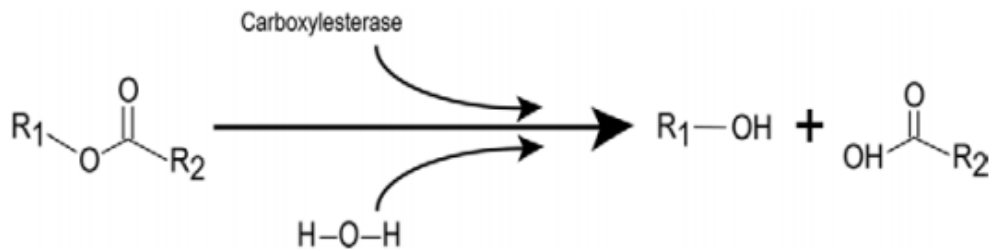


Figure 19 : Réaction d'hydrolyse par les carboxylestérases  
(D'après Montella et al., 2012)

Les carboxylestérases ont une faible spécificité de substrat et peuvent donc métaboliser de nombreux insecticides comme les organophosphorés ou les carbamates. Ces enzymes sont impliquées dans la résistance aux insecticides via plusieurs mécanismes qu'il est possible de retrouver pour d'autres familles d'enzymes : l'amplification de gènes, la surexpression de gènes ou encore des mutations dans la séquence codante des gènes (Rubert et al., 2016).

### 3.1.1. L'amplification de gène

À la suite d'une ou de plusieurs cassures double brin de l'ADN, des mécanismes de réparation de ces lésions sont impliqués dans la formation de réarrangements. Lorsque ces réarrangements augmentent la quantité d'ADN, il s'agit de duplication ou amplification génique. L'amplification de gènes permet d'augmenter le nombre de copies d'un ou plusieurs gènes. Si le gène des carboxylases a été amplifié, le nombre d'enzyme sera alors augmenté. Les insectes possédant cette particularité génétique ont donc plus de facilité pour métaboliser l'insecticide.

### 3.1.2. La surexpression de gènes

Lors de surexpression de gènes, le nombre de protéines codées est augmenté mais le nombre de gènes reste cette fois-ci le même. Certains éléments dits régulateurs permettent la régulation de l'expression des gènes : des amplificateurs (ou 'enhancer' en anglais) peuvent stimuler la transcription d'un gène tandis que des inhibiteurs (ou 'silencer' en anglais) peuvent inhiber la transcription d'un gène. Ici aussi, l'insecticide est rapidement métabolisé en raison du grand nombre de carboxylestérases présentes.

### 3.1.3. Mutations dans la séquence codante des gènes

Une mutation dans la séquence du gène codant la carboxylestérase peut être à l'origine d'un changement de conformation de l'enzyme. Ce changement de conformation ne permet plus la fixation de l'insecticide et sa dégradation mais plusieurs études ont montré une association entre la diminution de l'activité carboxylestérase et l'augmentation d'une activité hydrolase permettant de métaboliser les insecticides (Cui et al., 2011 ; Newcomb et al., 1997).

### 3.2. Les monooxygénases à cytochrome P-450

Les monooxygénases à cytochrome P-450 sont des enzymes permettant des réactions d'oxydation, de réduction et d'hydrolyse et font donc partie des enzymes de détoxification de la phase I. Elles ont une structure complexe et sont composées de trois éléments indispensables à leur fonctionnement : des donneurs d'électrons (exemples : NADH, NADPH), des chaînes de transport d'électrons (exemples : NADPH cytochrome P450 réductase, cytochrome b5, cytochrome P450) et des phospholipides (exemples : phosphatidylcholine, lécithine). Le cytochrome P450 est lui composé d'un groupement protéique et d'un groupement prosthétique (protoporphyrine et fer formant un hème). Son nom trouve son origine dans une propriété apportée par l'hème : l'absorbance à 450 nm en milieu réducteur et en présence de CO.

L'équation générale d'une monooxygénation est illustrée par la figure 20.

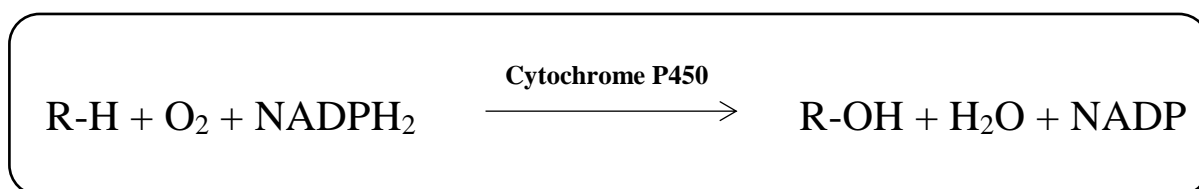


Figure 20 : Equation générale simplifiée d'une monooxygénation à cytochrome P450

Les monooxygénases à P450 ont une faible spécificité de substrat et peuvent donc métaboliser de nombreux insecticides comme les pyréthriinoïdes, les organophosphorés ou encore les néonicotinoïdes. Ces enzymes sont impliquées dans la résistance aux insecticides via les mêmes mécanismes que pour les carboxylestérases - l'amplification de gènes, la surexpression de gènes ou encore des mutations dans la séquence codante des gènes.

### 3.3. Les glutathion-S-transférases

Les glutathion-S-transférases catalysent des réactions de conjugaison et font ainsi partie des enzymes de la phase II du métabolisme des xénobiotiques. Elles associent ces derniers au groupement thiol de la molécule de glutathion. Cette conjugaison permet de neutraliser les sites électrophiles des molécules insecticides pour protéger les différents composés de la cellule. De plus, cette conjugaison rend le substrat hydrosoluble, ce qui facilite ainsi son excrétion.

La réaction de conjugaison d'un xénobiotique avec une molécule de glutathion par la glutathion-S-transférase est illustrée par la figure 21.



Figure 21 : Équation générale simplifiée d'une réaction de conjugaison catalysée par la glutathion-S-transférase

Les glutathion-S-transférases ont une faible spécificité de substrat et peuvent donc métaboliser de nombreux insecticides. Ces enzymes sont impliquées dans la résistance aux insecticides via les mêmes mécanismes que pour les carboxylestérases et les monooxygénases à cytochrome P450 : l'amplification de gènes, la surexpression de gènes ou encore des mutations dans la séquence codante des gènes.



## C. Études récentes sur la résistance des puces aux insecticides utilisés en médecine vétérinaire

Montrée du doigt à l'heure actuelle, l'utilisation de substances insecticides et acaricides est largement répandue dans les systèmes de productions agricoles intensifs s'appuyant sur la monoculture pour le contrôle des ravageurs, en santé humaine dans le cadre des plans de lutte antivectorielle contre les moustiques et également en médecine vétérinaire pour le contrôle des ectoparasites. Leur utilisation parfois abusive et non raisonnée a conduit à l'émergence rapide de populations résistantes. En effet, des phénomènes de résistance ont été recensés pour 325 molécules pesticides et des populations résistantes ont été découvertes chez 586 espèces d'arthropodes d'intérêt médical, vétérinaire ou agricole. Environ 3% de ces espèces est d'importance vétérinaire (Liénard et al., 2018). Un état des lieux de la résistance des vecteurs en France a été réalisé par un groupe d'expert en 2014 (Centre Nationale d'Expertise sur les vecteurs 2014). Malheureusement, les données recueillies et compilées concernent essentiellement les culicidés, vecteurs d'importance en santé humaine, elles sont en revanche beaucoup plus parcellaires pour les arthropodes impliqués en santé animale. Nous consacrons ici ce travail bibliographique aux études réalisées dans le monde concernant les puces.

### 1. Méthodes de détection d'une résistance en laboratoire

La détection de résistance recouvre plusieurs objectifs qui sont largement du contexte (par exemple opérationnel lors de plan de lutte antivectorielle ou plus fondamental dans un cadre de recherche notamment) :

- Vérifier qu'une défaillance opérationnelle est due à une résistance réelle et non aux conditions d'application du traitement,
- Détecter précocement la présence de résistance au sein d'une population soumise à un plan de contrôle sur le terrain,
- Détecter l'apparition de nouveaux mécanismes susceptibles d'accroître considérablement le niveau de résistance,

- Rechercher les insecticides qui demeurent les plus efficaces malgré la résistance et les employer de façon raisonnée,
- Étudier les caractéristiques biologiques de différents génotypes sur le terrain,
- Tester l'efficacité d'une stratégie de gestion de la résistance
- Étudier l'évolution de la résistance dans une population ou entre populations (flux de gènes)
- Comprendre les mécanismes d'adaptation mis en place par les insectes face au stress environnemental

Il est donc nécessaire de disposer ou de développer des outils fiables afin de détecter précocement la résistance au niveau individuel. Il s'agit alors :

- Des essais biologiques
- Des essais biochimiques
- Des tests de biologie moléculaire
- Des technologies moléculaires à haut débit

### 1.1. Essais biologiques

L'organisation mondiale de la santé a développé différents tests de dosage biologique de sensibilité pour les moustiques, les poux, les punaises, les blattes, les mouches, les tiques et les puces (Brogdon, Mcallister, 1998).

#### 1.1.1. Test de sensibilité de l'OMS utilisant la concentration discriminante

Il s'agit d'un test exposition-réponse direct simple (Organisation Mondiale de la Santé, 2017). Les insectes (idéalement de la génération F1 pour permettre une standardisation des tests) sont exposés à des concentrations connues d'un insecticide sur un laps de temps fixé et les insectes morts sont dénombrés pendant au moins 24 heures après cette exposition. Ce test permet de distinguer la sensibilité de référence et la résistance aux insecticides chez les puces adultes. Il permet ainsi une surveillance sur le terrain et au laboratoire.

