

ACADÉMIE D'ORLÉANS-TOURS UNIVERSITÉ DE TOURS

FACULTE DE PHARMACIE « Philippe-Maupas »

Année 2021

N° 55

THÈSE D'EXERCICE
pour le
DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Par

CAO Clara, née le 3 janvier 1997 à Mantes-la-Jolie (78)

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 28 JUIN 2021

**Essais de nourrissage de poux de corps (*Pediculus humanus humanus*)
sur du sang de lapin *in vitro*.**

JURY

Président :

Mme DEBIERRE-GROCKIEGO Françoise, Maître de conférences, HDR, Faculté de Pharmacie - TOURS

Membres :

Mme BRAULT Alexane, Pharmacien d'officine, Pharmacie de la Manse – SAINTE-MAURE-DE-TOURAINE

Mme GERMON Stéphanie, Pharmacien, Maître de conférences, Faculté de Pharmacie – TOURS

Mme TOUBATE Berthine, Ingénieur de recherche, Faculté de Pharmacie – TOURS

ANNEE : 2020 - 2021

Directrice : Pr Véronique MAUPOIL

Directeur Adjoint : M. Hervé MARCHAIS

Assesseurs : Pr Daniel ANTIER, M. Matthieu JUSTE, Pr Karine MAHEO, Mme Audrey OUDIN

ENSEIGNANTS

10 PROFESSEURS D'UNIVERSITÉ

ALLOUCHI	Hassan	CHIMIE PHYSIQUE
BRAND	Denys	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE
CHEVALIER	Stéphane	BIOCHIMIE GENERALE & BIOTHERAPIE
CHOURPA	Igor	CHIMIE ANALYTIQUE & HYDROLOGIE
CLASTRE	Marc	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
DIMIER-POISSON	Isabelle	IMMUNOLOGIE PARASITAIRE
ENGUEHARD-GUEIFFIER	Cécile	CHIMIE THERAPEUTIQUE
MAHEO	Karine	PHYSIOLOGIE
MAUPOIL-DAVID	Veronique	PHARMACOLOGIE
VIAUD-MASSUARD	Marie-Claude	CHIMIE ORGANIQUE

6 PROFESSEURS D'UNIVERSITÉ ET PRATICIENS HOSPITALIERS

ANTIER	Daniel	PHARMACIE CLINIQUE
EMOND	Patrick	BIOPHYSIQUE & MATHEMATIQUES
GIRAudeau	Bruno	BIOPHYSIQUE & MATHEMATIQUES
LANOTTE	Philippe	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE
POUPLARD	Claire	HEMATOLOGIE
THIBAUT	Gilles	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE

2 PROFESSEURS ÉMERITES

GUILLOTEAU	Denis	BIOPHYSIQUE & MATHEMATIQUES
BARIN	Francis	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE

35 MAITRES DE CONFÉRENCES

ALLARD-VANNIER	Emilie	PHARMACIE GALENIQUE
AUBREY	Nicolas	BIOCHIMIE GENERALE & BIOTHERAPIE
BAKRI	Françoise	HYGIENE SANTE PUBLIQUE & TOXICOLOGIE
BESSON	Pierre	PHYSIOLOGIE
BIRER-WILLIAMS	Caroline	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
BONNIER	Franck	CHIMIE ANALYTIQUE & HYDROLOGIE
BORDY	Romain	PHARMACOLOGIE
BOUDESOCQUE-DELAYE	Leslie	PHARMACOGNOSIE
BOUVIN-PLY	Mélanie	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE
BRAIBANT	Martine	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE
BREDELOUX	Pierre	PHARMACOLOGIE
DAVID	Stéphanie	PHARMACIE GALENIQUE
DEBIERRE-GROCKIEGO	Françoise	IMMUNOLOGIE PARASITAIRE
DELAYE	Pierre-Olivier	CHIMIE THERAPEUTIQUE
DENEVAULT	Caroline	CHIMIE THERAPEUTIQUE
DOUZIECH-EYROLLES	Laurence	AFFAIRE REGLEMENTAIRE ET MANAGEMENT DE LA
DUMAS	Jean-François	BIOCHIMIE GENERALE ET BIOTHERAPIE
GERMON	Stéphanie	IMMUNOLOGIE PARASITAIRE
GLEVAREC	Gaëlle	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
HERVE-AUBERT	Katel	CHIMIE ANALYTIQUE & HYDROLOGIE
JUSTE	Matthieu	IMMUNOLOGIE PARASITAIRE
LAJOIE	Laurie	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE

LANOUE	Arnaud	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
MARC	Jillian	BIOMOLECULES ET BIOTECHNOLOGIES VEGETALES
MARCHAIS	Hervé	PHARMACIE GALENIQUE
MAVEL	Sylvie	CHIMIE THERAPEUTIQUE
MUNNIER	Emilie	PHARMACIE GALENIQUE
OMBETTA-GOKA	Jean-Edouard	CHIMIE ORGANIQUE
ODIN	Audrey	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
PASQUALIN	Côme	PHARMACOLOGIE
PRIE	Gildas	CHIMIE ORGANIQUE
SOUCE	Martin	CHIMIE ANALYTIQUE & HYDROLOGIE
TAUBER	Clovis	BIOPHYSIQUE & MATHEMATIQUES
VELGE-ROUSSEL	Florence	IMMUNOLOGIE PARASITAIRE
VERCOUILLIE	Johnny	BIOPHYSIQUE & MATHEMATIQUES
VERGOTE	Jackie	AFFAIRE REGLEMENTAIRE ET MANAGEMENT DE LA
VIERRON	Emilie	BIOPHYSIQUE & MATHEMATIQUES
ZHANG	Bei-Li	PHARMACOLOGIE

3 MAITRES DE CONFÉRENCES ET PRATICIENS HOSPITALIERS

ARLICOT	Nicolas	BIOPHYSIQUE & MATHEMATIQUES
FOUCAULT-FRUCHARD	Laura	PHARMACIE CLINIQUE
RESPAUD	Renaud	CHIMIE ANALYTIQUE & HYDROLOGIE

1 CONTRAT D'ENSEIGNEMENT

VANIER	Antoine	BIOPHYSIQUE & MATHEMATIQUES
--------	---------	-----------------------------

1 PRAG

WALTERS-GALOPIN	Susan	ANGLAIS
-----------------	-------	---------

2 CHARGÉS DE RECHERCHE

MEVELEC	Marie-Noëlle	INRAE
MOIRE	Nathalie	INRAE

1 PHARMACIEN D'OFFICINE – PAST (Enseignant Associé)

JOYEUX	VINCENT	Filière Pharmacie
--------	---------	-------------------

2 AHU (Assistant Hospitalier Universitaire)

FOUCAULT	Amélie	HEMATOLOGIE
MARLET	Julien	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE

1 ATER (Attaché Temporaire d'Enseignement et de Recherche)

HEREDIA-MARQUEZ	Arturo Vladimir	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
-----------------	-----------------	--



SERMENT DE GALIEN

En présence des Maitres de la Faculté, je fais le serment :

D'honorer ceux qui m'ont instruit(e) dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle aux principes qui m'ont été enseignés et d'actualiser mes connaissances ;

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de Déontologie, de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers la personne humaine et sa dignité ;

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels ;

De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession ;

De faire preuve de loyauté et de solidarité envers mes collègues pharmaciens ;

De coopérer avec les autres professionnels de santé ;

Que les Hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert(e) d'opprobre et méprisé(e) de mes confrères si j'y manque.

Date : 28.06.2021

L'étudiant CAO Clara

*Le Doyen de la Faculté
Professeur Véronique Maupoil*

**ESSAIS DE NOURRISSAGE
DE POUX DE CORPS
(*PEDICULUS HUMANUS HUMANUS*)
SUR DU SANG DE LAPIN *IN VITRO***

Pour Alice.

REMERCIEMENT

À madame DEBIERRE-GROCKIEGO Françoise, présidente de jury et directrice de thèse,
Merci de me faire l'honneur de présider cette thèse. Merci pour votre enseignement pendant ces années. Je vous remercie de m'avoir encadrée et d'avoir eu les mots justes. Merci pour votre patience et votre bienveillance.

À madame TOUBATE Berthine, encadrante de thèse,
Merci de m'avoir permis de venir dans ton laboratoire et de découvrir l'univers de la recherche. Merci de m'avoir fait participer à ces expériences et de m'avoir encadrée.

À madame BRAULT Alexane,
Merci de m'avoir poussée à écrire cette thèse. Merci de faire partie de mon jury. Merci d'être mon mentor et amie. Merci d'être une source d'inspiration.

À madame GERMON Stéphanie,
Merci d'avoir accepté de juger mon travail. Merci pour votre investissement dans mon enseignement.

À ma mère,

Elle m'encourage, me soutient et m'inspire. Puisqu'elle m'a trop souvent répétée que les choses ne doivent pas être faites pour les autres, mais pour soi. Je suis contente d'enfin pouvoir lui montrer le fruit de mon travail.

À mon père,

Il m'a poussé à aller toujours plus loin et remettre en question les résultats obtenus dans ce que je fais. Je peux fièrement affirmer que cela m'a permis d'arriver au bout de ces longues années d'apprentissage avec une timide satisfaction.

À ma sœur Elody,

Elle m'a montré la voie pour mes premiers pas, m'a soutenue et aidée pendant de longues heures. Merci pour ces incroyables fiches et merci à son don de la perfection.

À ma sœur Alice,

Bien que nous ne soyons pas d'accord sur le nombre de pages de cette « thésounette », merci pour ton investissement. Merci d'avoir été mon guide dans ce monde d'écriture et de recherche. Merci d'avoir cette passion pour ce que tu fais et de le transmettre avec générosité. Tu nous montres l'exemple à tous.

À mes ami(e)s,

Depuis le lycée ou la faculté, vous êtes un soutien indéfectible pour moi. Il y a eu beaucoup de rires et quelques pleurs. Nous sommes toujours là, les uns pour les autres, dans le plus grand respect et l'admiration de ce que chacun a choisi d'accomplir. Merci pour ces années passées, mais surtout pour celles à venir à vos côtés. Merci.

À la pharmacie de la Manse à Sainte-Maure-de-Touraine (37),

Merci à toute l'équipe de m'avoir montré, appris, transmis votre savoir. Comme pour apprendre à faire du vélo, vous avez été mes petites roues.

À la pharmacie de l'Océan à Soulac-sur-Mer (33),

Merci de m'avoir donné ma chance et fait confiance. Merci d'avoir égayé mes journées avec des fous rires et plein de sucreries. À notre complicité.

À Ba Noi et Nanette,

À tonton Chi,

À Marianne et Gilles,

À ma famille.

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES FIGURES.....	10
LISTE DES TABLEAUX	12
I. INTRODUCTION.....	13
II. GÉNÉRALITÉS SUR LES POUX	15
A. CLASSIFICATION & MORPHOLOGIE	15
B. BIOLOGIE.....	18
1. <i>MODE DE VIE / PLACE DANS L'ENVIRONNEMENT</i>	18
2. <i>CYCLE DE VIE</i>	19
C. ALIMENTATION.....	22
III. SANTÉ PUBLIQUE	23
A. PÉDICULOSE DU CUIR CHEVELU.....	23
1. <i>ÉPIDÉMIOLOGIE</i>	23
2. <i>DIAGNOSTIC & SYMPTÔMES</i>	24
3. <i>TRAITEMENTS</i>	25
B. PÉDICULOSE DU CORPS	26
1. <i>ÉPIDÉMIOLOGIE</i>	26
2. <i>DIAGNOSTIC & SYMPTÔMES</i>	27
3. <i>TRAITEMENTS</i>	27
IV. ÉLEVAGE DE POUX EN LABORATOIRE	28
V. EXPÉRIENCES.....	31
A. PRÉPARATION.....	31
B. ESSAIS DE NOURRISSAGE	32
1. <i>TESTS EN CONTACT DIRECT AVEC DU SANG</i>	32
a. TEST AVEC DES GOUTTES DE SANG	32
b. TESTS SUR UNE GÉLOSE	33
c. TESTS AVEC SUPPORTS	34
2. <i>TESTS EN CONTACT INDIRECT AVEC DU SANG : MISE EN PLACE D'UNE BARRIÈRE</i>	36
3. <i>SUIVI DES POUX</i>	41
VI. DISCUSSION	43
A. ÉVALUATION DES TESTS EN CONTACT DIRECT AVEC DU SANG.....	49
B. ÉVALUATION DES CONTENANTS	50
C. ÉVALUATION DES BARRIÈRES	51
D. QUESTIONNEMENT DU LAVAGE DU SANG.....	53
E. PARAMÈTRES ÉTUDIÉS	53
VII. CONCLUSION	55
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	57