Cependant, il ne donne que peu d'informations sur le ou les mécanismes sous-jacents responsables de la résistance (lorsque celle-ci est détectée) ou sur l'intensité de cette dernière.

Les différentes étapes de la réalisation du test de sensibilité de l'OMS pour la concentration discriminante sont illustrées par la Figure 22.

- Étape 1 : Les insectes sont transférés dans un premier temps dans des tubes d'observation (tubes portant la pastille verte). Au bout d'une heure, tous les insectes morts ou moribonds sont retirés.
- Étape 2 : Les insectes sont ensuite transférés dans des tubes d'exposition : les tubes portant une pastille rouge sont tapissés d'une feuille de papier imprégnée de l'insecticide à tester tandis que les tubes témoins portant une pastille jaune sont tapissés d'une feuille de papier imprégnée d'huile. Les insectes sont maintenus dans ces tubes d'exposition pendant un laps de temps donné.
- Étape 3 : Au bout de ce laps de temps fixé, les insectes sont de nouveau transférés dans des tubes d'observation (tubes portant la pastille verte). Ils sont maintenus ainsi pendant 24 heures (ou plus pour les composés à action lente). À la fin de cette période, tous les insectes morts ou moribonds sont comptés.

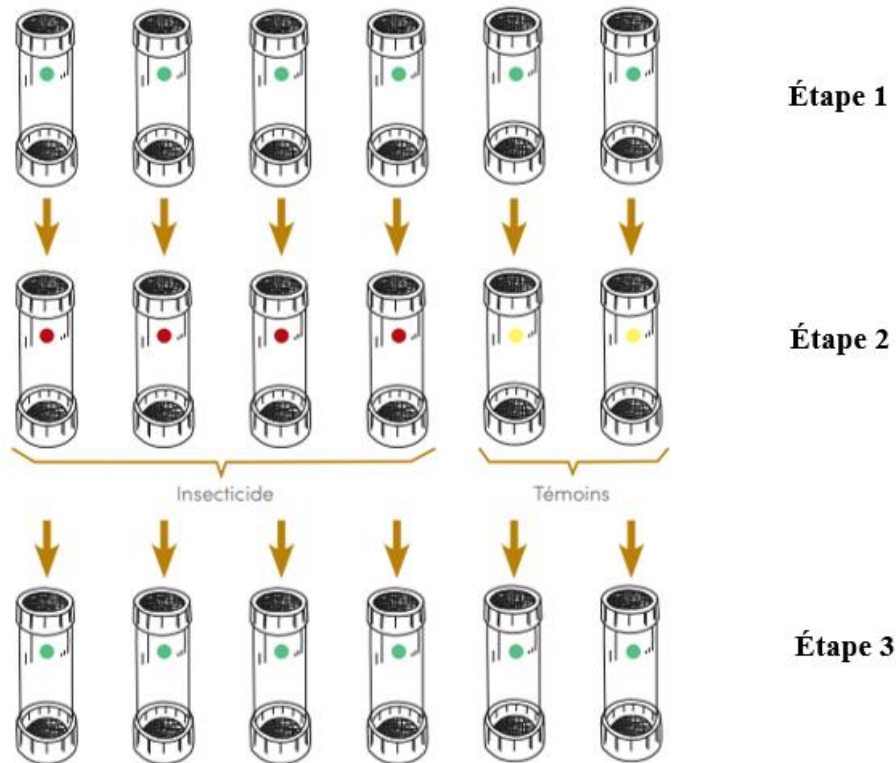


Figure 22 : les différentes étapes dans la réalisation du test de sensibilité de l'OMS pour la concentration discriminante (d'après OMS, 2017)

Cette méthode permet de déterminer la concentration  $CL_{99,9}$  correspondant à un taux de mortalité de 99.9%. La concentration discriminante pour un insecticide donné est le double de cette concentration  $CL_{99,9}$ .

Pour déterminer la prévalence d'un phénotype résistant, le test de sensibilité est réalisé en utilisant la concentration discriminante (Figure 22) :

- Mortalité  $\geq 98\%$  : population sensible
- Mortalité comprise entre 90 et 97% : résistance possible
- Mortalité  $< 90\%$  : résistance confirmée

Lorsque la résistance est possible (mortalité comprise entre 90 et 97%), le test est répété sur des insectes non testés issus de la même population. Si la mortalité est  $< 98\%$ , la résistance est confirmée.

Lorsque la résistance est confirmée, le test est réalisé en utilisant une concentration 5 fois supérieure à la concentration discriminante :

- Mortalité  $\geq 98\%$  : résistance de faible intensité
- Mortalité  $< 98\%$  : résistance d'intensité modérée à forte

Lorsque la résistance est d'intensité modérée à forte, le test est réalisé en utilisant une concentration 10 fois supérieure à la concentration discriminante :

- Mortalité  $\geq 98\%$  : résistance d'intensité modérée
- Mortalité  $< 98\%$  : résistance de forte intensité

Il est à noter que les tests de détermination de l'intensité de la résistance (c'est-à-dire le niveau de résistance au sein de la population étudiée) requièrent une souche sensible de référence de la même espèce que la population testée, ce qui peut être parfois un frein important à la réalisation de ces essais.

#### 1.1.2. Tests biologiques sur des mélanges insecticide/synergiste en tant qu'indicateurs indirects des mécanismes de résistance métabolique

Il s'agit également d'un test exposition-réponse direct. Il mesure l'effet d'une préexposition à un synergiste sur l'expression de la résistance aux insecticides. Un synergiste est un substrat reconnu par certaines enzymes de détoxification de l'insecte, ce n'est pas un insecticide. Toutefois, il peut être toxique aussi ce qui demande à une calibration de la dose efficace. Enfin, il faut garder à l'esprit qu'un synergiste peut inhiber l'activité de plusieurs familles d'enzymes mais qu'il n'inhibe pas nécessairement toutes les enzymes de la même famille.

Les différentes étapes de la réalisation d'un test biologique sur un couple synergiste/insecticide sont illustrées par la Figure 23.

- Étape 1 : Les insectes sont transférés dans un premier temps dans des tubes d'observation (tubes portant la pastille verte). Il y a 4 groupes : un groupe d'insecte qui ne va être exposé qu'au synergiste (groupe 1), un groupe d'insecte qui va successivement être exposé au

synergiste puis à l'insecticide (groupe 2), un groupe d'insecte qui ne va être exposé qu'à l'insecticide (groupe 3) et un dernier groupe témoin qui ne va être exposé qu'à une feuille de papier imprégnée d'huile (groupe 4).

- Étape 2 : Les insectes des groupes 1 et 2 sont exposés pendant 1 heure au synergiste.
- Étape 3 : Les insectes des groupes 2 et 3 sont exposés pendant 1 heure à l'insecticide. Parallèlement, les insectes du groupe 4 sont exposés pendant 1 heure à une feuille de papier imprégnée du solvant.
- Étape 4 : Les insectes sont de nouveau transférés dans des tubes d'observation (tubes portant la pastille verte). Ils sont maintenus ainsi pendant 24 heures (ou plus pour les composés à action lente). A la fin de cette période, tous les insectes morts ou moribonds sont comptés.

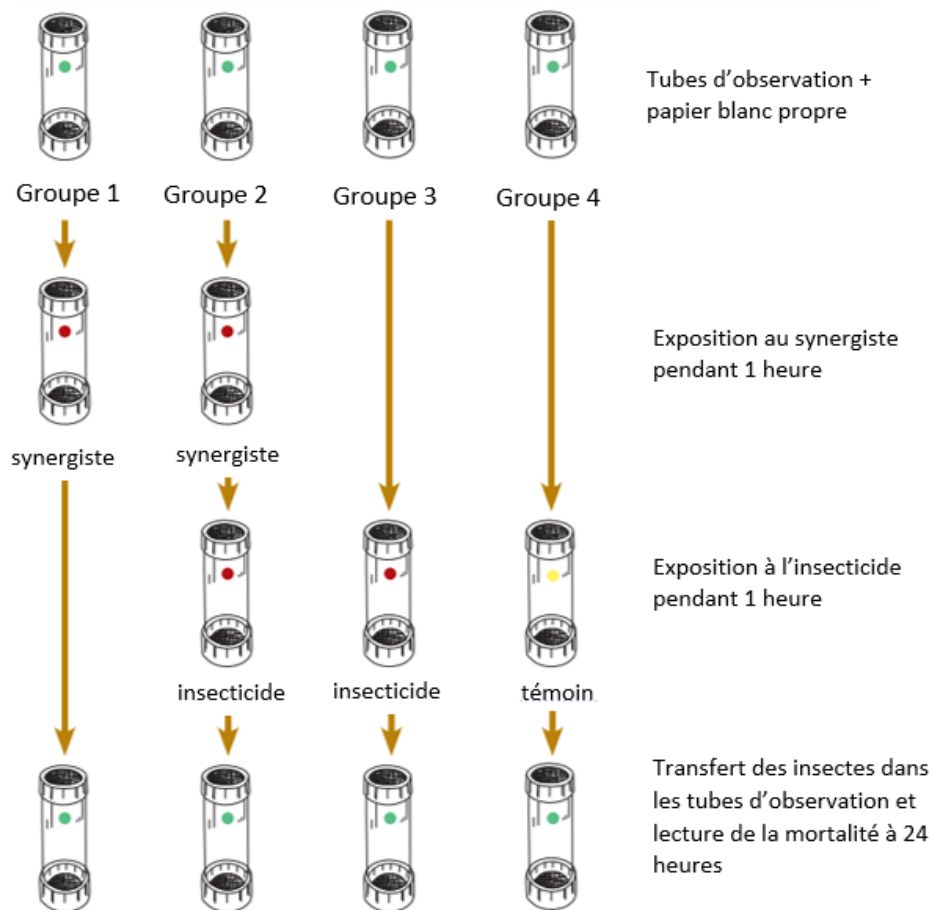


Figure 23 : Les différentes étapes de la réalisation d'un test biologique sur un couple synergiste/insecticide (d'après OMS, 2017)

Une fois la résistance détectée par les tests de sensibilité utilisant la concentration discriminante, les tests biologiques sur des mélanges synergistes/insecticides permettent de déterminer le ou les mécanismes de résistance.

- $Mortalité_{groupe2} < Mortalité_{groupe3}$  : mécanisme métabolique non impliqué
- $Mortalité_{groupe2} < 98\%$  et  $Mortalité_{groupe2} > Mortalité_{groupe3}$  : mécanisme métabolique partiellement impliqué
- $Mortalité_{groupe2} \geq 98\%$  et  $Mortalité_{groupe2} > Mortalité_{groupe3}$  : mécanisme métabolique entièrement impliqué

Dans les deux derniers cas, un mécanisme métabolique est détecté.

### 1.1.3. Essais biologiques sur les formes immatures

Une autre technique consistant à réaliser des dosages biologiques sur des larves a été développée par la suite. Elle présente plusieurs intérêts : moins d'insectes sont nécessaires, les différentes populations d'insectes n'ont pas besoin d'être maintenues sur leurs hôtes et il n'est pas non plus nécessaire d'utiliser des systèmes d'alimentation artificielle (Rust et al., 2002). Toutefois, des biais subsistent, notamment pour les dosages enzymatiques, car les formes immatures et les adultes, suivant l'espèce étudiée, n'ont pas nécessairement le même milieu de vie et le même mode d'alimentation ce qui a pour conséquence possible des variations qualitatives et quantitatives des enzymes produites.

### 1.1.4. Application topique de l'insecticide sur la cuticule de l'insecte

La principale limite des tests biologiques proposés par l'OMS faisant intervenir des insectes vivants, des tubes et des feuilles de papier imprégnées est la difficulté à connaître la quantité exacte d'insecticide ayant été en contact et ayant pénétré l'insecte. L'application topique de l'insecticide directement sur la cuticule de l'insecte permet d'obtenir un échantillon plus homogène ayant reçu la même quantité d'insecticide. Cependant, la réalisation de ce test passe par une anesthésie des insectes (par le froid ou avec du CO<sub>2</sub>) ce qui peut modifier l'activité enzymatique de ces derniers.

### 1.1.5. Essais biologiques *in vivo* : dénombrement sur l'hôte

Une autre méthode pour détecter une résistance est d'administrer directement l'insecticide à tester sur des animaux infestés avec différentes populations de puces. Ensuite le nombre de puces vivantes et mortes, d'œufs de puces et la viabilité des œufs de puces entre un groupe témoin et un groupe d'animaux traités sont comparés (Coles, Dryden, 2014).

Les tests biologiques permettent de détecter une résistance au sein d'une population d'insectes. Une fois la résistance détectée, les essais biochimiques, moléculaires et les séquençages de nouvelle génération permettent d'identifier le ou les mécanismes de résistance sous-jacents. Ces informations serviront à la planification à long terme de la lutte contre les insectes. En effet, elles permettront d'évaluer la probabilité de résistance croisée entre différents insecticides et de prédire une éventuelle propagation de la résistance dans les populations d'insectes.

### 1.2. Essais biochimiques : analyse enzymatique sur microplaque

Ces essais font suite aux essais biologiques avec synergiste et permettent de déterminer plus finement le mécanisme métabolique de la résistance potentiellement impliqué et précédemment détecté. Ces essais peuvent être réalisés avec des formes immatures ou des adultes et requièrent également une souche sensible afin de comparer les niveaux d'activités enzymatiques. Les mesures d'activité des enzymes de détoxification et leur concentration sont effectuées par des tests colorimétriques. Les insectes utilisés au cours des essais biologiques sont tués par congélation pendant au moins 10 minutes puis homogénéisés seuls dans une solution de phosphate de potassium. Chaque homogénat est placé dans les différents puits de la microplaque pour chaque test enzymatique. Les contrôles positifs et négatifs sont placés dans les derniers puits. La lecture des résultats se fait par la mesure de l'absorbance par un spectrophotomètre. L'absorbance varie en fonction de l'activité enzymatique et également de leur concentration. L'absorbance est comparée entre une population sensible à l'insecticide et la population chez qui une résistance a été détectée par les essais biologiques. Une absorbance mesurée supérieure chez la population d'insectes résistants montre une activité enzymatique ou une concentration plus importante à l'origine de la résistance (MR4, 2014).



Pour l'interprétation des résultats, une certaine prudence est nécessaire car les activités mesurées dépendent notamment de la spécificité du substrat aux enzymes étudiées, de l'état physiologique des individus et de la qualité du stockage des échantillons (qui s'ils ne sont pas frais, devraient au moins être conservés à -80°C).

### 1.3. Détection des mécanismes génétiques de résistance : outils moléculaires

#### 1.3.1. La Réaction en Chaîne par Polymérase (*polymerase chain reaction*, PCR)

Les tests moléculaires par PCR font également suite aux essais biologiques (Brogdon, Mcallister, 1998). Ce sont les plus précis. Toutefois, la PCR permet de détecter des mécanismes de résistance qui ont été bien caractérisés, c'est-à-dire connus et validés d'un point de vue fonctionnel. Elle ne nécessite pas de matériel vivant et autorise une détection spécifique et individuelle (détermination du génotype propre à chaque individu). Elle est également très utile pour le suivi des gènes de résistance récessifs car les individus hétérozygotes au sein d'une population sont détectés avant même l'observation d'une diminution de sensibilité par les tests biologiques précédents. L'identification des mutations liées à la résistance métabolique est une condition essentielle pour la mise au point de tests diagnostiques.

Différentes techniques de PCR existent et font appel par exemple au séquençage classique (par la méthode de Sanger), les sondes Taqman, l'analyse de la courbe de fusion à haute résolution et plus récemment à la méthode d'amplification isotherme comme la méthode LAMP (Loop-Mediated Amplification). La plupart de ces techniques ont été développées et sont utilisées pour diverses espèces de moustiques d'intérêt médical.

La matrice d'amplification de la PCR notamment pour la détection de la résistance métabolique peut-être les ARN messagers (ARNm). L'ARNm doit être initialement rétrotranscrit à l'aide d'une enzyme appelée transcriptase inverse (*Reverse Transcriptase*, RT) synthétisant l'ADN complémentaire (ADNc). Ce dernier est ensuite utilisé pour réaliser une PCR quantitative (PCRq). La RT-qPCR est donc une technique qui permet de faire une PCR quantitative à partir d'un échantillon d'ARN. C'est une méthode très sensible pour détecter, quantifier et comparer entre les échantillons les ARN messagers.

Malheureusement, il n'existe que peu de RT-PCRq développés pour la détection de la résistance métabolique. En effet, peu d'enzymes de détoxification sont validées au niveau des gènes et très peu de marqueurs génomiques sont disponibles. Aucune RT-PCRq n'est actuellement disponible à notre connaissance pour l'étude de la résistance aux insecticides chez *C. felis*.

### 1.3.2. Le Séquençage ADN / ARN à haut débit pour la résistance aux insecticides

Le séquençage à haut débit, est une technologie récente permettant de séquencer l'ADN et l'ARN de n'importe quel organisme, beaucoup plus rapidement que les méthodes de séquençage précédentes. Cette technologie est également moins coûteuse et est ainsi abordable par la plupart des laboratoires (Herzyk, 2014). Elle présente d'autres intérêts en permettant à terme de :

- découvrir de nouveaux marqueurs de résistance en particulier cuticulaire et métabolique
- comprendre des mécanismes fins de résistance aux insecticides
- définir de nouveaux outils de surveillance de la résistance aux insecticides.

Toutefois, il faut pour permettre son développement et son application à l'espèce étudiée que le génome soit *a minima* disponible et mieux encore correctement annoté. Le génome de *C. felis* est disponible depuis août 2018 dans le GenBank ([https://www.ncbi.nlm.nih.gov/assembly/GCF\\_003426905.1/](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/assembly/GCF_003426905.1/), consulté le 18 septembre 2019) et son annotation est bien avancée depuis ([https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/annotation\\_euk/Ctenocephalides\\_felis/100/](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/annotation_euk/Ctenocephalides_felis/100/), consulté le 18 septembre 2019). Cette disponibilité a été permise par le séquençage de nouvelle génération (*Next Generation Sequencing*, NGS). Cette technologie qui commence à être appliquée à l'étude des mécanismes de résistance aux insecticides permet de séquencer de grandes quantités d'ADN en un temps très court. Les séquenceurs actuels ne peuvent lire que de courts fragments d'ADN qui doivent être assemblés pour reconstruire le génome d'origine. L'objectif est de « lire » plusieurs fragments à la fois, c'est-à-dire de paralléliser le séquençage. Désormais, les séquenceurs NGS de deuxième génération sont capables de lire des fragments de 150 à 300 paires de bases et jusqu'à 20 milliards de fragments à la fois ce qui représente un gain de temps majeure et la mise à disposition d'une bibliothèque contenant l'ensemble des fragments d'intérêt.