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Classification phylogénétique des poux.....	15
Figure 2 : Photos de poux (© BioMAP). (A) Pou de tête mâle. (B) Pou de tête femelle. (C) Pou de corps mâle. (D) Pou de corps femelle. La barre représente 1 mm.....	17
Figure 3 : Cycle de vie de <i>Pediculus humanus</i>	20
Figure 4 : Photos montrant une larve de pou sortant de son œuf (© BioMAP). La barre représente 0,2 mm.	21
Figure 5 : Nourrissage de poux de corps sur lapin (© CAO).....	30
Figure 6 : Essai de nourrissage de poux dans une boîte de Pétri avec du sang en gouttelettes. La formation d'une pellicule est visible sur la photo de droite (© CAO).	32
Figure 7 : Essai de nourrissage de poux sur du coton hydrophile imbibé de sang, disposé dans une boîte de Pétri (© CAO).....	34
Figure 8 : (A) Plaque 24 puits (Thermo Fisher Scientific®) (© CAO). (B) Essai de nourrissage de poux sur un morceau de mousse MATinter® dans un puits contenant du sang (© CAO).....	35
Figure 9 : Essai de nourrissage de poux sur du coton hydrophile imbibé de sang dans un bouchon (© CAO).	35
Figure 10 : Essai de nourrissage de poux avec du sang recouvert de gélatine (© CAO)..	36
Figure 11 : Essai de nourrissage de poux sur de la mousse imbibée de sang, placée dans un puits d'une plaque de culture cellulaire avec du parafilm comme barrière (© CAO).	37
Figure 12 : Nourrissage de poux sur éponge imbibée de sang, contenu dans un bouchon et de la cellophane étirée en guise de barrière (© CAO).	38
Figure 13 : Graphique du taux de survie des poux en fonction des jours. Réalisés lors des expériences avec du sang libre ou bien imbibé sur une compresse avec la présence de boyau, de parafilm ou du dispositif Episkin™ comme barrière.....	41
Figure 14 : Illustrations provenant de l'article de TAKANO-LEE et al. (48) (C) Système d'élevage in vitro des poux de tête (D) Photographie de l'aire d'alimentation des poux de tête.	43
Figure 15 : Dessin schématique du système automatisé d'alimentation in vitro des poux de tête (49) : (A) système de libération des fluides, (B) système d'alimentation, (C) système de drainage.....	45

Figure 16 : Graphique exprimant la longévité des poux (en jours) en fonction de leur genre (mâle ou femelle) lors des expériences réalisées par TAKANO-LEE et al. (48).	45
Figure 17 : Schéma du montage du système de nourrissage in vitro (51).	47
Figure 18 : Système de nourrissage utilisant le système de membrane de nourrissage Hemotek® (52) : (A) Réservoir et bouchons métalliques, joint en caoutchouc, Parafilm™ M, (B) Réservoir rempli de sang placé sur l'unité d'alimentation, (C) Ajout d'une coupelle de pesée en plastique, (D) Placement des poux sur le système de nourrissage à l'aide d'un support, (E) Nourrissage des poux de corps.	48

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Types de métamorphoses existant chez les hexapodes.....	19
Tableau II : Tests sur gélose (© CAO).....	33
Tableau III : Tests avec différents supports imbibés de sang et recouverts de Parafilm™ M ou de cellophane.	37
Tableau IV : Test avec du boyau de porc comme barrière (© CAO).....	39
Tableau V : Tests avec différentes barrières sur le sang contenu dans une plaque de culture cellulaire (© CAO).....	40

I. INTRODUCTION

Connu pour ses infestations à travers le monde et les époques, *Pediculus humanus var. capitis*, mieux connu sous le nom de pou de tête, persiste toujours. C'est un parasite, tout comme ses semblables moins médiatisés auprès du grand public que sont le pou de corps (*Pediculus humanus var. humanus*) et le pou du pubis appelé morpion (*Phthirus pubis*).

Afin de mettre fin aux contaminations, le renouvellement de l'offre des produits anti-poux est possible avec la perpétuelle recherche d'agents parasitocides. Cette nécessité d'innovation est entre autres liée aux résistances acquises par le pou.

L'efficacité de nouvelles formulations est testée par l'équipe BioMédicaments Anti-Parasitaire (BioMAP – UMR 1282 ISP) de la faculté de pharmacie de Tours. Bien que le fléau du grand public soit les poux de tête, les tests sont réalisés sur des poux de corps d'un élevage se trouvant au laboratoire et bien que l'hôte originel de ces insectes hématophages soit l'Homme, les poux d'élevage peuvent être maintenus en vie par un nourrissage sur des lapins vivants.

Idéalement, un élevage de poux de tête serait préférable. Toutefois, ce dernier n'est pas réalisable, car actuellement, aucun moyen n'a été trouvé pour maintenir un quelconque élevage de poux de tête dans des conditions de laboratoire, notamment en raison de leur besoin de se nourrir très régulièrement, contrairement aux poux de corps qui peuvent rester quelques jours à jeun.

Le but de cette thèse est de réaliser des essais afin d'obtenir une méthode de nourrissage pour les poux de corps sans avoir recours à un animal vivant.

Les poux ne sont pas les seuls insectes concernés par cette problématique. De ce fait, des travaux ont également été réalisés sur d'autres insectes hématophages (moustiques et tiques) afin de les maintenir en vie *in vitro*. L'article "*Artificial blood feeders for mosquitoes and ticks – Where from, where to ?*" de ROMANO *et al.* regroupe plusieurs de ces techniques (1). Dans les différentes méthodes citées, des éléments communs aux expériences sont mis en évidence comme l'absence de contact direct des insectes avec le sang, donc la présence d'une barrière, ainsi qu'un système permettant d'apporter de la chaleur. Ces paramètres sont appliqués dans les multiples essais faits lors de cette thèse.

Pour cela, diverses techniques ont été mises en pratique à l'aide de différents matériaux afin d'essayer de reconstituer les conditions physiologiques de nourrissage des poux. L'ultime objectif est de pouvoir permettre à la colonie de poux de corps de vivre en autonomie sans l'intervention humaine (ou bien de manière très réduite). Pour cela, un montage fonctionnel, pratique et durable est recherché.

La finalité est d'arriver à appliquer cette méthode sur les deux variétés de poux : *Pediculus humanus var. humanus* et *Pediculus humanus var. capitis*, afin d'également obtenir un élevage de poux de tête par la suite. La recherche sur cette variété en serait ainsi facilitée.

Dans une première partie, la classification, la morphologie, le mode de vie ainsi que le cycle de vie des différents poux ont été détaillés. La compréhension de leur écosystème permet une meilleure appréhension des remèdes à utiliser pour les éliminer.

Ainsi, dans une deuxième partie, l'exposition à ces infestations, les conséquences de celles-ci et leurs remèdes sont expliqués.

Ensuite, la méthode actuelle de nourrissage de l'élevage dans le laboratoire de Tours est détaillée.

Enfin, les techniques élaborées et testées dans le but de mettre en place un nouveau système de nourrissage, sont présentées, discutées et comparées à la littérature.

II. GÉNÉRALITÉS SUR LES POUX

A. CLASSIFICATION & MORPHOLOGIE

Deux variétés parasites strictes de l'Homme sont distinguées : *Pediculus humanus* var. *capitis* et *Pediculus humanus* var. *humanus*, respectivement appelées pou de tête et pou de corps (Figure 1). À noter que le génome de ces deux variétés est identique (2).

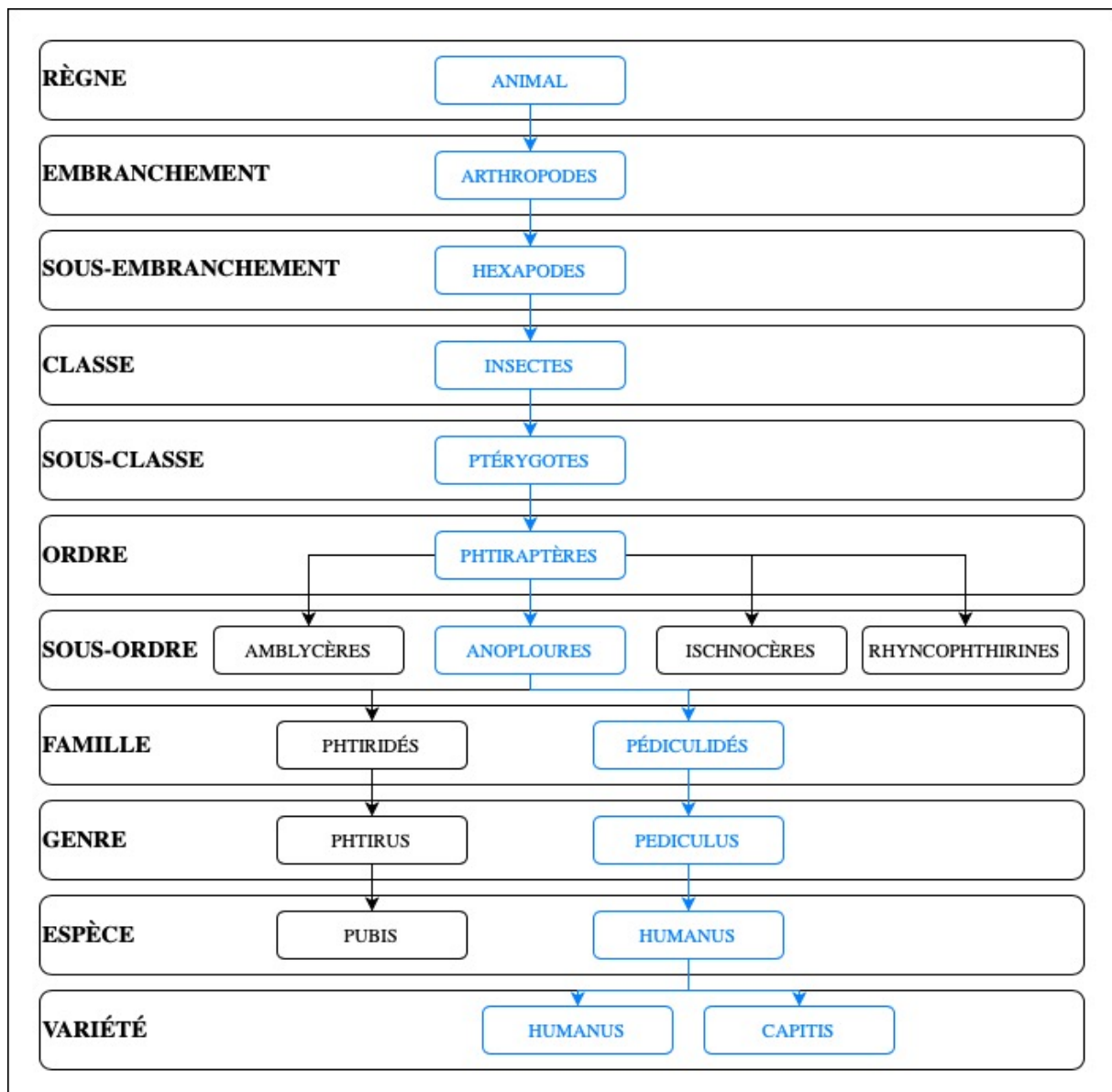


Figure 1 : Classification phylogénétique des poux.

La détermination de la classification phylogénétique (3) des poux de corps et poux de tête permet d'apprécier leurs caractéristiques morphologiques.

Ces derniers sont des eucaryotes appartenant au règne animal. Ce nœud de la classification est vaste et regroupe beaucoup d'organismes vivants.

L'embranchement est celui des arthropodes, indiquant un exosquelette composé d'un corps et de pattes segmentées ainsi que la présence au minimum d'une paire d'yeux latéraux. Le développement jusqu'à la forme adulte passe par différents stades larvaires. Leur locomotion est remarquable par des mouvements coordonnés (3).

Le sous-embranchement des hexapodes identifie ceux possédant trois paires de pattes. Une seule paire d'antennes est présente dans cette catégorie (3).

La classe des insectes regroupe plusieurs millions d'espèces. Les attributs distincts de cette classe sont la tête, le thorax et l'abdomen. Les paires de pattes au nombre de trois s'insèrent au niveau de la face ventrale du thorax (3).

La sous-classe des ptérygotes rassemble les insectes normalement ailés. Pourtant, le pou est aptère. La perte de cet appendice est certainement le résultat d'une adaptation au cours de l'évolution, en raison d'une localisation exclusivement dans les cheveux.