Cette quantité très importante d'informations demande des ressources humaines et matériels très importantes avec des équipes spécifiques pour analyser les données ainsi que des ordinateurs et serveurs dédiés. Le NGS est une stratégie puissante pour étudier les bases moléculaires de la résistance.

Le génome disponible ouvre l'accès au transcriptome de la Puce du Chat, c'est-à-dire l'ensemble des ARN issus de la transcription du génome durant un stade de développement spécifique ou en réponse à une condition physiologique particulière (Zhang et al., 2012). De tels procédés faciliteront l'identification de gènes de résistance, en particulier ceux associés à la résistance métabolique.

## 2. Résistances aux insecticides de *C. felis* rapportées dans la littérature

### 2.1. Résistance au fipronil

#### 2.1.1. Travaux de recherches démontrant une résistance au fipronil

Le groupe pharmaceutique Suisse Novartis a réalisé une étude en 2001 afin de rechercher l'existence possible d'une résistance de *Ctenocephalides felis* au fipronil (Schenker et al., 2001). Une population de puces suspectées résistantes et récoltées sur le terrain a été comparée à une population de puces sensibles élevées au sein de Novartis Santé Animale. Le taux de résistance a été déterminé *in vitro* par l'application topique du fipronil sur le thorax latéral des insectes. Les puces ont ensuite été transférées dans des tubes d'observation dans lesquels elles sont restées 72 heures. Le nombre de puces mortes a été déterminé à partir du deuxième jour jusqu'à la fin de la phase d'observation. Une différence significative de sensibilité a alors été décelée avec un taux de résistance de 26 entre les deux populations, ce qui confirmait la résistance suspectée chez la population de puces récoltées sur le terrain. Le mécanisme de cette résistance n'a pas été exploré.

En 2001, Payne et ses associés se sont intéressés à l'efficacité du fipronil chez trois souches de puces différentes (Payne et al., 2001). Les trois populations de puces étudiées étaient des populations de puces élevées en laboratoire :

- la colonie KS1 (Kansas1 Colony) élevée depuis 1990, soit avant la mise sur le marché du fipronil aux États-Unis (1993), à l'Université de l'État du Kansas
- la colonie ARC (AG Research Consultants, Greebrier) maintenue depuis 1991, soit également avant la mise sur le marché du fipronil aux États-Unis
- la colonie R6 collectée et élevée à Lake Mary en Floride. Elle a été prélevée au mois de novembre 1998 chez un chien de particulier ayant reçu un traitement au fipronil.

Les puces de chaque colonie ont été exposées au fipronil soit par le biais de papiers imprégnés soit après leur transfert sur des chats de laboratoire traités. Le nombre de puces mortes 48 heures après l'exposition a été noté afin de calculer l'efficacité du fipronil pour chacune des souches pendant 30 jours (à raison d'une exposition par semaine). L'efficacité du produit a été supérieure à 99,5% chez les trois colonies au cours de la première semaine qui a suivi le traitement. Une différence significative de moindre sensibilité a été mise en évidence pour la colonie R6. En effet, à partir de la troisième semaine de suivi après le traitement : l'efficacité du fipronil contre les souches R6 et KS1 a été respectivement de 88,8% et 98,4% tandis qu'elle était toujours à 100% pour la souche ARC. Ensuite, les différences d'efficacité s'accroissent et deviennent significatives pour deux colonies quand les puces ont été exposées 28 jours après le traitement avec un pourcentage d'efficacité de 77,3% pour la colonie R6 et de 89,9% pour la colonie KS1. L'efficacité est restée à 100% pour la souche ARC. La diminution d'efficacité de l'insecticide au sein des deux premières colonies suggère l'existence *a priori* d'une fréquence probablement plus importante d'allèles de résistance chez ces populations impliqués dans un ou des mécanismes non encore décrits ou connus.

### 2.1.2. Implication d'une mutation du gène *Rdl* dans la résistance au fipronil

En 2015, Rust et ses collaborateurs ont évalué la sensibilité de 16 colonies de puces pour le fipronil (Rust et al., 2015). Quatre d'entre elles étaient des populations de puces élevées en laboratoire :

- La colonie Auburn élevée depuis 1985 à Soquel en Californie et transférée depuis 2000 à l'Université de Californie Riverside (University of California Riverside UCR)
- La colonie KS1 (Kansas 1 Colony) élevée depuis 1990 à Manhattan dans le Kansas et transférée depuis 2000 à l'Université de Californie Riverside (University of California Riverside UCR)
- La colonie Monhein élevée depuis 1992 à Hannover en Allemagne et transférée depuis 2001 à l'Université de Californie Riverside (University of California Riverside UCR)
- La colonie UCR collectée à l'origine dans l'institut de recherche de Stanford à Palo Alto en Californie en 1978.

Aucune de ces colonies n'avait été préalablement exposée à un insecticide depuis leur élevage en laboratoire. En ce qui concerne les puces des 12 autres souches incluses dans l'étude, elles ont été collectées chez des chiens ou des chats hospitalisés dans des cliniques vétérinaires provenant d'Australie, Europe et États-Unis et envoyées à l'Université de Californie Riverside entre 2006 et 2011.

La sensibilité des différentes populations de Puce du Chat a été dans un premier temps évaluée à l'aide d'essais biologiques, en particulier l'application topique de fipronil mélangé à de l'acétone (97,8% de fipronil) sur la cuticule des insectes. L'application d'acétone seule a permis d'établir un traitement de contrôle. La survie des puces étaient ensuite évaluée 24 heures après l'exposition. Une puce était considérée comme mourante si elle était immobile ou incapable de se déplacer. Plusieurs doses ont été administrées. Avant et après chaque série, un contrôle du lot a été effectué. Toutes les souches étudiées ont eu des réponses similaires face au fipronil (aucune différence significative entre les  $DL_{50}$  et les  $DL_{95}$  des différentes souches). Les taux de résistance pour chacune des populations de puces étaient compris entre 0,5 et 2,2. Ainsi, dans cette étude, chaque souche était considérée comme sensible au fipronil.

Rust et ses associés ont ensuite caractérisé, par PCR, les génotypes *Rdl* des différentes populations de puces étudiées. Deux populations de puces étaient homozygotes pour l'allèle résistant, deux populations de puces étaient homozygotes sensibles, le reste des populations étaient composés d'individus homozygotes et hétérozygotes. En outre, cette étude montre que la présence d'une mutation *Rdl* n'implique pas nécessairement une résistance au fipronil chez la Puce du Chat.

### 2.1.3. Implication du métabolisme dans la résistance au fipronil

Une étude réalisée en 2017-2018 conjointement par le laboratoire de parasitologie de l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse et l'équipe « évolution des systèmes vectoriels » (UMR « Mivegec », IRD 224-CNRS 5290-Université de Montpellier) a tenté de caractériser la résistance au fipronil chez la Puce du Chat (Berger, 2018). Deux souches sont élevées dans ce laboratoire : une population sensible (*C. felis* Toulouse) et une souche résistante (*C. felis* Phoenix exposée toutes les 3 semaines au fipronil en spot-on sur des chats). Les tests biologiques ont permis de déterminer *in vitro* un taux de résistance  $RR_{50}$  de 7,6 au fipronil entre les deux souches. Des dosages biochimiques des activités enzymatiques de détoxification ont mis en évidence pour la première fois concernant la Puce du Chat une augmentation significative de la quantité d'estérases chez les larves et adultes des populations résistantes, et une diminution significative de la quantité de cytochrome P450 chez les larves résistantes. Ils n'ont cependant pas mis en évidence de résistance impliquant l'acétylcholinestérase.

Enfin, les études génétiques impliquant une extraction de l'ADN et une amplification de celui-ci par PCR a permis de mettre en évidence la mutation *Rdl* à l'état homozygote chez 100% des puces issues de la population résistante. Outre la mutation *Rdl*, il apparaît donc aussi que des mécanismes de résistance métabolique sont également impliqués par une augmentation des estérases au sein de la colonie résistante.

### 2.1.4. Bilan sur la résistance au fipronil

Bien que sur le terrain, l'efficacité du fipronil ait récemment été prouvée (Gracia et al., 2017), toutes ces publications démontrent qu'une résistance au fipronil peut effectivement s'installer au sein d'une population de Puce du Chat *Ctenocephalides felis*. Celle-ci implique plusieurs mécanismes : la présence d'une mutation du gène *Rdl* ainsi que l'augmentation de la métabolisation de l'insecticide au sein de la puce. Les individus homozygotes *Rdl* ne se révèlent pas forcément résistants tandis que d'autres individus ne portant pas la mutation *Rdl* peuvent se révéler résistants. Le métabolisme de l'insecticide joue ainsi un rôle non négligeable dans la résistance des puces au fipronil.

## 2.2. Résistance à l'imidaclopride

Une caractérisation moléculaire des sous-unités du récepteur nicotinique à acétylcholine de la puce de chat *Ctenocephalides felis* a été réalisée afin de prévoir une potentielle résistance liée à une mutation de ce récepteur (Bass et al., 2006). En effet pour rappel, le récepteur nicotinique à acétylcholine est la cible de la famille des néonicotinoïdes. Ce récepteur est composé d'au moins sept sous-unités et deux de ces sous-unités présentent une très forte affinité avec l'imidaclopride. Ces deux sous-unités, C $\alpha$ 1 et C $\alpha$ 3, sont alors fortement susceptibles d'être impliquées dans une résistance à l'imidaclopride.