L'ordre des phthiraptères réunit les différentes espèces de poux (4). Quatre sous-ordres sont distingués, dissociés par deux grandes caractéristiques :

- Les poux broyeur : les amblycères, les ischnocères et les rhyncophthirines anciennement regroupés sous le terme de mallophages (5).
- Les poux suceurs : les anoploures.

Le sous-ordre des anoploures englobe plusieurs familles dont deux en particulier :

- La famille des pédiculidés avec les deux variétés étudiées : *Pediculus humanus var. capitis* (Linné, 1758) et *Pediculus humanus var. humanus* (De Geer, 1767).
- La famille des phthiridés avec le *Phtirus pubis* (Linné, 1758) communément appelé pou de pubis ou morpion. Parasite strict de l'Homme également, il ne sera pas mentionné davantage, car il ne fait pas l'objet de notre étude.

Les poux adultes ont une taille de quelques millimètres (6). Les femelles sont généralement plus grandes que les mâles (Figure 2, A et B). Le pou de corps est sensiblement plus grand, les deux sexes confondus (Figure 2, C et D). Ces pédiculidés sont aplatis dorso-ventralement à jeun (7). Le corps du pou s'élargit de plus en plus jusqu'à la moitié de son abdomen puis rétrécit de nouveau. Sa tête est plus étroite que son thorax. Entre le thorax et l'abdomen du *Pediculus humanus var. capitis*, un léger rétrécissement est présent (apparenté à une taille cintrée), contrairement au *Pediculus humanus var. humanus* (8). L'abdomen des mâles se termine en pointe alors que celui des femelles forme un creux (Figure 2).

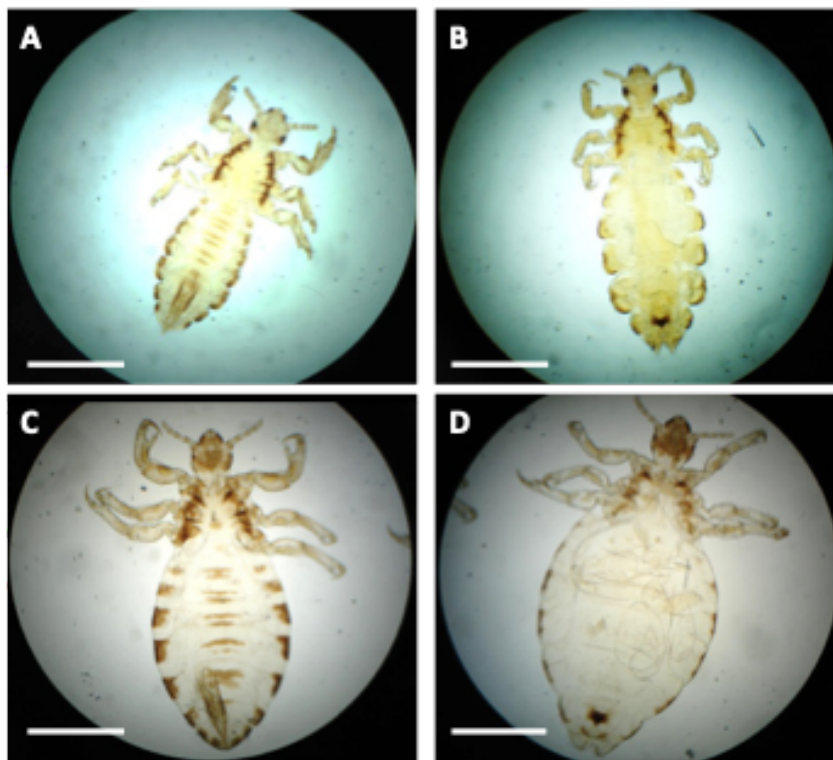


Figure 2 : Photos de poux (© BioMAP). (A) Pou de tête mâle. (B) Pou de tête femelle. (C) Pou de corps mâle. (D) Pou de corps femelle. La barre représente 1 mm.

Malgré les croyances communes, un pou ne peut pas sauter pour se déplacer. Cette incapacité s'explique par l'insertion horizontale des pattes au niveau du thorax. L'extrémité des pattes forme un crochet qui lui permet de s'accrocher aux cheveux et poils (9). Sa vitesse de déplacement peut atteindre 23 cm/min (10).

La couleur que prennent ces insectes est influencée par leur environnement proche, autrement dit par la couleur de la peau, des cheveux et des poils de leur hôte (11). Une fois gorgés de sang après leur repas, les poux prennent une couleur brun foncé légèrement rougeâtre.

B. BIOLOGIE

1. MODE DE VIE / PLACE DANS L'ENVIRONNEMENT

Différentes interactions biologiques se distinguent dans l'environnement, dont la symbiose. Celle-ci représente une association bénéfique, voire indispensable pour chacun des organismes impliqués (12). À l'opposé, se trouve le parasitisme. Le parasite est un organisme vivant aux dépens d'un tiers d'une autre espèce, appelé hôte (13). Ce dernier ne retire aucun bénéfice de cette relation. Pour être précis, les poux sont des ectoparasites de l'Homme, et plus généralement, des mammifères et des oiseaux. Un ectoparasite est un parasite vivant sur la peau de son hôte (14).

La pathologie associée au parasitisme des poux prend le nom de pédiculose, que ce soit pour le pou de tête ou le pou de corps (15). En revanche, leur mode de parasitisme diffère puisque l'un est permanent alors que l'autre est temporaire :

- Le pou de tête a un tropisme préférentiel pour la tête et y sera présent de manière permanente.
- Le pou de corps a un tropisme préférentiel pour le corps, mais y sera présent de manière interrompue ; son existence, dont sa reproduction, se réalise sur les vêtements de l'Homme. Sa migration sur le corps est motivée par la prise d'un repas sanguin (16).

2. CYCLE DE VIE

Le développement chez les hexapodes consiste en une succession de mues qualifiées de métamorphoses selon trois types d'évolution (3).

<u>CLASSIFICATION</u>	<u>MÉTAMORPHOSES</u>	<u>STADES JUVÉNILES</u>		<u>STADE ADULTE</u>
AMÉTABOLES	Ø	Ø changement de forme		
HÉMIMÉTABOLES	Incomplète = Imparfaite	NYMPHES (LARVES)		IMAGO
		Ressemblance très forte entre les deux stades ≠ de tailles		
HOLOMÉTABOLES	Compleète = Parfaite	LARVES	PUPE	IMAGO
		≠ morphologiques, comportementales, d'habitat		

Tableau I : Types de métamorphoses existant chez les hexapodes.

Les insectes amétaboles ne subissent aucune transformation. Aucune différenciation ne se fait entre les stades juvéniles et le stade adulte (Tableau I).

Pour les insectes holométaboles, la métamorphose est appelée complète ou encore parfaite. Une distinction des stades juvéniles et adultes est très caractéristique : les larves et l'imago (stade complètement développé = adulte) ne se ressemblent pas. Un stade intermédiaire, la puppe, est même identifié juste avant le passage à la forme adulte (17). La différence réside également dans le changement de comportement, de territoire et d'habitat (Tableau I).

Pour les poux, la succession de mues est incomplète ou imparfaite. C'est pourquoi, ce sont des insectes hémimétaboles. À la sortie de l'œuf, la nymphe (ou larve) ressemble très fortement à l'imago. La différence notable entre les deux est la taille croissante (Tableau I).

Le cycle de vie de *Pediculus humanus* est le même pour les deux variétés. Trois stades distincts composent ses étapes de vie (Figure 3).

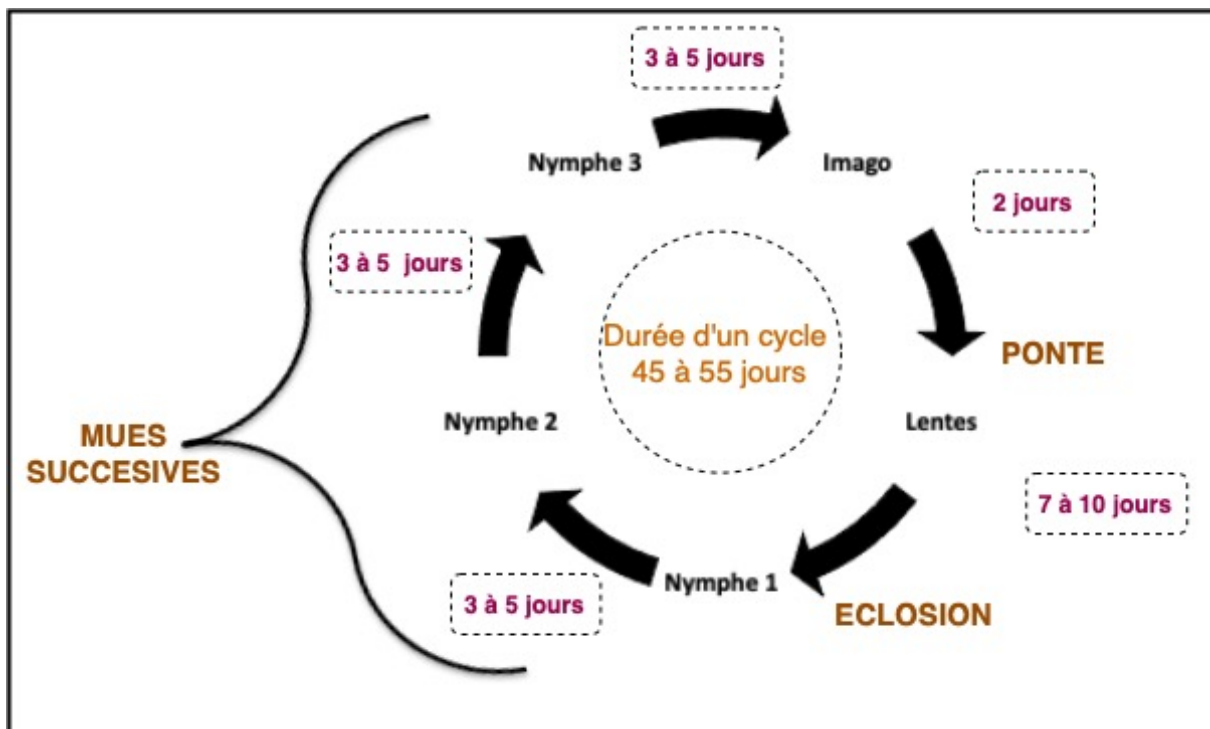


Figure 3 : Cycle de vie de *Pediculus humanus*.

La femelle adulte pond ses œufs appelés lentes. Celles-ci vont éclore après 7 à 10 jours en moyenne. L'éclosion laisse apparaître une première nymphe. Un total de trois mues s'enchaîne avec un intervalle de 3 à 5 jours entre chaque mue pour donner l'imago.

Les différentes nymphes sont immatures sexuellement et le pou devient mature environ 10 heures après avoir atteint le stade adulte. Après l'accouplement, la ponte (appelée oviposition chez les insectes) des œufs se fait dans les 36 à 48 heures, soit approximativement 2 jours (18). Lors de la ponte, une dizaine de lentes est dénombrée par jour. Cette fréquence diminue avec l'âge. Au total, la femelle peut pondre jusqu'à 300 lentes dans sa vie (19).

Une lente, souvent comparée à des pellicules, mesure 0,8 mm (6) et a une couleur blanchâtre luisante ou encore nacré (Figure 4). Cet œuf est fixement attaché à son support, le cheveu ou un textile, à l'aide d'une substance hautement collante produite par la femelle : le ciment (7). Lorsque la nymphe sort de la lente, la coque vide, communément appelée lente morte, reste collée plusieurs mois en raison du ciment et apparaît d'un blanc cristallin (20). La distance entre la lente et le cuir chevelu permet de différencier une lente morte, d'une lente vivante. Au-delà de 7 mm, ce sont majoritairement des lentes mortes (6).

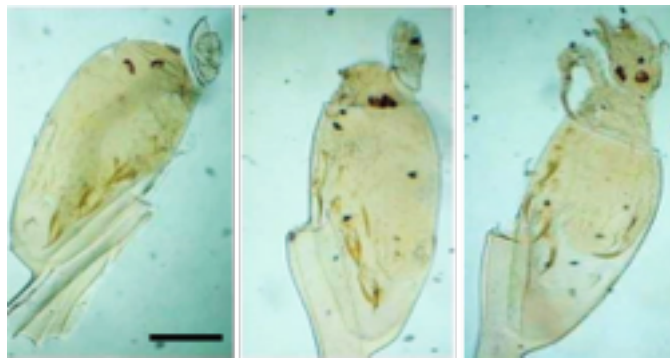


Figure 4 : Photos montrant une larve de pou sortant de son œuf (© BioMAP). La barre représente 0,2 mm.

Les lentes se trouvent au niveau de la racine du cheveu à 1 ou 2 mm du cuir chevelu pour les poux de tête (6). Alors que les lentes des poux de corps se situent au niveau des coutures des textiles (16).

Un pou adulte vit en moyenne pendant 30 à 40 jours. Toutefois, lorsque l'adulte se trouve séparé de son environnement et de sa source unique de nourriture, il meurt dans les deux à trois jours (6).

Pour se développer, les poux ont besoin de conditions environnementales qui leur sont propres. Une humidité entre 70 et 90 % est nécessaire à leur survie, tandis qu'en dessous de 40 %, les poux ne survivent pas. La température optimale se situe entre 29 et 32 °C pour le pou de corps et entre 33 et 36 °C pour le pou de tête (observations de B. TOUBATE). Le pou est très résistant et meurt seulement à une température supérieure à 50 °C (19) et plutôt proche de 60 °C.

Le cycle de vie des poux est influencé par les variations de températures, d'humidité et notamment des durées écoulées entre chaque stade de développement. À noter que le pou de corps est plus enclin à supporter ces variations.

C. ALIMENTATION

Les poux sont des insectes hématophages, c'est-à-dire se nourrissant du sang de leur hôte, soit celui des humains pour les deux variétés (21). Le sang humain est leur unique source d'apports nutritifs (22).

Les poux rassemblés sous le lignage des anoploures (Figure 1) ont des pièces buccales spécifiques du type piqueur-suceur avec une trompe rétractile (23). Pour faciliter sa prise de repas, le pou suce le sang et simultanément injecte sa salive ayant des propriétés vasodilatatrices et anticoagulantes (18).

La durée d'un repas sanguin est variable, mais dure en moyenne 30 à 40 minutes. La prise de repas se répète toutes les 3 à 6 heures pour les poux de tête qui supportent très mal le manque de nourriture en raison des faibles quantités qu'ils prélèvent à chaque repas (22). Les poux de corps peuvent se nourrir moins fréquemment car ils prennent des repas plus conséquents.

III. SANTÉ PUBLIQUE

Les deux variétés étudiées peuvent donner deux types de pédiculoses : la pédiculose du cuir chevelu et la pédiculose corporelle.

A. PÉDICULOSE DU CUIR CHEVELU

1. ÉPIDÉMIOLOGIE

Pediculus humanus var. capitis est responsable de la pédiculose du cuir chevelu ; elle est la plus connue du grand public. Selon la société française de dermatologie, environ 300 millions d'individus seraient concernés dans le monde par cette pédiculose (24). L'infestation par des poux de tête est un problème de santé publique mondiale qui ne fait pas de distinction entre les différents milieux socio-économiques (25). Aucune relation de causalité n'a été démontrée entre la présence de poux de tête et un manque d'hygiène (24).

Ce parasitisme est très répandu chez les jeunes enfants entre 5 et 11 ans (26). Toutefois, la pédiculose du cuir chevelu n'est pas réservée à cette tranche d'âge et peut être retrouvée dans l'ensemble de la population. La forte prévalence présente chez les enfants est expliquée par leur grande promiscuité, notamment dans le cadre scolaire. La prévalence des pédiculoses du cuir chevelu n'a pas de caractère saisonnier. Certaines périodes clés comme les rentrées scolaires sont cependant plus à même d'engendrer une hausse de celle-ci (27).

Comme mentionné précédemment, les poux ne peuvent ni voler, ni sauter. De ce fait, leur transmission se réalise, pour la plus grande majorité, par contact direct de tête à tête (28). Toutefois, une transmission par contact indirect via des objets infestés par le parasite (brosse à cheveux, bonnet, *etc.*) peut également se faire (10). À noter que les deux premiers stades nymphaux ne peuvent pas se déplacer aussi vite qu'un pou adulte et qu'ils s'éloignent peu du cuir chevelu (source de nourriture). Par conséquent, ils sont très rarement responsables d'une infestation (6).

Les animaux présents au contact des humains ne sont pas porteurs de *Pediculus humanus var. capitis* (28).

Cette parasitose est très contagieuse, mais elle est bénigne. *Pediculus humanus var. capitis* n'est pas un vecteur de pathogènes à ce jour (29).

2. DIAGNOSTIC & SYMPTÔMES

Le diagnostic de la pédiculose du cuir chevelu se fait par la visualisation de poux adultes, de nymphes ou bien encore de lentes vivantes. Autrement dit, les poux et les nymphes doivent être mobiles et les lentes doivent être fixées fermement sur le cheveu très proche du scalp (26).

Une infestation active par *Pediculus humanus var. capitis* n'est pas reflétée par la présence seule de lentes, d'autant plus si celles-ci sont situées loin du cuir chevelu. Par contre, cela démontre de manière certaine une infestation passée ou en cours (28).

Un diagnostic différentiel doit être fait : une confusion entre une pédiculose avérée et la présence de pellicules est fréquente. Il faut éliminer également la possibilité que ce soit du sable, notamment chez les jeunes enfants, ou bien des résidus de produits cosmétiques pour cheveux (26).

Ce diagnostic n'est pas simple, car la visualisation du pou n'est pas facile ; il se déplace rapidement et a tendance à fuir la lumière (6). La recherche doit être effectuée au niveau des zones chaudes du crâne ; c'est-à-dire derrière les oreilles et au niveau de la nuque (18). L'utilisation d'un peigne spécifique à dents serrées permettant de piéger les poux est vivement recommandée pour aider dans la démarche (26).

La validation du diagnostic est confortée par la symptomatologie : un prurit plus ou moins intense qui peut parfois engendrer des surinfections avec présence de ganglions enflés (24). Cette sensation de démangeaison est due à une réaction aux antigènes salivaires ou fécaux des poux (26).

3. TRAITEMENTS

La pédiculose du cuir chevelu ne connaît pas d'évolution favorable avec une guérison spontanée, un traitement est donc nécessaire (29). Le remède de la pédiculose du cuir chevelu consiste en l'éradication des poux et des lentes vivants (30). Cette opération n'est pas simple puisque les poux résistent à l'eau et au shampoing d'usage classique (31).

La technique la plus ancienne consiste à les enlever un à un avec les doigts (épouillage) ou bien à l'aide d'un peigne adapté (19). C'est une technique fastidieuse dont l'efficacité n'est pas optimale lorsqu'elle est utilisée seule. Elle est vivement conseillée en association avec un traitement (30).

Les premiers traitements étaient composés d'insecticides ayant pour cible le système nerveux des poux (32). Des molécules telles que le dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT), le lindane, le malathion et la perméthrine ont montré une efficacité certaine (19). Cependant, des résistances à ces produits ont émergé chez le pou et des toxicités pour l'Homme et l'environnement ont été démontrées (31,32).

Actuellement, les traitements à base de produits huileux, comme le diméticone, l'oxyphthrine, l'huile de paraffine, *etc.*, avec une action asphyxiante sont privilégiés (33). Ces substances agissent en bouchant les orifices respiratoires des poux et des lentes (34).

Enfin, des produits à base d'huiles essentielles et végétales peuvent être également trouvés sur le marché. Ils ont des propriétés anti-infectieuses, cicatrisantes et apaisantes. Ces thérapies dites naturelles ne contiennent pas d'insecticides (35).

Pour assurer une efficacité maximale des traitements, et afin de rompre le cycle de vie du pou, deux à trois applications à une semaine d'intervalle sont nécessaires quelle que soit la forme galénique utilisée (34).

Les « remèdes de grands-mères » comme l'utilisation d'une coloration pour les cheveux, de la laque, du vinaigre blanc, du miel ou bien encore de la mayonnaise ne fonctionnent pas (36).

Une thérapeutique par voie orale à base d'ivermectine a été testée pour lutter contre la pédiculose du cuir chevelu. Une dose de 200 µg/Kg, répétée 10 jours après, serait efficace contre les poux de tête (37) ou bien une dose de 400 µg/Kg répétée 7 jours après (38). Un second traitement par voie orale est également retrouvé dans la littérature, avec la molécule cotrimoxazole (39,40).

Toutefois, ces deux molécules n'ont pas d'autorisation de mise sur le marché (AMM) pour cette indication en France. Le recours à ces thérapeutiques est uniquement justifié lors d'infestation sévère où les traitements topiques n'ont pas été efficaces (28).

Afin d'éviter les ré-infestations, des mesures simples concernant le milieu de vie (nettoyage de la literie, des objets capillaires, *etc.*) doivent être systématiquement appliquées en complément des traitements topiques utilisés directement sur le cuir chevelu (34).

Dans le cas d'une infestation massive, des produits pour traiter l'environnement sont parfois nécessaires.

B. PÉDICULOSE DU CORPS

1. ÉPIDÉMIOLOGIE

À l'inverse de la pédiculose du cuir chevelu, la pédiculose du corps est moins connue du grand public, car plus rare (24).

Cette pédiculose est associée à une hygiène de vie précaire, non-saine ou bien négligée. Les personnes concernées par ce parasitisme sont les sans-abris, les personnes ayant des difficultés à accéder à une structure pouvant assurer une hygiène quotidienne pour eux-mêmes et leurs affaires personnelles (30).

La transmission des poux de corps se fait par contact direct avec des personnes infestées (41). Historiquement, la guerre des tranchées a été un haut lieu de transmission de cette pédiculose (16).

Pour rappel, les poux de corps sont plus résistants que les poux de tête face aux conditions climatiques défavorables. Ils peuvent également survivre loin de leur hôte plus longtemps. De ce fait, la transmission indirecte peut également se faire par contact prolongée avec des tissus infestés (16).

Par contraste avec les poux de tête, les poux de corps peuvent être vecteur de bactéries pathogènes (30) :

- *Bartonella quintana*, responsable de la fièvre des tranchées¹
- *Borrelia recurrentis*, responsable de la fièvre récurrente à poux²
- *Rickettsia prowazekii*, responsable du typhus exanthématique³.

2. DIAGNOSTIC & SYMPTÔMES

Le diagnostic se fait par la visualisation de lentes au niveau de la face interne des vêtements, très souvent dans les coutures, à des endroits associés à des zones chaudes du corps (43).

De même que pour la pédiculose du cuir chevelu, le prurit est le symptôme prédominant. Des lésions peuvent également être retrouvées avec de l'eczéma ou des papules similaires à de l'urticaire (30). Lors d'infestations chroniques et généralisées, la peau peut être plus épaisse et hyper-pigmentée (43). Des surinfections peuvent aussi apparaître à cause des lésions de grattage (44).

3. TRAITEMENTS

Actuellement, le traitement d'une pédiculose du corps consiste en des règles hygiéniques. Les vêtements et la literie doivent être lavés à au moins 60 °C (32). Le pou de corps ne vivant pas sur l'Homme, un traitement médicamenteux est normalement non nécessaire (45).

¹ Fièvre élevée, céphalées, vertiges, douleurs caractéristiques au niveau des tibias. (42)

² Fièvre élevée d'apparition brutale, douleurs et fatigue avec des récurrences moins sévères. (42)

³ Potentiellement mortelle avec fièvre, éruptions cutanées et de multiples symptômes. (42)

IV. ÉLEVAGE DE POUX EN LABORATOIRE

Pour rappel, le parasitisme réalisé par les poux est cosmopolite. De plus, leur adaptation et résistance émergentes face aux thérapies actuelles obligent à perpétuellement rechercher de nouveaux traitements agissant à la fois sur l'imago et la lente.

Les poux de tête survivant peu de temps hors de la tête de leur hôte, il est plus facile de tester l'efficacité de ces produits sur des poux d'élevage. Pour nos deux variétés étudiées, l'Homme est le seul hôte possible. Malheureusement, un élevage de poux de tête, *in vitro*, n'a pas jusqu'alors été couronné de succès. Toutefois, en 1945, un chercheur américain nommé G. H. CULPEPPER a réussi à maintenir en vie, sur plusieurs générations, des poux de corps se nourrissant sur un lapin (46).

À ce jour, 4 laboratoires ayant un élevage de poux sont recensés dans le monde, dont un seul en France :

- Buenos Aires, Argentine : Université Nationale du Général San Martin ;
- Berlin, Allemagne : Agence Fédérale de l'Environnement (*Umweltbundesamt*) ;
- Jérusalem, Israël : Unité de Parasitologie de l'Université Hébraïque ;
- Tours, France : UMR Université de Tours-INRAE 1282 ISP / Équipe BioMédicaments Anti-Parasitaires (BioMAP).