En 1999, la société pharmaceutique Bayer Santé Animale a rassemblé une équipe internationale de scientifiques et de vétérinaires afin d'évaluer la sensibilité de *C. felis* à l'imidaclopride (Rust et al., 2018).

Entre 2002 et 2017, 3 036 populations de *C. felis* ont été récoltés dans 10 pays différents (États-Unis, Royaume-Uni, France, Australie, Allemagne, Autriche, Canada, Danemark, Italie et Pays-Bas) et envoyées dans l'Université d'Auburn en Alabama, les laboratoires « Bayer Santé Animale » à Monheim en Allemagne, dans l'Université de Queensland à Gatton en Australie, au « Royal Veterinary College » à Hertfordshire au Royaume-Uni et dans l'Université de Californie Riverside à Riverside en Californie. Au total, 66,3% de ces puces provenaient de chats et 33,7% provenaient de chiens. Les différentes souches de puces étaient maintenues sur des chats. Les œufs étaient récoltés après un tamisage sur des mailles de taille 60. Vingt œufs étaient ensuite placés sur un milieu d'élevage et exposés à une dose diagnostique de 3 ppm d'imidaclopride tandis que vingt œufs étaient utilisés comme contrôle. Les œufs étaient maintenus ainsi à une température de  $26 \pm 2^\circ\text{C}$  et à une humidité relative de 75%. Après 28 jours, le nombre d'adultes émergés était déterminé. Sur les 3 036 populations de puces reçues, 72,5% (2 200) avait un nombre suffisant d'œufs (c'est-à-dire 40 œufs : 20 exposées à l'imidaclopride et 20 pour le contrôle) et 16,6% des 2 200 testés n'a pas pu être retenu car les œufs du contrôle ne se sont pas éclos. Sur les 1 837 essais biologiques valides, 61 isolats avaient un taux de survie  $\geq 5\%$  après le premier test. Après le second test, aucun isolat n'avait un taux de survie  $\geq 5\%$ . Cette étude n'a pas mis en évidence une quelconque décroissance de sensibilité des puces à l'imidaclopride.

En 2015, Rust et ses collaborateurs ont évalué la sensibilité de 16 colonies de puces pour l'imidaclopride avec des tests biologiques impliquant une application topique de l'insecticide sur la cuticule des puces (Rust et al., 2015) comme présenté au II.C.2.1.2. Les taux de résistance pour chacune des populations de puces étaient compris entre 0,4 et 3,6. Ainsi, dans cette étude, chaque souche était considérée comme sensible à l'imidaclopride.

### 2.3. Résistance aux pyréthriinoïdes

Les pyréthriinoïdes sont des insecticides largement utilisés depuis plusieurs années, en particulier en médecine vétérinaire. Ils peuvent être utilisés sous de nombreuses formulations telles que les shampoings, les *spot-on*, les spray, etc.

#### 2.3.1. Fréquence de la mutation du gène *Kdr* dans les populations de puces du chat

En 2004, Bass et ses collaborateurs ont réalisé une étude afin d'évaluer la fréquence de la mutation sur le gène *Kdr* dans les populations de puces du chat (Bass et al., 2004). Sept colonies de puces de laboratoires ont été utilisées pour cette étude : 5 provenaient des États-Unis (Cruthers, KSU, UCR, Auburn et Cottontail), une provenait d'Allemagne (Monheim) et une du Royaume-Uni (RVC). Les souches récoltées sur le terrain provenaient de cliniques vétérinaire des États-Unis et du Royaume-Uni. L'ARN de ces puces a été extrait puis transcrit par une transcriptase inverse puis le domaine II du canal sodium a été cloné par PCR pour détecter les mutations *kdr*. Cinq sites de mutation impliqués dans la résistance *kdr* ont été trouvés. Le génotype de 20 adultes a été séquencé pour chacune des souches. La mutation L1014F a été retrouvée dans toutes les souches. Tous les adultes étaient homozygotes dans les souches Cruthers et RVC alors que 2 sur 20 puces étaient homozygotes dans la souche Cottontail. La souche Cottontail est également celle chez qui le nombre d'homozygote Sensible/Sensible était le plus important, suggérant qu'il s'agit de la souche la moins résistante. La mutation T929V a seulement été retrouvée dans la souche Cottontail.



Cette étude a montré que la résistance *Kdr*, qui avait été identifiée chez de nombreuses espèces d'insectes, était également présente à une fréquence relativement haute, chez sept populations de laboratoire de *Ctenocephalides felis*. Pour tenter de généraliser ces résultats aux populations de puces trouvées sur le terrain, la même étude a été réalisée avec des puces récoltées dans plusieurs cliniques vétérinaires des Etats Unis et du Royaume Uni : 3 échantillons provenaient des États-Unis (10 individus dans chaque échantillon) et 30 échantillons provenaient du Royaume-Uni (4 individus dans chaque échantillon). Les mutations L1014F et T929V ont également été retrouvées à une fréquence relativement haute. Le manque d'informations concernant les traitements passés des animaux sur lesquels les puces ont été récoltées ne permet pas d'émettre une conclusion définitive. Cependant, la connaissance des conséquences de la présence de ces mutations chez d'autres insectes et l'importante fréquence des mutations *kdr* chez les animaux domestiques laissent supposer qu'un échec de traitement des chiens pourrait être imputable à une résistance des puces aux pyréthrinoïdes.

### 2.3.2. Implication de la mutation du gène *Kdr* dans la résistance aux pyréthrinoïdes

En 2015, Rust et ses collaborateurs ont évalué la sensibilité de 16 colonies de puces pour les pyréthrinoïdes avec des tests biologiques impliquant une application topique de l'insecticide sur la cuticule des puces (Rust et al., 2015) comme présenté au II.C.2.1.2. Les taux de résistance pour chacune des populations de puces ont été calculés pour la deltaméthrine, l'étofenprox, la perméthrine et la d-phenothrin. Ils étaient tous inférieurs à 5 sauf pour une population de puces dont le taux de résistance était de 9.4 pour la deltaméthrine. Ainsi, dans cette étude, la plupart des souches étaient considérée comme sensible aux pyréthrinoïdes. Une résistance a été décelée dans une des populations de puces étudiées. Rust et ses associés ont ensuite caractérisé, par PCR, les génotypes *Kdr* des différentes populations de puces étudiées. Chaque population de puces étaient composées d'individus homozygotes et hétérozygotes de façon non homogène. En outre, cette étude ne démontre pas un lien clair entre la présence d'une mutation *Kdr* et un phénotype de résistance aux pyréthrinoïdes. Cela suggère l'implication d'autres mécanismes comme l'augmentation du métabolisme ou une résistance cuticulaire pouvant expliquer les échecs thérapeutiques rencontrés sur le terrain.

## 2.4. Bilan

Les études présentées ci-dessus s'intéressant à la mise en évidence de résistance chez la Puce du Chat aux insecticides sont de fait encore peu nombreuses. La mise en évidence, chez des puces récoltées sur le terrain, de mutations responsables de résistance prouve que celles-ci sont déjà présentes au sein de diverses populations et pourraient à terme compromettre les traitements antipuces des carnivores domestiques. Le métabolisme de l'insecticide semble également jouer un rôle important dans la résistance et mériterait d'être explorée de manière plus approfondie. Toutefois et pouvant expliquer *a minima* le peu d'intérêt à l'étude de la résistance aux insecticides chez *C. felis*, les échecs thérapeutiques observés sur le terrain ne sont pas tous imputables à une résistance. La mauvaise utilisation des antiparasitaires expliquent en grande partie ces échecs : mauvaise application d'un produit sous la formulation de spot-on, non renouvellement du traitement à la fin de la rémanence du produit, traitement d'un seul animal du foyer.

Les animaux sauvages sont également considérés comme un réservoir car porteurs des mêmes puces que les animaux domestiques. Quelques résistances ont également été documentées chez la Puce du Rat, *Xenopsylla cheopis*, notamment aux pyréthriinoïdes (Miarinjara, Boyer, 2016) et à la deltaméthrine (Boyer et al., 2014), cette dernière est soumise à une pression par les insecticides forte du fait des pulvérisations importantes dans l'environnement dans les régions d'endémie de peste.

## 3. Alternatives aux insecticides

Plusieurs pistes sont envisageables pour éviter d'utiliser excessivement les antiparasitaires insecticides et ainsi retarder l'apparition de résistances (Coles, Dryden, 2014) :

- L'utilisation d'agents biologiques, pathogènes pour les puces, est encore à l'étude. Cette solution est utilisée pour d'autres insectes notamment en agriculture mais semble moins pratique concernant la lutte contre les puces.
- La vaccination des chiens et des chats contre les puces et les tiques semble possible dans le futur mais de nombreuses études sont encore nécessaires avant une telle application.

#### 4. Stratégies pour minimiser le développement, la progression et l'impact des résistances

L'IRAC (Insecticide Resistance Action Committee) est un groupe de spécialistes, formé en 1984, dont le but principal est de prévenir ou empêcher le développement de résistance des insectes face aux pesticides utilisés à l'heure actuelle. Cette organisation a pour mission de faciliter la communication et l'éducation sur les phénomènes de résistance et de promouvoir et faciliter le développement et la mise en œuvre de stratégies pour maintenir une efficacité des insecticides et ainsi contribuer au maintien d'une agriculture durable et d'une santé publique renforcée.