Les résultats découverts sur les poux de corps peuvent s'appliquer sur les poux de tête. En effet, si un produit peut éliminer les poux de corps, connus pour être les moins fragiles des deux en termes de survie, alors son efficacité peut être transposée sur les poux de tête, sauf s'ils ont développé une résistance à la suite d'un contact répété avec une molécule donnée. Les deux variétés ayant le même génome, il y a une grande probabilité que les cibles soient identiques.

Des tests sont également réalisés par l'équipe BioMAP sur des poux de tête, à partir de spécimens récoltés sur les enfants infestés grâce à des partenariats avec des écoles (47). Seulement, les poux de tête mis à disposition ne survivront pas plus de 48 heures.

Dans le laboratoire de l'université de Tours, les poux sont contenus dans des pots en verre avec des morceaux de tissus de couleur bleu afin qu'ils puissent se mouvoir et également pondre leurs œufs.

Les stades des poux sont différenciés et classés séparément. Autrement dit, toutes les larves 1 sont ensemble, de même pour les larves 2 et 3 et enfin les adultes. Pour ce faire, les œufs sont retirés régulièrement du pot des adultes et mis dans un autre contenant. Ainsi, les lentes pondues sur un intervalle de 2 à 3 jours, évolueront toutes ensemble.

À la différence de leur écosystème naturel, les poux d'élevage sont nourris une seule fois par jour, 4 jours sur 7, directement sur le lapin. Entretemps, placés dans leurs pots, les poux sont mis dans une étuve à 30 – 31 °C à 50 – 70 % d'humidité relative. Afin de ne pas les faire mourir de faim, lorsqu'un repas sanguin n'est pas prévu le lendemain, les poux sont placés dans une seconde étuve à 24 °C, avec le même taux d'humidité. Ainsi, l'activité du pou est réduite et par conséquent moins d'énergie est consommée. Cette technique permet de les faire patienter jusqu'au prochain repas.

Le protocole utilisé pour le nourrissage des poux se fait actuellement de la manière suivante pour chaque stade parasitaire :

1. Maintien du lapin en position de décubitus dorsal, dans un demi-cylindre, attaché par les pattes avec du tissu ;
2. Exposition de la peau du lapin après tonte des poils ;
3. Dépôt des poux (de même stade) sur le lapin (Figure 5) ;
4. Aspiration du sang par les poux ;
5. Retrait des poux du ventre du lapin ;
6. Dépôt des poux dans des pots propres avec de nouveaux morceaux de tissus.

Au total, jusqu'à deux heures sont nécessaires pour réaliser cette tâche en fonction du nombre de poux dans l'élevage.



Figure 5 : Nourrissage de poux de corps sur lapin (© CAO).

Cette méthode est contraignante, longue et peut poser des questions éthiques. C'est pourquoi une méthode permettant de nourrir cet élevage de poux avec du sang de lapin, mais sans la présence d'un lapin a été recherchée.

Pour répondre à cette problématique aux multiples aspects, trouver un dispositif ne nécessitant pas la présence de l'Homme en continu et permettant un nourrissage quasi-permanent (à la volonté et au besoin des poux) serait un gain de temps considérable.

La mise en place d'un tel système serait bénéfique pour le maintien d'un potentiel élevage de poux de tête. En effet, une fois le procédé effectif, il pourrait suffire de remplacer le sang de lapin par du sang humain.

V. EXPÉRIENCES

Le chercheur G.H. CULPEPPER a permis une grande avancée dans la recherche des insecticides contre les poux grâce à son application permettant de maintenir en vie un élevage à l'aide d'un lapin vivant. Toutefois, ce système, bien qu'efficace, a montré ses propres limites (besoin de personnel compétent, inconfort probable de l'animal sur un temps long).

Afin de trouver un système plus fonctionnel, différents essais de nourrissage des poux ont été réalisés *in vitro*.

A. PRÉPARATION

Pour ces manipulations, les poux de corps adultes provenant de l'élevage du laboratoire de Tours ont été utilisés. Le sang de lapin provient du laboratoire Charles River Laboratories (Saint-Germain-Nuelles). Il est prélevé dans des tubes contenant un anticoagulant, l'EDTA⁴. En raison d'un coût de transport élevé, un volume de 10 à 15 mL de sang est commandé et distribué dans des tubes Eppendorf de 1,5 mL en conditions stériles dès sa réception pour être utilisés sur plusieurs jours.

Dans le but de se rapprocher au plus près des conditions physiologiques de nourrissage des poux de corps, l'élimination de l'anticoagulant était souhaitée.

Pour ce faire, le sang de lapin est lavé à l'aide d'un tampon PBS⁵, selon le protocole suivant :

1. Prendre un tube Eppendorf contenant 700 μ L de sang ;
2. Ajouter 700 μ L de PBS ;
3. Mélanger par retournement à la main ;
4. Centrifuger 1 min à 4 000 g ;
5. Retirer le surnageant ;
6. Renouveler les étapes 2 à 5.

⁴ EthylèneDiamineTétraAcétique

⁵ Phosphate Buffer Saline

B. ESSAIS DE NOURRISSAGE

Plusieurs séries d'essais ont été réalisées. Lors de ce travail, beaucoup de questions se sont posées, des avancées et des retours en arrière ont été effectués. Afin de permettre une compréhension plus simple, le choix de les regrouper par catégorie a été fait.

Deux types d'expériences se distinguent : celles avec une mise en contact direct des poux avec le sang et celles où le sang est séparé des poux par une barrière physique.

Tous les tests suivants sont systématiquement faits sur le bloc chauffant à 36 °C ; température assez proche de celle de la surface du corps du lapin mais pas trop élevée pour éviter que le sang sèche complètement.

1. TESTS EN CONTACT DIRECT AVEC DU SANG

a. TEST AVEC DES GOUTTES DE SANG

Le premier test est simple. Il consiste à mettre en contact les poux directement avec le sang. Pour cela, le sang est disposé en gouttelettes à l'intérieur d'une boîte de Pétri ouverte. Une fois placés dans l'enceinte de la boîte, les poux peuvent se déplacer sans restriction. Avec la chaleur fournie par le bloc chauffant, la surface de la goutte de sang sèche ; créant une fine pellicule à travers laquelle les poux peuvent piquer (Figure 6).

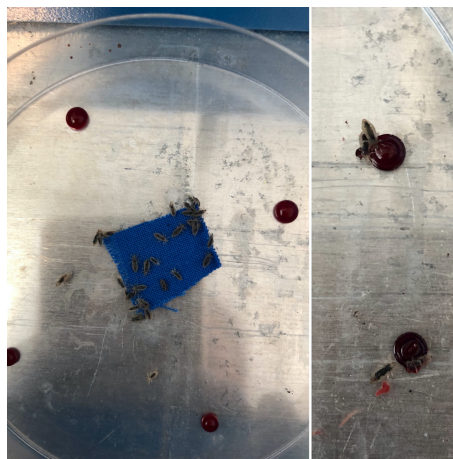


Figure 6 : Essai de nourrissage de poux dans une boîte de Pétri avec du sang en gouttelettes. La formation d'une pellicule est visible sur la photo de droite (© CAO).

Avec cette technique, la pellicule formée en surface des gouttes de sang n'est pas suffisamment solide et le sang s'écoule lorsque les poux piquent. Ils finissent par s'engluer dans le sang.

b. TESTS SUR UNE GÉLOSE

Pour le test suivant (Tableau II), un support est ajouté pour éviter que le sang s'écoule : de la gélose. De plus, les poux et le sang ne sont plus en contact aussi rapprochés avec la source de chaleur et le sang se fige moins vite.

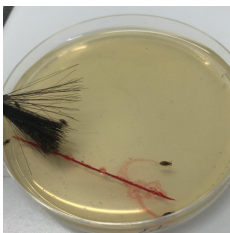
TEST GÉLOSE	N°1	N°2
CONTENANT	Boîte de Pétri	Boîte de Pétri
SUPPORT DU SANG	Gélose LB agar	Gélose agar
DEPOT DU SANG	À l'intérieur d'un sillon	Étalé sur la gélose
PHOTO DE L'ESSAI DE NOURRISSAGE		

Tableau II : Tests sur gélose (© CAO).

Pour le test n°1, une gélose LB agar (35 g/L H₂O, Sigma) contenue dans une boîte de Pétri est employée. Un sillon moyennement profond est tracé dans la gélose. Le sang est inséré à l'aide d'une micropipette à l'intérieur du sillon et les poux sont ensuite déposés sur la gélose. Avec cette disposition, les poux ne semblent pas se placer de façon à se nourrir dans le sillon, mais plutôt sur des gouttes étalées ayant débordé du sillon. Afin de prendre en compte cette constatation, le sang est étalé sur une gélose d'agar seul (20 g/L H₂O, Fluka) en raison de son coût plus faible (test n°2).

Toutefois, le sang sèche encore trop rapidement et les poux ne parviennent pas à se nourrir.

c. TESTS AVEC SUPPORTS

Afin que le sang sèche moins vite, différentes matières en sont imprégnées : de la mousse polyuréthane (MATinter®), du coton hydrophile (Stérilux®), une compresse non tissée à usage médical (Nessicare) ou un morceau d'éponge de ménage rincée à l'eau au préalable. Enfin, les poux sont placés dans la boîte (exemple du coton en Figure 7).

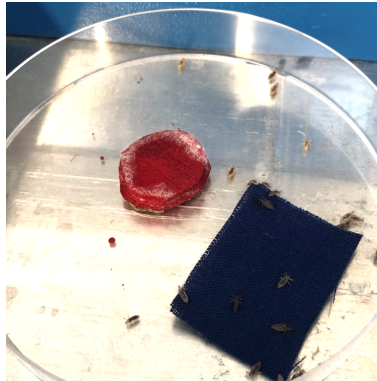


Figure 7 : Essai de nourrissage de poux sur du coton hydrophile imbibé de sang, disposé dans une boîte de Pétri (© CAO).

L'utilisation de la boîte de Pétri permet une manipulation aisée. Cependant, le fait que les différents supports soient juste placés sur le même plan que les poux, donne une configuration très éloignée des conditions physiologiques.

Quel que soit le support utilisé lors des expériences en boîte de Pétri, les poux peuvent déambuler sur toute la surface et essaient de fuir au lieu de se nourrir. Dans les tests suivants, d'autres contenants sont choisis pour essayer de restreindre le périmètre des poux.

Dans un premier temps, la boîte de Pétri est remplacée par une plaque de 24 puits pour culture cellulaire (Figure 8A). Dans un des puits de la plaque, un morceau de mousse rincée à l'eau est déposé et du sang y est ajouté. Enfin, des poux sont disposés sur la mousse (Figure 8B).

Les poux sont collés et entravés par le sang, car ils ont tendance à aller vers le fond du puits où le sang n'est pas dans la mousse.

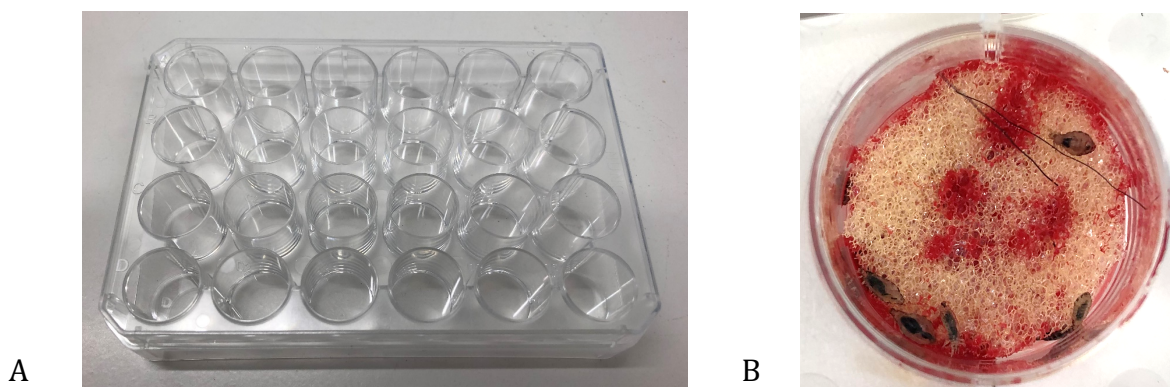


Figure 8 : (A) Plaque 24 puits (Thermo Fisher Scientific®) (© CAO). (B) Essai de nourrissage de poux sur un morceau de mousse MATinter® dans un puits contenant du sang (© CAO).

Dans un second temps, afin de permettre une manipulation plus simple, un bouchon provenant d'un tube de 15 mL (Greiner) est utilisé. Un morceau de coton hydrophile est placé à l'intérieur du bouchon et le sang est déposé sur celui-ci afin d'en être imbibé. Enfin, les poux sont placés sur le morceau de coton (Figure 9).