En ce qui concerne les puces, un des plus grands risques d'apparition de résistance est lié à la mauvaise utilisation des antiparasitaires. Il faut expliquer aux propriétaires les particularités biologiques de la puce et l'importance de nettoyer mécaniquement (dans la mesure du possible) l'environnement, de le traiter ensuite avec des régulateurs de croissance et de traiter l'animal (avec des adulticides ou en les combinant avec des régulateurs de croissance). Il est également important de ne pas utiliser toujours les mêmes classes d'insecticide. En effet, les premiers insecticides élimineront les insectes sensibles mais risquent de sélectionner les individus résistants. En utilisant d'autres insecticides en alternance, les insectes résistants au premier auront plus de chances d'être éliminés par les suivants. Le risque de sélection sera moindre ou du moins fortement ralenti.

## Conclusion

L'utilisation des insecticides est à l'heure actuelle indispensable dans notre société. L'arrêt complet de leur utilisation entraînerait des conséquences économiques et sanitaires beaucoup trop importantes. Cependant, leur utilisation doit se faire de manière raisonnée. En effet, de nombreuses résistances ont été démontrées chez de nombreux insectes et d'autres études sont en cours pour prouver l'existence de résistance chez d'autres insectes. Les études portent principalement sur les vecteurs de zoonose comme les moustiques *Anopheles* sp. ou *Aedes* sp. Dans le cas de la Puce du Chat, *C. felis*, il n'y a encore que très peu d'études. Cependant, face aux échecs thérapeutiques rencontrés parfois par les propriétaires d'animaux de compagnie et les vétérinaires lors du traitement antiparasitaire de leurs animaux, des études d'efficacité sont entreprises concernant les produits commercialisés afin de confirmer ou d'infirmer l'hypothèse de résistance aux insecticides. Ces dernières portent principalement sur les premiers insecticides utilisés. Elles prouvent l'existence de phénomènes de résistance présents chez différentes populations de Puce du Chat pour des insecticides neurotoxiques (fipronil, pyréthrinoïdes). En résumé, en dépit de ces quelques rapports, ces travaux démontrent tout de même que les produits commercialisés sur le marché vétérinaire gardent encore une bonne efficacité. La question est de savoir pour combien de temps encore dans un contexte où les animaux de compagnie sont de plus en plus médicalisés.

En ce qui concerne les IGR, des phénomènes de résistance ont été détectés chez la Mouche domestique, *Musca domestica* (Cetin et al., 2009) mais ces derniers sont rares et n'ont pas encore été prouvés chez la Puce du Chat. Cependant, le mode de vie de la mouche domestique présente un risque accru dans la propagation de la résistance. En effet, cette espèce est très prolifique et peut se déplacer sur de plus larges étendues.

En conclusion, pour éviter la sélection et la propagation d'individus résistants, il est nécessaire d'utiliser les antiparasitaires de manière correcte et raisonnée. Il faut en particulier instruire le propriétaire sur les bonnes pratiques de gestion des infestations de puces afin de préserver l'efficacité des molécules disponibles le plus longtemps possible.

## Bibliographie

- ARAUJO FR, SILVA MP, LOPES AA, RIBEIRO OC, PIRES PP, CARVALHO CME, BALBUENA CB, VILLAS AA, RAMOS JKM, 1998. Severe cat flea infestation of dairy calves in Brazil. In : Veterinary Parasitology. 1998. Vol. 80, n°1, p. 83-86.
- ASSOGBA BS, MILESI P, DJOGBENOU LS, BERTHOMIEU A, MAKOUNDOU P, BABAMOUSA LS, FISTON-LAVIER AS, BELKHIR K, LABBE P, WEILL M, 2016. The ace-1 locus is amplified in all resistant anopheles gambiae mosquitoes: fitness consequences of homogeneous and heterogeneous duplications. In : Public Library of Science - Biology. 2016. Vol. 14, n°12.
- BASS C, SCHROEDER I, TURBERG A, FIALD LM, WILLIAMSON MS, 2004. Identification of mutations associated with pyrethroid resistance in the para-type sodium channel of the cat flea. In : Insect biochemistry and molecular biology. 2004. Vol. 34, p. 1305-1313.
- BASS C, LANDSELL SJ, MILLAR NS, SCHROEDER I, TURBERG A, FIELD LM, WILLIAMSON MS, 2006. Molecular characterisation of nicotinic acetylcholine receptor subunits from the cat flea, *Ctenocephalides felis* (Siphonaptera: Pulicidae). Insect Biochemistry and Molecular Biology. 2006. Vol. 36, p. 86-96.
- BEAUCOURNU Jean-Claude, LAUNAY Henri, 1990. Les puces (Siphonaptera) : de France et du Bassin méditerranéen occidental. Paris : Fédération française des sociétés de sciences naturelles, 1990. Faune de France 76. ISBN 10 : 2903052107/ISBN 13 : 978-2903052102.
- BEAUCOURNU Jean-Claude, MENIER K, 1998. The genus *Ctenocephalides* Stiles and Collins, 1930 (Siphonaptera, Pulicidae). In : Parasite. 1998. Vol. 5, n°1, p. 3-16.
- BERGER A, 2018. Caractérisation de la résistance au fipronil chez la puce du chat (*Ctenocephalides felis*). Rapport de stage de master international en entomologie. Université de Montpellier.
- BROGDON WG, MCALLISTER JC, 1998. Insecticide Resistance and Vector Control. In : Emerging Infectious Disease. 1998. Vol. 4, n°4, p. 605-613.
- BOSSARD RL, HINKLE NC, RUST MK, 1998. Review of Insecticide Resistance in Cat Fleas (Siphonaptera: Pulicidae). In : Journal of Medical Entomology. 1 Juillet 1998. Vol. 35, n°4.
- BOUHSIRA E, 2014. Role de *Ctenocephalides felis* (Bouche, 1835) [Siphonaptera: Pulicidae] dans la transmission de *Bartonella spp.* [Rhizobiales: Bartonellaceae] et moyens de contrôle. Thèse de doctorat (Pathologie, Toxicologie, Génétique et Nutrition). Toulouse : Institut National Polytechnique de Toulouse.
- BOYER S, MIARINJARA A, ELISSA N, 2014. *Xenopsylla cheopsis* (Siphonaptera: Pulicidae) susceptibility to Deltamethrin in Madagascar. In : PLOS One. 2014, Vol. 4, n°11.

- BURGU A, TINAR R, DOGANAY A, TOPAARLAK M, 1985. Survey for ecto and endoparasites of strays cats in Ankara. In : Veteriner Fakultesi Dergisi, Ankara Universitesi. 1985. Vol. 32, n°2, p. 288-300.
- CADIERGUES MC, DELOFFRE P, FRANC M, 2000a. Répartition des espèces de puces rencontrées chez le chat en France. In : Revue de Médecine vétérinaire. 2000. Vol. 151, n°5, p. 447-450.
- CADIERGUES MC, HOURCQ P, FRANC M, 2000b. A comparison of jump performances of the dog flea, *Ctenocephalides canis* (Curtis, 1826) and the cat flea, *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835). In : Veterinary parasitology. 2000. Vol. 92, n°3, p. 239-241.
- CADIERGUES MC, 2000c. *Ctenocephalides canis* (Curtis, 1826) : données épidémiologiques et biologiques. Thèse de doctorat en sciences agronomiques. Toulouse.
- CADIERGUES MC, 2009. La résistance aux insecticides. In : Pratique Vet. AFVAC. 2009. n°44.
- Centre National d'Expertise sur les Vecteurs, 2014. Utilisation des insecticides et gestion de la résistance.
- CETIN H, ERLER F, YANIKOGLU A, 2009. Survey of insect growth regulator (IGR) resistance in house flies (*Musca domestica L.*) from southwestern Turkey. In : Journal of Vector Ecology. 2009, Vol. 34, n°2, p. 329-337.
- COETZEZ BB, STANFORD GD, DAVIS DAT, 1987. Resistance by the blue tick (*Boophilus decoloratus*) to the synthetic pyrethroid, fenvalerate. In : The Onderstepoort. 1987. Vol. 54, n°1, p. 83-86.
- COLES TB, DRYDEN MW, 2014. Insecticide/acaricide resistance in fleas and ticks infesting dogs and cats. In : Parasites and Vectors. 2014. Vol. 7, n°8.
- COMAN BJ, JONES EH, DRIESEN MA, 1981. Helminth parasites and arthropods of feral cats. In : Australian Veterinary Journal. 1981. Vol. 57, n°7, p. 324-327.
- CROSIA Jean-Claude, 2011. Marché mondial du médicament vétérinaire : analyse des tendances des dix dernières années et perspectives d'évolution. Bulletin Académie Vétérinaire France - Tome 164, n°1, p. 21-25.
- CUI F, LIN Z, WANG H, LIU S, CHANG H, REECK G, QIAO C, RAYMOND M, KANG L, 2011. Two single mutations commonly cause qualitative change of nonspecific carboxylesterases in insects. In : Insect Biochemistry and Molecular Biology. 2011. Vol. 41, n°1, p. 1-8.
- DRYDEN MW, RUST MK, 1994. The cat flea: biology, ecology, and control. In : Veterinary Parasitology. 1994. Vol. 52, n°1-2, p. 1-19.
- ECKSTEIN RA, HART BL, 2000. Grooming and control of fleas in cats. In : Applied Animal Behaviour Science. 2000. Vol. 68, n°2, p. 141-150.
- FORGASH Andrew J., 1984. History, evolution and consequences of insecticide resistance. Pesiticide biochemistry and physiology. October 1984. Vol. 22, n°2, p. 178-186.