Figure 9 : Essai de nourrissage de poux sur du coton hydrophile imbibé de sang dans un bouchon (© CAO).

La même problématique que le test précédent est retrouvée : plusieurs poux s'enfoncent dans le bouchon ne permettant pas une visualisation et un suivi corrects.

La conclusion de cette première partie est que, même lorsqu'il imbibe différents matériaux, les poux ne peuvent pas se nourrir de sang libre. L'installation d'une barrière entre les poux et le sang semble nécessaire pour mimer la peau.

2. TESTS EN CONTACT INDIRECT AVEC DU SANG : MISE EN PLACE D'UNE BARRIÈRE

Lors de cette partie, les tests décrits ont pour particularité de mettre en place une barrière entre le sang et les poux. Autrement dit, afin de prendre leur repas sanguin, les poux doivent percer à travers quelque chose pour accéder au sang, comme c'est le cas lorsqu'ils piquent la peau.

Dans la même idée que les premiers tests (c'est-à-dire où le sang est libre et non imbibé sur un support), le test suivant est réalisé de manière très simple.

Dans une boîte de Pétri, du sang est déposé et est recouvert par un morceau de gélatine à base de porc bio de la marque SOBO Naturkost (Figure 10).

Cette barrière n'est pas adaptée puisqu'une fois les poux déposés sur la gélatine, ils sont collés et leur déplacement n'est plus possible.



Figure 10 : Essai de nourrissage de poux avec du sang recouvert de gélatine (© CAO).

La mousse MATinter® est à nouveau testée dans un puits, recouverte d'un morceau de Parafilm™ M (Bemis™). Les poux sont placés sur ce dernier (Figure 11).



Figure 11 : Essai de nourrissage de poux sur de la mousse imbibée de sang, placée dans un puits d'une plaque de culture cellulaire avec du parafilm comme barrière (© CAO).

Le parafilm est placé à l'intérieur du puits pour être en contact avec l'éponge et il n'y a donc aucun scellement du puits. Pour cette raison, les poux ont réussi à passer sous cet obstacle par les côtés. La problématique n'est donc pas résolue avec cette méthode. Pour cela, il est nécessaire de complètement sceller l'accès au sang.

En lien avec ce qui a déjà été fait dans la première partie des expériences, les techniques utilisées sont reprises, mais cette fois-ci avec une barrière en plus (Tableau III).

TEST	N°1	N°2	N°3	N°4	N°5
CONTENANT	Bouchon tube 15 mL	Bouchon tube 15 mL	Bouchon tube 15 mL	Bouchon tube 15 mL	Bouchon tube 15 mL
SUPPORT DU SANG	Mousse MATinter®	Éponge de ménage	Éponge de ménage	Coton hydrophile	Coton hydrophile
BARRIERE	Parafilm™ M	Parafilm™ M	Cellophane	Parafilm™ M	Cellophane

Tableau III : Tests avec différents supports imbibés de sang et recouverts de Parafilm™ M ou de cellophane.

Pour le test n°1, la mousse est placée à l'intérieur du bouchon et le parafilm est étiré et placé de manière à recouvrir le bouchon. Les poux sont ensuite déposés sur le parafilm.

Pour le test n°2, un morceau d'éponge est utilisé. Le sang est ajouté et absorbé par le support puis le parafilm est appliqué de manière à recouvrir entièrement le bouchon.

Pour le test n°3, les mêmes conditions sont gardées, mais le matériel mimant la barrière est changé pour de la cellophane (Figure 12).



Figure 12 : Nourrissage de poux sur éponge imbibée de sang, contenu dans un bouchon et de la cellophane étirée en guise de barrière (© CAO).

Pour les tests n°4 et 5, le coton hydrophile est utilisé pour absorber le sang. Les manipulations sont identiques aux tests précédents, c'est-à-dire avec du parafilm ou de la cellophane.

Malheureusement, aucun de ces montages n'a permis aux poux de se nourrir correctement. Lorsque de petits trous sont percés dans le parafilm ou la cellophane, aucune amélioration dans la prise du repas n'est observée.

Dans une dernière série de tests sur le même modèle, un bouchon d'une hauteur plus petite est utilisé et la barrière employée est du boyau de porc fourni par une charcuterie artisanale (Tableau IV). Ce boyau est un produit naturel qui peut être assimiler à une peau. La différence entre les tests n°1 et n°2 est respectivement la présence d'un support ou non pour le sang. Le support utilisé étant une compresse.

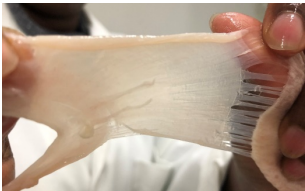



TEST BOYAU DE PORC	N°1	N°2
CONTENANT	Bouchon	Bouchon
SUPPORT DU SANG	Compresse	–
BARRIERE	Boyau 	Boyau 
PHOTO DE L'ESSAI DE NOURRISSAGE		

Tableau IV : Test avec du boyau de porc comme barrière (© CAO).

La difficulté lors de cette manipulation est qu'il faut réussir à étirer le boyau de manière suffisante pour qu'il ne soit pas trop épais. La mobilité des poux n'est pas entravée, mais réduite sur le boyau. Le nourrissage de poux n'est pas optimal avec cette barrière et la bonne conservation du boyau peut être mise en question.

Afin d'améliorer la technique avec la barrière, la plaque de culture cellulaire est à nouveau utilisée avec trois barrières différentes (Tableau V) :

- Du parafilm étiré et scellant complètement les puits ;
- Une membrane Strat-M® (Transdermal Diffusion test Model, 25 mm, Merck Millipore Ltd) ;
- Le dispositif d'épiderme humain Episkin™ Large Model (1,07 cm², Episkin) constitué d'une matrice de collagène de type I représentant le derme, recouverte d'un film de collagène de type IV, recouvert d'un épiderme stratifié dérivé de kératinocytes.

Le sang se trouve directement dans le puits et aucun support imbibant n'a été utilisé. Pour le parafilm étiré et la membrane, le sang affleure la surface du puits de façon à être en contact avec la barrière et faciliter la prise de repas par les poux. Pour prévenir la chute des poux dans les puits attenants, ils sont recouverts d'adhésif. Afin de garder les poux concentrés dans la zone avec le sang, un ramequin a été placé à l'envers pour limiter leur périmètre de déplacement.

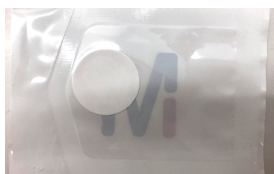

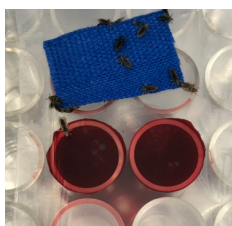
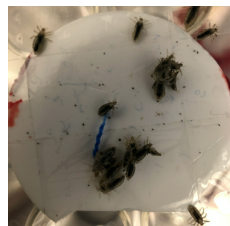
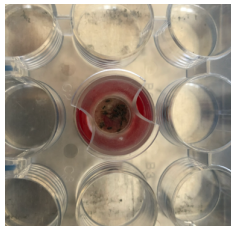
TEST BARRIÈRE	N°1	N°2	N°3
CONTENANT	Puits pour culture cellulaire	Puits pour culture cellulaire	Puits pour culture cellulaire
BARRIÈRE	Parafilm™ M étiré	Strat-M® Membrane 	Episkin™ Large model 
PHOTO DE L'ESSAI DE NOURRISSAGE			

Tableau V : Tests avec différentes barrières sur le sang contenu dans une plaque de culture cellulaire (© CAO).

Avec la méthode du test n°1, il y a un risque que le parafilm se perce et laisse le sang remonter à la surface ; cette éventualité s'est avérée exacte.

Pour le test n°2, la membrane synthétique utilisée pour reproduire les différentes couches de la peau semble trop épaisse. Une remontée de sang à la surface de la membrane par capillarité était attendue, mais elle n'a pas eu lieu.

Pour le test n°3, le dispositif Episkin™ reproduisant un épiderme humain a été introduit dans le puits. La quantité de sang est suffisante pour permettre le contact avec la membrane sans l'immerger totalement. Les poux sont placés à l'intérieur de l'Episkin™.

L'avantage de cette méthode contrairement aux deux premières est qu'une moindre quantité de sang est utilisée. Il n'y a également aucun risque pour que le sang entre en contact avec les poux.

3. SUIVI DES POUX

Le suivi des poux lors des expériences s'est réalisé de manière quantitative. En effet, le nombre de poux nourris ou non nourris a été dénombrés ainsi que le nombre de poux morts d'un jour à l'autre (Figure 13). Toutefois, les poux n'ayant pas été marqués de manière individuelle, il est impossible de savoir si un même pou a pris un repas à chaque fois, mais est mort par la suite ou bien s'il n'a pris aucun repas, mais a réussi à survivre le temps de l'expérience.

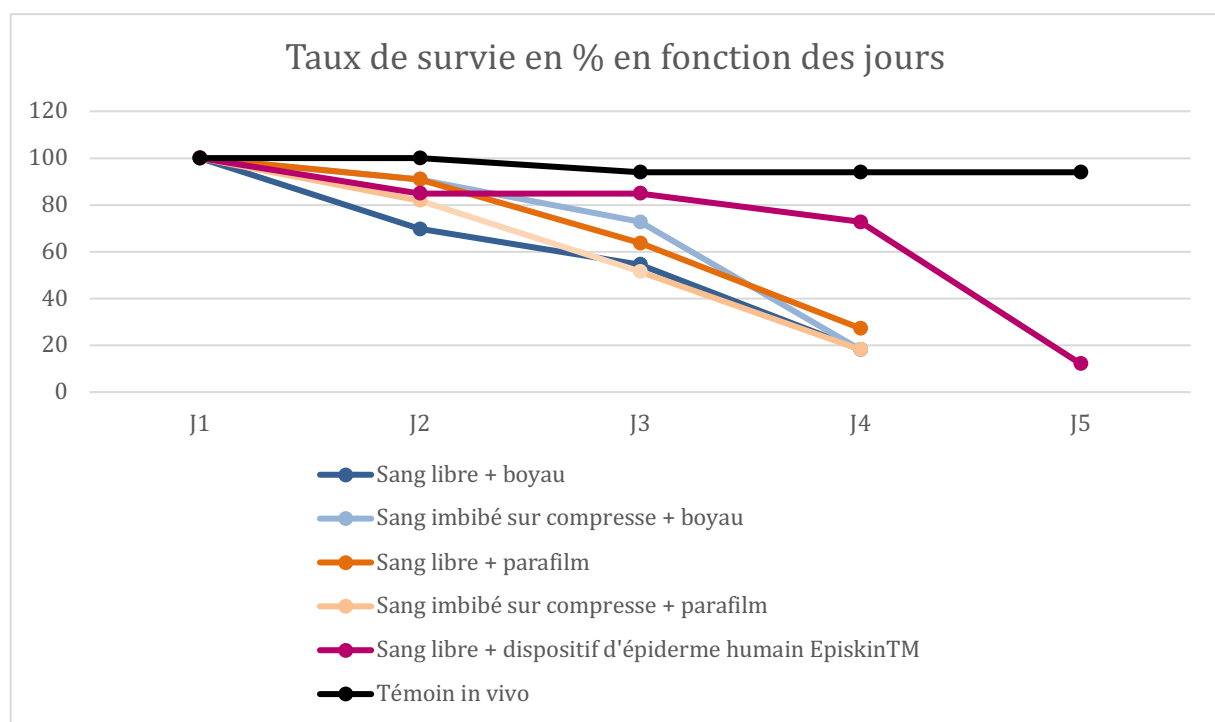


Figure 13 : Graphique du taux de survie des poux en fonction des jours. Réalisés lors des expériences avec du sang libre ou bien imbibé sur une compresse avec la présence de boyau, de parafilm ou du dispositif EpiskinTM comme barrière.

Lors des expériences, 33 poux adultes sont sélectionnés pour chaque test. Le témoin est constitué de poux nourris *in vivo* sur le lapin. Pour rappel, un pou adulte a une durée de vie moyenne de 30 à 40 jours. Ce graphique permet de se rendre compte de la rapide mortalité des poux nourris *in vitro*.

Le lavage du sang au PBS pourrait être une des raisons pour laquelle les poux ne le digèrent pas correctement. Cependant, des essais avec du sang non lavé (compresse imbibée en boîte de Pétri ou sang en puits recouverts de parafilm) n'ont pas conduit à un meilleur résultat.

VI. DISCUSSION

En 2003, un premier article de TAKANO-LEE *et al.* (48) décrit une méthode de nourrissage *in vitro* avec un dispositif essayant de reproduire les conditions physiologiques.

Partant du postulat que les poux de tête adultes ne pourraient pas se nourrir *in vitro* à moins d'avoir été entraînés depuis le début de leur vie, seuls les poux au premier stade ont été utilisés.

L'équipe américaine a mis en place un système composé de deux parties (Figure 14) :

- Une première partie contenant le sang humain. Ce dernier est contenu dans un tube de centrifugation de 15 mL tronqué en son milieu et seule la partie avec le bouchon est utilisée à l'envers. À l'intérieur, un barreau aimanté a été placé afin de mettre en mouvement 1 mL de sang contenant des antibiotiques (pénicilline et streptomycine).
- Une seconde partie contenant les poux de tête. Un embout de pipette de 5 mL a été coupé en deux ; au niveau de la coupure, une membrane composée de silicone et de parafilm a été placée et scellée. Dans ce compartiment, les poux sont placés avec une touffe de cheveux.

Les deux réservoirs s'encastrent et sont maintenus avec un fil en métal. Ce dispositif est entouré d'un tuyau dans lequel circule de l'eau tiède à l'aide d'une pompe afin de maintenir une température entre 36 et 39 °C. Le montage est changé toutes les 24 h.

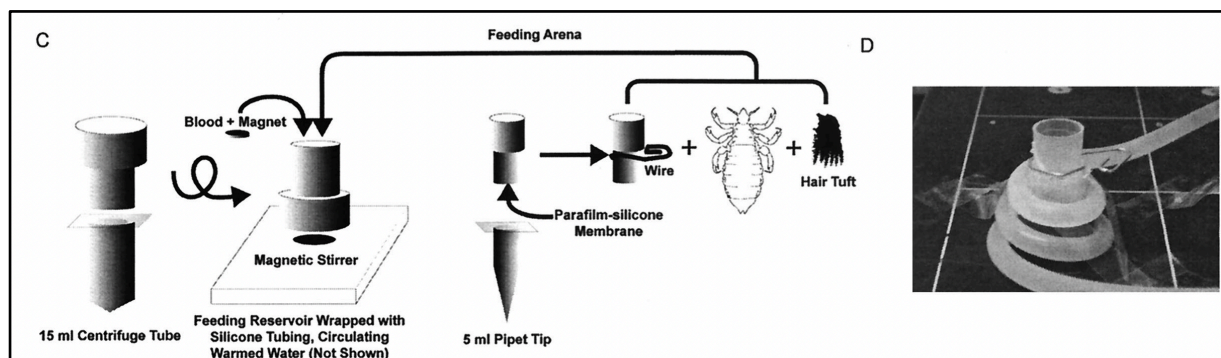


Figure 14 : Illustrations provenant de l'article de TAKANO-LEE *et al.* (48) (C) Système d'élevage *in vitro* des poux de tête (D) Photographie de l'aire d'alimentation des poux de tête.

Un second article a été publié dans la continuité du premier (49), dans lequel les chercheurs ont automatisé le montage par une combinaison de trois parties distinctes (Figure 15) :

- Le système de relargage des fluides. Ce dernier est composé d'un petit réfrigérateur (tempéré entre 2 et 4 °C) à l'intérieur duquel se trouve deux réservoirs : l'un pour le sang humain et l'autre pour le PBS (permettant de diluer le sang). Ces deux réservoirs sont connectés entre eux puis à la partie concernant le nourrissage *via* un tube en silicone. Les flux sont contrôlés par deux valves reliées à un minuteur.
- Le système d'alimentation. Celui-ci reçoit le sang dans une boîte grâce au tube de silicone. À l'intérieur, une plaque de plexiglas trouée est déposée. Les supports des poux, à savoir des embouts de pipette de 5 mL coupés en deux avec un morceau de membrane à base de silicone et de parafilm étiré placée sur la partie inférieure, sont mis dans les trous et immergés dans le sang. Un agitateur à hélice est plongé dans le sang afin qu'il soit toujours en mouvement. Le tout est placé sur une plaque chauffante entre 30 et 31 °C. Le système d'alimentation a été scellé dans une boîte en plexiglas afin de maintenir la température constante ainsi qu'une humidité relative de 60 à 75 %.
- Le système de drainage. Une pompe péristaltique permet d'enlever le sang usagé et le PBS à l'aide d'un minuteur. Les liquides ainsi drainés sont récoltés dans un récipient de 4 L.

Les différents composants formant le système d'alimentation sont changés tous les sept jours. Cela implique une période d'une heure environ où les insectes ne sont plus en contact avec du sang.

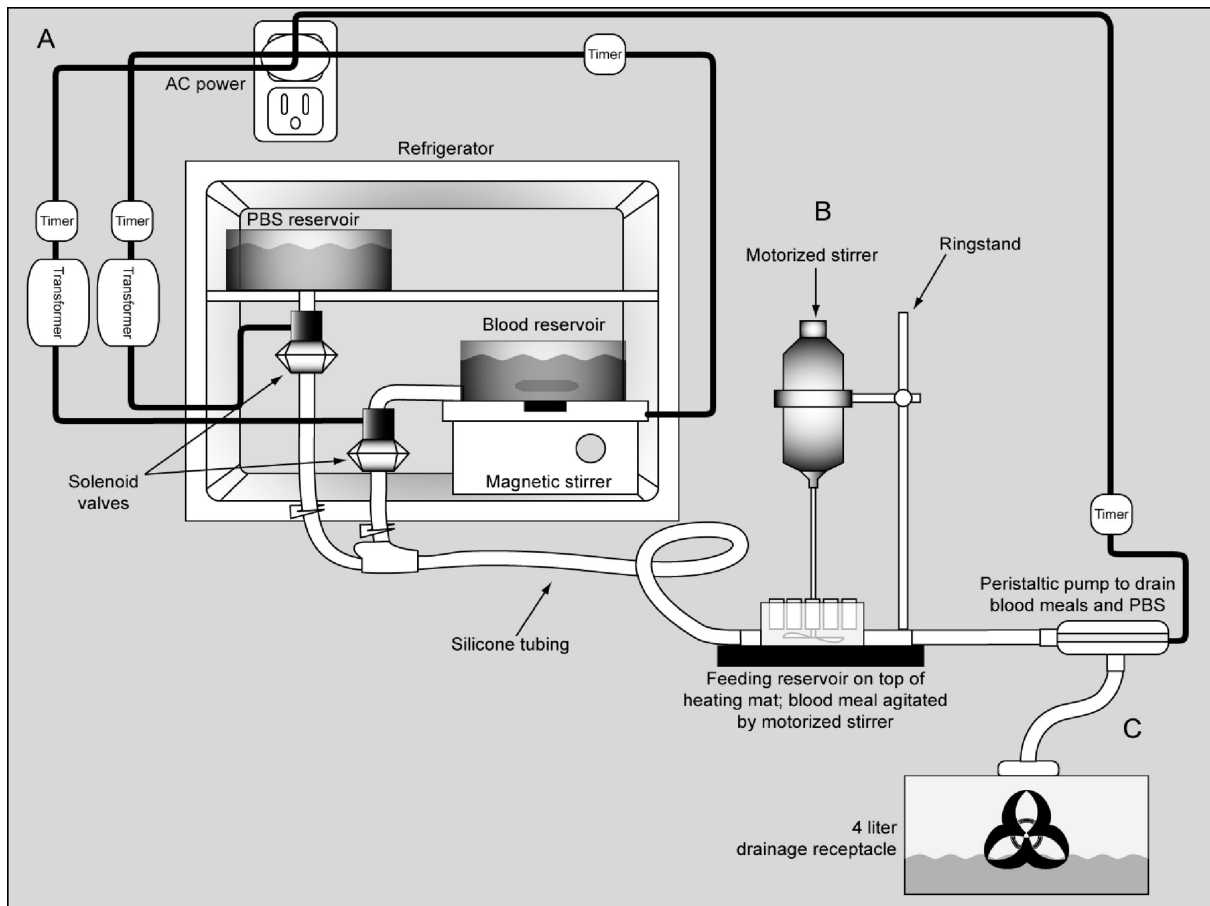


Figure 15 : Dessin schématique du système automatisé d'alimentation *in vitro* des poux de tête (49) : (A) système de libération des fluides, (B) système d'alimentation, (C) système de drainage.

Dans le premier article, les résultats indiquent que les poux mâles ou femelles vivent plus longtemps lorsqu'ils sont nourris *in vivo* (Figure 16).

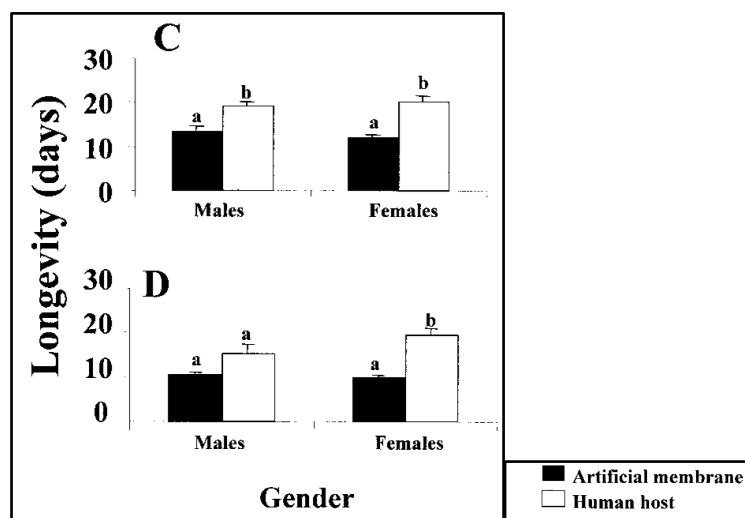


Figure 16 : Graphique exprimant la longévité des poux (en jours) en fonction de leur genre (mâle ou femelle) lors des expériences réalisées par TAKANO-LEE *et al.* (48).

Dans le second article, le pourcentage de poux de tête et de poux de corps ayant réussi à se nourrir après 24 h dans l'automate atteint respectivement $87,7 \pm 6,2 \%$ et $91,9 \pm 3,8 \%$ (49).

Le temps de développement des différents stades larvaires a également été observé dans les deux articles. Les poux nourris *in vivo* se développent 10 à 20 % plus vite que les poux nourris *in vitro* (48,49).

Il est admis qu'une fois les poux adaptés à être nourris avec du sang de lapin, ils ne peuvent plus se nourrir de sang humain de manière répétée et suffisante pour survivre (50). Cela est d'ailleurs une des raisons de la difficulté à maintenir des colonies de poux *in vitro*. Le passage du sang humain au sang de lapin n'a pas été réalisé de manière simple et rapide.

Or, lors de l'utilisation de l'automate par TAKANO-LEE *et al.* (49), des poux de corps ont été ajoutés à l'expérience en plus des poux de tête déjà utilisés lors de leurs premiers essais (48). Les poux de corps utilisés proviennent d'une colonie nourrie sur un lapin vivant. Dans l'article, aucune notion d'utilisation de sang de lapin n'est mentionnée, mais uniquement du sang humain fourni par une banque de sang locale. Afin de permettre une meilleure comparaison concernant la survie, l'utilisation de sang de lapin aurait été préférable.

Depuis, plusieurs autres essais de nourrissage *in vitro* ont été menés avec plus ou moins de succès.

En 2006, Yoon *et al.* proposent un montage amélioré de nourrissage *in vitro* du modèle manuel (51). Au lieu d'utiliser deux compartiments distincts pour le réservoir des poux et de sang, seul un demi-tube de centrifugation de 50 mL avec son bouchon est utilisé. La partie principale du tube est scellée avec le même type de barrière composée de silicone et de parafilm, du côté où le bouchon se visse. Dans le bouchon, un barreau aimanté est placé avec le sang. Les deux parties sont assemblées à l'envers. Le tout est placé sur un plateau avec de l'eau circulante, lui-même posé sur un agitateur magnétique (Figure 17).