- FRANC M, CHOQUART P, CADIERGUES MC, 1998. Species of fleas found on dogs in France. In : Revue de Médecine Vétérinaire. 1998. Vol. 149, n°2, p. 135-140.
- GOPINATH D, MEYER L, SMITH J, ARMSRTONG R, 2018. Topical or oral fluralaner efficacy against flea (*Ctenocephalides felis*) transmission of *Dipylidium caninum* infection to dogs. In : Parasites & Vectors. 2018. Vol. 11, n°557.
- GRACIA MJ, CALVETE C, ESTRADA R, MARCEN JM, PINAL R, PERIBANEZ MA, 2017. Fipronil/(S)-methoprene spot-on to control fleas on cats in a field trial in Spain. In : Pesquisa Veterinaria Brasileira. Scielo. 2017. Vol. 37, n°6.
- GUAGUERE Eric, PRELAUD Pascal, 2006. Guide pratique de dermatologie canine. Editions Kalianxis. ISBN 10 : 2915758107/ISBN 13 : 9782915758108.
- GUZMAN RF, 1984. A survey of cats and dogs for fleas with particular reference to the role as intermediate hosts of *Dipylidium caninum*. In : New Zealand Veterinary journal. 1984. Vol. 32, n°5, p. 71-73.
- HAARLOEV N, KRISTENSEN S, 1977. Skin diseases of cat and dog. III. Fleas of cats and dogs in Denmark. In : Tierarzliche-Praxis. 1977. Vol. 5, n°4, p. 507-511.
- HARMAN DW, HALIWELL RE, GREINER EC, 1987. Flea species from dogs and cats in north-florida. In : Veterinary Parasitology. 1987. Vol. 23, n°1-2, p. 135-140.
- HAUBRUGE E, AMICHOT M, 1998. Les mécanismes responsables de la résistance aux insecticides chez les insectes et les acariens. In : Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement. Presses agronomiques de Gembloux. 1998. Vol. 2, n°3, p. 161-174.
- HERZYK P, 2014. Chapitre 8 - Next Generation Sequencing. In : PADMANABHAN S, 2014, Handbook of Pharmacogenomics and Stratified Medicine. p. 125-145. ISBN : 978-0-12-386882-4
- ISMAIL NS, TOOR MA, ABDEL-HAFEZ SK, 1982. Prevalence of ectoparasites of cats from Northern Jordan. In : Pakistan Veterinary Journal. 1982. Vol. 2, n°4, p. 164-166.
- 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. In : Tierarztliche Praxis. 1991. Vol. 19, n°2, p. 200-206.
- KLEIN JM, 1971. The flea fauna of Combodia (Siphonaptera). In : Cahiers ORSTOM Serie Entomologie Médicale et Parasitologie. 1971. Vol. 9, n°3, p. 223-238.
- KOUTINAS AF, PAPAZHARIADOU MG, RALLIS TS, TZIVARA NH, HIMONAS CA, 1995. Flea species from dogs and cats in northern Greece : environmental and clinical implications. In : Veterinary Parasitology. 1995. Vol. 58, n°1-2, p. 109-115.
- LAWRENCE AL, HII SF, JIRSOVA D, PANAKOVA L, IONICA AM, GILCHRIST K, MODRY D, MIHALCA AD, WEBB CE, TRAUB RJ, SLAPETA J, 2015. Integrated morphological and molecular identification of cat fleas (*Ctenocephalides felis*) and dog fleas

(*Ctenocephalides canis*) vectoring *Rickettsia felis* in central Europe. In : Veterinary Parasitology. June 2015. Vol. 210, n°3-4, p. 215-223.

LIEBISCH A, BRANDES R, HOPPENSTEDT K, 1985. Tick and flea infections of dogs and cats in the German Federal Republic. In : Praktische Tierarzt. 1985. Vol. 66, n°10, p. 817-824.

LIENARD E, FRANC M, BOUHSIRA E, 2018. La résistance aux pesticides chez les arthropodes. In : Bulletin des GTV. 2018. Numéro spécial 2018.

LOUAT F, 2013. Etude des effets liés à l'exposition aux insecticides chez un insecte modèle, *Drosophila melanogaster*. Thèse de doctorat en Génétique cellulaire et moléculaire. Orléans.

MCELROY KM, BLAGBURN BL, BREITSCHWERDT EB, MEAD PS, MCQUISTON JH, 2010. Flea-associated zoonotic diseases of cats in the USA: bartonellosis, flea-borne rickettsioses, and plague. In : Trends in Parasitology. 2010. Vol. 26, n°4, p. 197-204.

MELANDER Axel Leonard, 1914. Can Insects Become Resistant to Sprays? In : Journal of Economic Entomology. 1 April 1914. Vol. 7, n°2, p. 167-173.

MENCKE N, VOBIS M, MELHORN H, HAESE JD, REHAGEN M, MANGOLD-GEHRING S, TRUYEN U, 2009. Transmission of feline calicivirus via the cat flea (*Ctenocephalides felis*). In : Parasitology Research. 2009. Vol. 105, n°1, p. 185-189.

MENGHAUR S, TUNGCHING H, WENJER W, 1993. Seasonal abundance of cat flea, *Ctenocephalides felis* (Bouché)(Siphonaptera : Pulicidae), in Taipei City. In : Chinese Journal of Entomology. 1993. Vol. 13, n°1, p. 59-67.

MIARINJARA A, BOYER S, 2016. Current perspectives on plague vector control in Madagascar: susceptibility status of *Xenopsylla cheopsis* to 12 insecticides. *PLOS Neglected Tropical Diseases*. [En ligne] 2016. [Citation : 20 septembre 2019.] <https://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0004414>.

MILANI R, 1963. Genetical Aspects of Insecticide Resistance. Bulletin Organisation Mondiale de la Santé. n°29.

MOLINA CP, OGBURN J, ADEGBOYEGA P, 2003. Infection by *Dipylidium caninum* in an infant. In : Archives of Pathology & Laboratory Medicine. 2003. Vol. 127, n°3, p. 157-159.

MONTELLA IR, SCHAMA R, VALLE D, 2012. The classification of esterases : an important gene family involved in insecticide resistance. In : Memorias do Instituto Oswaldo Cruz. Juin 2012. Vol. 107, n°4.

MORSY TA, MICHAEL SA, DISI AMEL, 1980. Cats as reservoir hosts of human parasites in Aman, Jordan. In : Journal of the Egyptian Society of Parasitology. 1980. Vol. 10, n°1, p. 5-18.

MOTA-SANCHEZ D, WISE JC. Arthropod Pesticid Resistance Database. [En ligne] Michigan State University, 2019. [Citation : 19 juillet 2019.] <http://www.pesticideresistance.org>.



- MOYSES EW, BUCHY A, 1996. Rapid selection of malathion resistance in the cat flea *Ctenocephalides felis* (Bouche) (Siphonaptera: Pulicidae). In : Proceedings of the 20th international congress of entomology. Août 1996. p. 596.
- MR4, 2014. Methods in Anopheles research manual. In : Malaria Research and Reference Reagent Ressource Centre.
- NAPOLI E, BRIANTI A, FALSONE L, GAGLIO G, FOIT S, ABRAMO F, ANNOSCIA G, DANTAS-TORRES F, GIANNETO S, OTRANTO D, 2014. Development of *Acanthocheilonema reconditum* (Spirurida, Onchocercidae) in the cat flea *Ctenocephalides felis* (Siphonaptera, Pulicidae). In : Parasitology. 2014. Vol. 141, p. 1718-1725.
- NEWCOMB RD, CAMPBELL PM, OLLIS DL, CHEAH E., RUSSEL RJ, OAKESHOTT JG, 1997. A single amino acid substitution converts a carboxylesterase to an organophosphorus hydrolase and confers insecticide resistance on a blowfly. In : Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 1997. Vol. 94, n°14, p. 7464-7468.
- NIAK A, 1972. The prevalence of *Toxocara cati* and other parasites in Liverpool cats. In : Veterinary Record. 1972. Vol. 91, n°22, p. 534-536.
- NIHAD W, TAFIQ I, SUBBER AH, 1998. Internal and external parasites in cats in Mosul, Iraq. In : Journal of Veterinary Parasitology. 1998. Vol. 2, n°2, p. 137-138.
- O'CALLAGHAN MG, MOORE E, FORD GE, 1984. Helminth and arthropod parasites from dogs and cats in South Australia. In : Australian Veterinary Practitioner. 1984. Vol. 14, n°4, p. 159-161.
- OMS (Organisation Mondiale de la Santé), 1992. Résistance des vecteurs aux pesticides. Suisse : Benteli.
- OMS (Organisation Mondiale de la Santé), 2017. Procédures pour tester la résistance aux insecticides chez les moustiques vecteurs du paludisme. Genève 2017. Seconde édition.
- OTRANTO D, DANTAS-TORRES F, BRIANTI E, TRAVERSA D, PETRIC D, GENCHI C, CAPELLI G, 2013. Vector-borne helminths of dogs and humans in Europe. In : Parasites & Vectors. 2013. Vol. 6, n°16.
- PARIS M. Evolution de la résistance au bactério-insecticide *Bti* chez les moustiques, 2000. Thèse de doctorat en Biodiversité-Ecologie-Environnement. Grenoble : Université de Grenoble.
- PAYNE PA, DRYDEN MW, SMITH V, RIDLEY RK, 2001. Effect of 0.29% w/w fipronil spray on adult flea mortality and egg production of three different cat flea, *Ctenocephalides felis* (Bouché), strains infesting cats. In : Veterinary Parasitology. 2001. Vol. 102, p. 331-340.
- REMNANT EJ, GOOD RT, SCHMIDT JM, LUMB C, ROBIN C, DABORN PJ, BATTERHAM P, 2013. Gene duplication in the major insecticide target site, Rdl, in *Drosophila melanogaster*. In : Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2013. Vol. 110, n°36, p. 14705-14710.

RUBERT A, GUILLON-GRAMMATICO L, CHANDENIER J, DIMIER-POISSON I, DESOUBEAUX G, 2016. Résistance aux insecticides chez le moustique anophèle : des obstacles en plus dans la lutte antipaludique. In : Médecine et santé tropicale. John Libbey Eurotext. 2016. Vol. 26, n°4, p. 423-431.

RUST MK, WAGGONER M, HINKLE NC, MENCKE N, HANSEN O, VAUGHN M, DRYDEN MW, PAYNE P, BLAGBURN BL, JACOBS DE, BACH T, BLEDSOE D, HOPKINS T, MEHLHORN H, DENHOLM I, 2002. Development of a larval bioassay for susceptibility of cat fleas (Siphonaptera: Pulicidae) to Imidacloprid. In : Journal of Medicine Entomology. 2002. Vol. 39, n°4, p. 671-674.

RUST MW, VETTER R, DENHOLM I, BLAGBURN B, WILLIAMSON MS, KOPP S, COLEMAN G, HOSTETLER J, DAVIS W, MENCKE N, REES R, FOIT S, BOLM C, TEZNER K, 2015. Susceptibility of Adult Cat Fleas (Siphonaptera: Pulicidae) to Insecticides and Status of Insecticide Resistance Mutations at the Rdl and Knockdoxn Resistance Loci. In : Parasitology Research. 2015, Vol. 114, n°1, p. S7-S18.

RUST MK, BLAGBURN BL, DENHOLM I, DRYDEN MW, PAYNE P, HINKLE NC, KOPP S, WILLIAMSON M, 2018. International Program to Monitor Cat Flea Populations for Susceptibility to Imidacloprid. In : Journal of Medical Entomology. 2018. Vol. 55, n°5, p. 1245-1253.

SAVIC Sara, POTKONJAK Aleksandar, ZEKIC-STOSIC Marina, PETROVIC Tamas, 2018. The emergence of vector-borne diseases in new locations. In : ROIG Benoit, WEISS Karine, THIREAU Véronique. Management of Emerging Public Health Issues and Risks, 1st Edition : Multidisciplinary Approaches to the Changing Environment. Academic Press. Elsevier. p. 89-96. Paperback ISBN : 9780128132906. eBook ISBN : 9780128132913.

SCHENKER R, HUMBERT-DROZ E, MOYSES EW, YERLY, 2001. Efficacy of Nitenpyram Against a Flea Strain with Resistance to Fipronil. In : Supplement to Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian. Mars 2001. Vol. 23, n°3, p. 16-19.

SHANTA CS, WAN SP, KWO NKH, 1980. A survey of the endo and ectoparasites of cats in and around Ipoh, West Malaysia. In : Malaysian Veterinary Journal. 1980. Vol. 7, n°1, p. 17-27.

SHEPPARD CD, JOYCE JA, 1992. High levels of pyrethroid resistance in horn flies (Diptera: Muscidae) selected with cyhalothrin. In : Journal of economic entomology. 1992. Vol. 85, n°5, p. 1587-1593.

SILVERMAN J, RUST MK, REIERSON R, 1981. Influence of temperature and humidity on survival and development of the cat flea, *Ctenocephalides felis* (Siphonaptera: Pulicidae). In : Journal of Medical Entomology. 1981. Vol. 18, n°1, p. 78-83.

SODERLUND DM, KNIPPLE DC, 2003. The molecular biology of knockdown resistance to pyrethroid insecticides. In : Insect Biochemistry and Molecular Biology. Pergamon. 2003. Vol. 33, n°6, p. 563-577.

SPARKS Thomas C., NAUEN Ralf, 2015. IRAC: Mode of action classification and insecticide resistance management. In : Pesticide biochemistry and physiology. June 2015. Vol. 121, p. 122-128.

TABASHNIK BE, FINSON N, JOHNSON MW, MOAR WJ, 1993. Resistance to Toxins from *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* Causes Minimal Cross-Resistance to *B. thuringiensis* subsp. *aizawai* in the Diamondback Moth (Lepidoptera: Plutellidae). In : Applied and Environmental Microbiology. 1993. Vol. 59, n°5, p. 1332-5.

VOBIS M, D'HAESE J, MEHLHORN H, MENCKE N, 2003. Evidence of horizontal transmission of feline leukemia virus by the cat flea (*Ctenocephalides felis*). In : Parasitology Research. 2003. Vol. 91, p. 467-4670.

WILSON-HANSON SL, PRESCOTT CW, 1982. A survey for parasites in cats. In : Australian veterinary journal. 1982. Vol. 59, n°6, p. 194.

WOODS JE, BREWER MM, HAWLEY JR, WISNEWSKI N, LAPPIN MR, 2005. Evaluation of experimental transmission of *Candidatus Mycoplasma haemominutum* and *Mycoplasma haemofelis* by *Ctenocephalides felis* to cats. In : American Journal of Veterinary Research. 2005. Vol. 66, n°6, p. 1008-1012.

YAPHE W, GIOVENGO S, MOISE NS, 1993. Severe cardiomegaly secondary to anemia in a kitten. In : Journal of the American Veterinary Medical Association. 1993. Vol. 202, n°6, p. 961-964.

ZAKSON-AIKEN M, GREGORY LM, SHOOP WL, 1996. Reproductive Strategies of the Cat Flea (Siphonaptera: Pulicidae): Parthenogenesis and Autogeny? In : Journal of Medical Entomology. 1996. Vol. 33, n°3, p. 395-397.

ZHANG Y, JIANG R, WU H, LIU P, XIE J, HE Y, PANG H, 2012. Next-generation sequencing-based transcriptome analysis of *Cryptolaemus montrouzieri* under insecticide stress reveals resistant-relevant genes in ladybirds. In : Genomics. 2012, Vol. 100, n°1, p. 35-41.

**AGREMENT SCIENTIFIQUE**

**En vue de l'obtention du permis d'imprimer de la thèse de doctorat vétérinaire**

Je soussigné, Emmanuel LIENARD, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **Joanna HODOUL** intitulée « **Etude bibliographique de la résistance des puces aux antiparasitaires utilisés en médecine vétérinaire** » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

Fait à Toulouse, le 24/10/2019  
Docteur Emmanuel LIENARD  
Maître de Conférences  
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Vu :  
Le Directeur par intérim de l'Ecole  
Nationale Vétérinaire de Toulouse  
Frédéric BOUSQUET

*En déléguation,*



**Caroline LACROUX**  
Directrice de l'enseignement  
et de la vie étudiante

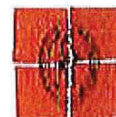
Vu :  
Le Président du jury :  
Professeur Alexis VALENTIN



Vu et autorisation de l'impression :  
Présidente de l'Université Paul Sabatier  
Madame Régine ANDRE-OBRECHT

La Présidente de l'Université Paul Sabatier,  
par déléguation,  
Le Vice-Président de la CFVU  
Richard GUILLET

Mme Joanna HODOUL  
a été admis(e) sur concours en : 2014  
a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le : 18/07/2018  
a validé son année d'approfondissement le : 16/07/2019  
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.



Toulouse, 2019

**NOM :** HODOUL

**PRÉNOM :** Joanna

**TITRE :** Étude bibliographique de la résistance des puces aux antiparasitaires utilisés en médecine vétérinaire.

**RÉSUMÉ :** La Puce du Chat, *Ctenocephalides felis*, est le parasite externe le plus fréquemment rencontré chez les chiens et les chats en France métropolitaine. Outre leurs nuisances physiques directes pour les animaux domestiques, ces insectes peuvent être les vecteurs de nombreuses maladies, en particulier des zoonoses. De nombreux produits antiparasitaires ont été mis sur le marché pour lutter contre ces parasites. Cependant, leur utilisation répétée risque de conduire à terme à la sélection d'individus résistants. Des études s'intéressant aux phénomènes de résistance chez *C. felis* montrent que plusieurs mécanismes peuvent être impliqués dans cette résistance. Quelques études prouvent même une résistance avérée chez certaines populations de puces pour des insecticides neurotoxiques (fipronil, pyréthrinoïdes).

**MOTS-CLÉS :** parasitologie - résistance - chien - chat - lutte antiparasitaire

---

**TITLE :** Bibliographic review of pesticides used in veterinary medicine fleas resistance.

**SUMMARY :** *Ctenocephalides felis* (the cat flea) is the most frequently encountered external parasite in dogs and cats in metropolitan France. In addition to their direct physical harm to domestic animals, these insects may be the vectors of many diseases, especially zoonoses. Many pest control products have been put on the market to fight against these pests. However, their repeated use may eventually lead to the selection becoming immune to the pest control. Studies focusing on resistance phenomena in *C. felis* show that several mechanisms can be involved in this type of resistance. Some studies even prove that there is a proven resistance in some flea populations for neurotoxic insecticides (fipronil, pyrethroids)

**KEYWORDS:** parasitology - resistance - dog - cat - pest control