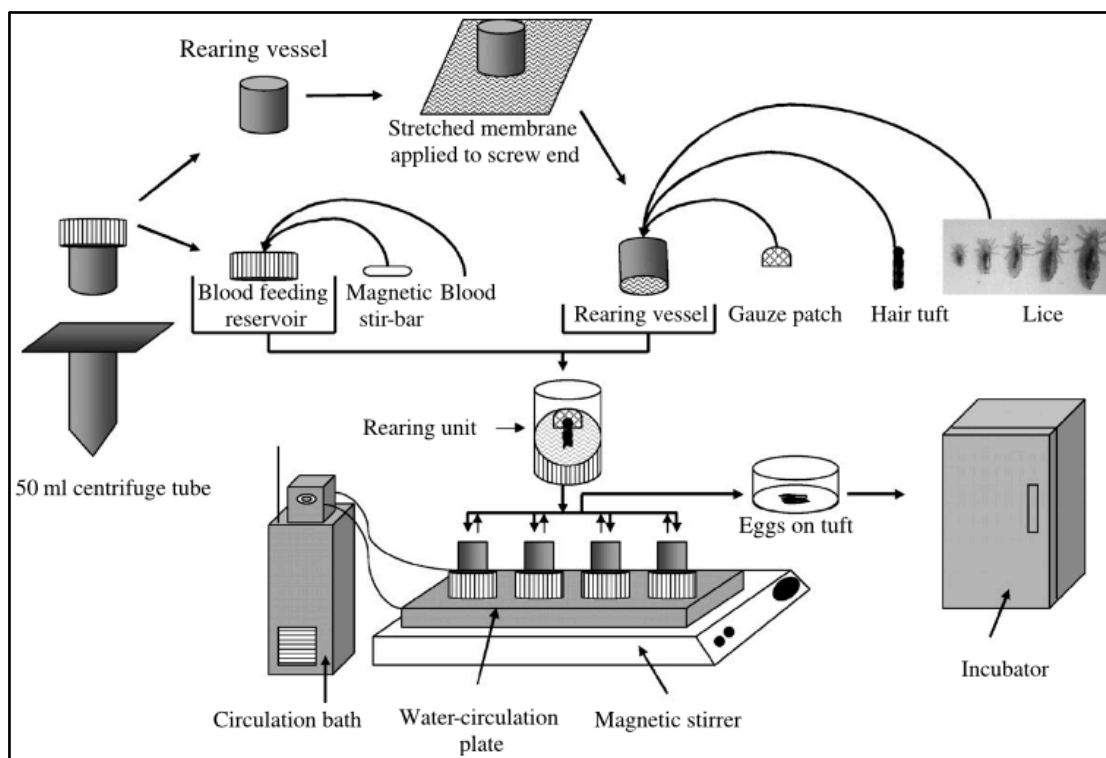


Figure 17 : Schéma du montage du système de nourrissage *in vitro* (51).

Le tube de centrifugation ayant une contenance plus grande que celui utilisé dans les travaux de TAKANO-LEE *et al.* (48,49), plus de poux peuvent être placés dans le réservoir.

Le tube enroulé avec l'eau circulante étant remplacé par un plateau contenant de l'eau, la manipulation est plus aisée. Avec les modifications apportées, le sang a pu être changé toutes les 72 h contre 12 – 24 h auparavant. Trois colonies de poux différentes ont été utilisées pour ces expériences. La différence de longévité entre elles n'est pas significative, avec une moyenne de 10 jours pour les poux mâles et de 8 jours pour les poux femelles.

En 2011, MUMCUOGLU *et al.* (50) utilisent une chambre en verre contenant 2 mL de sang et chauffée à 37 °C par une circulation externe d'eau. Les poux sont placés sur une membrane constituée de parafilm étiré recouvert de gaze pour éviter son percement par les griffes des poux. Par cette méthode, entre 34 et 92 % de poux prennent un repas complet mais leur longévité n'atteint pas 6 jours.

En 2020, PIETRI et RAY décrivent l'utilisation d'un protocole de nourrissage *in vitro* de poux de corps avec le système de membrane de nourrissage Hemotek® (52). À noter que ce dispositif est onéreux (à partir de 2300 €⁶).

Dans ce montage, le sang se trouve dans un réservoir métallique de 2 mL placé sur une unité d'alimentation au-dessus d'un support de tube conique en plastique chauffé à une température de 37 °C. Du parafilm recouvre le sang (Figure 18, A et B). Une coupelle de pesée en plastique jetable avec un trou découpé en son centre est placée par-dessus le réservoir afin de créer une barrière : les poux ne peuvent pas se déplacer hors de la surface comportant le sang. De l'adhésif est placé sur le pourtour du trou pour recouvrir le bord tranchant (Figure 18C).

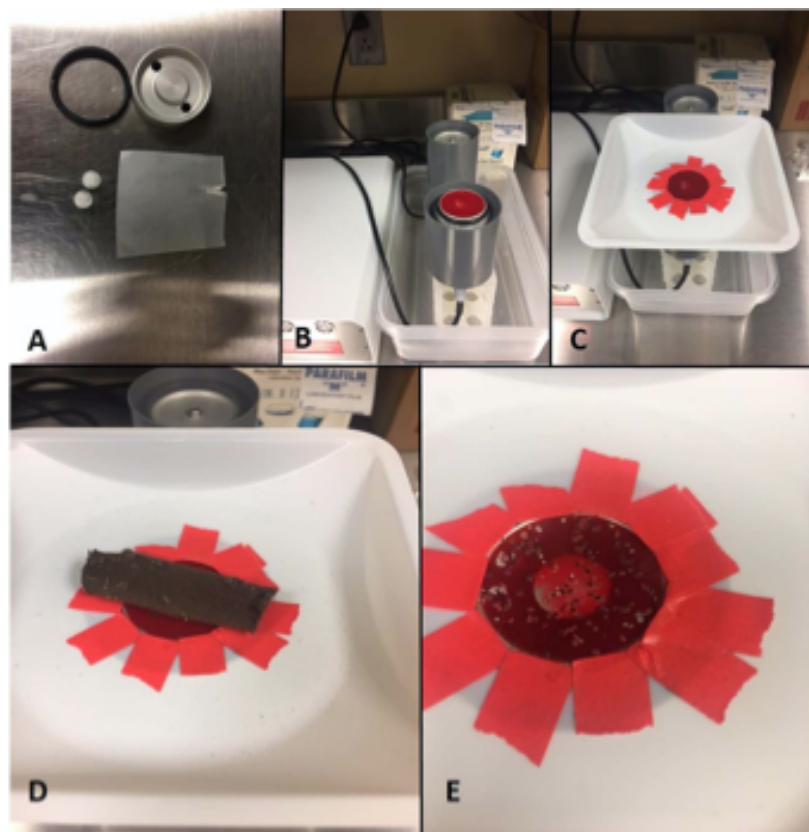


Figure 18 : Système de nourrissage utilisant le système de membrane de nourrissage Hemotek® (52) : (A) Réservoir et bouchons métalliques, joint en caoutchouc, Parafilm™ M, (B) Réservoir rempli de sang placé sur l'unité d'alimentation, (C) Ajout d'une coupelle de pesée en plastique, (D) Placement des poux sur le système de nourrissage à l'aide d'un support, (E) Nourrissage des poux de corps.

⁶ <http://hemotek.co.uk/price-list-2018/>

Lors de cette expérience, les parasites introduits sont des larves nouvellement nées. Elles sont nourries pendant 30 minutes, 5 jours sur 7. Le réservoir de sang est changé chaque semaine.

Avec ce montage et sur une période de 11 jours, 90 % des poux se nourrissent chaque jour et la survie des poux est de 100 %. Après 12 jours, la mortalité commence à apparaître et augmente avec le temps, d'autant plus lorsque les larves deviennent adultes. Les tests ont été menés sur une période de 30 jours, à la fin, 37 % de la population de poux de départ est encore en vie.

Pour rappel, l'objectif de cette thèse est de trouver un système de nourrissage efficace pour des poux de corps. Un succès se traduit par la présence de poux gorgés après la prise d'un repas sanguin. Un second paramètre de succès est la survie du pou après son repas.

Le travail achevé, englobant de multiples séries de tests réalisés avec divers matériaux, techniques et stratégies, n'a pas montré de succès probant. En effet, il y a eu des résultats prometteurs avec des poux nourris, mais trop rarement gorgés pour appeler cela un succès total. Lors de la mise en pratique, certains tests ont donné des résultats négatifs, mais en changeant une variable, ces tests montrent des formes plus encourageantes.

A. ÉVALUATION DES TESTS EN CONTACT DIRECT AVEC DU SANG

Tout d'abord, il a été mis en évidence que la mise en place d'un système permettant de mimer les conditions réelles de nourrissage est primordiale. La simple mise en contact des poux avec du sang ne permet pas de reconstituer le phénomène de nourrissage physiologique. En effet, le premier test effectué (avec les gouttelettes de sang) dans cette optique n'a pas fonctionné. La taille des gouttelettes en est la cause principale. En effet, si elles sont trop petites, le sang sèche trop vite avec la chaleur ; si elles sont trop grandes, une pellicule est bien créée, mais une fois percée, le sang contenu s'écoule et les poux pataugent dedans.

Lorsque les gouttelettes sont de tailles permettant d'éviter ces deux problèmes, il faudrait que le pou prenne son repas dans l'immédiat. Dans le cas contraire, la chaleur fait son œuvre et la première problématique est à nouveau d'actualité.

Or, le pou déambule énormément et ne prend pas son repas dans le temps imparti pour éviter un assèchement. Ce test n'est donc pas réalisable sur du long terme et en autonomie.

Lors des tests à base de gélose, que ce soit avec le sillon rempli de sang ou bien l'étalement du sang, aucun n'a montré un résultat positif. Les conditions physiologiques ne sont pas mimées de manière artificielle avec ces deux essais. De plus, l'entretien et la manipulation avec l'intervention de l'Homme sont également bien trop importants pour permettre une utilisation autonome à long terme.

Afin que le sang ne soit plus sous forme liquide, différents matériaux ont été utilisés pour en être imbibé. La mousse MATinter® n'est pas assez absorbante et nécessite une grande quantité de sang. Le coton hydrophile, la compresse et l'éponge ménagère semblent mieux correspondre pour l'absorption du sang et n'entraînent aucune restriction au niveau de la mobilité des poux.

Cette étape dans la réalisation des expériences n'est pas retrouvée dans les travaux de la littérature (45-48). En effet, dans les dispositifs décrits dans les articles, le sang est toujours libre. Il n'est pas absorbé par un quelconque matériel. À l'inverse, un système permettant la mobilisation du sang est toujours présent dans leur montage alors que dans les tests décrits ici, ce n'est pas le cas.

B. ÉVALUATION DES CONTENANTS

L'utilisation de la plaque de puits et des bouchons présente un inconvénient commun : la hauteur.

Dans le cas du bouchon, il s'agit plus d'une limite pour l'utilisation à long terme. À force de déambuler dans un espace relativement restreint, les poux tombent de la hauteur du bouchon et ne peuvent donc pas remonter. L'intervention perpétuelle de l'Homme est nécessaire pour permettre aux poux de continuer à se nourrir.

Dans le cas de la plaque de puits, les poux ont plus de surface pour déambuler, mais peuvent également tomber aux extrémités de la plaque. Afin de contrer cette finalité, un ramequin a été placé sur les puits afin d'éviter que les poux se déplacent trop loin et tombent.

Toutefois, il est arrivé une fois que les poux sécrètent un liquide clair en grande quantité après avoir peut-être été enfermé « sous cloche » trop longtemps. La nécessité de les contenir reste entière, mais le choix doit se porter sur un matériel permettant une respiration plus aisée.

Ce problème n'est pas rencontré lors des expériences de TAKANO-LEE *et al.* (48) . En effet, les poux sont placés dans un contenant dont la surface inférieure est en contact avec le sang. Alors que dans le cas des travaux effectués lors de cette thèse, les poux sont mis en contact avec le sang, mais c'est au niveau de la partie supérieure du contenant.

Dans une boîte de Pétri, le sang se retrouve au plus près de la chaleur fournie par le bloc chauffant. Cela entraîne un assèchement très rapide du sang et demande une nouvelle fois l'intervention de l'Homme pour réinjecter du sang frais sur le coton hydrophile, la compresse ou bien l'éponge ménagère.

Dans les différents essais avec des contenants de formes différentes, une mobilisation des poux a toujours été possible. Cette variable n'est pas retrouvée dans les travaux de la littérature (45-48). En effet, à chaque fois, les poux sont enfermés et ne peuvent pas se déplacer à leur guise. L'omission d'un tel espace rend la projection à long terme difficile. En effet, une fois la survie des poux assurée, il faut leur permettre de vivre et de se reproduire correctement. Un espace plus grand semble donc être une variable non négligeable.

C. ÉVALUATION DES BARRIÈRES

Lorsqu'un pou pique à travers la peau pour se nourrir, plusieurs couches sont traversées. Ce phénomène est mimé avec l'ajout d'une barrière. Ainsi, les conditions physiologiques sont plus respectées. De plus, l'utilisation d'une barrière évite la mise en contact directe des poux avec du sang.

Cette situation est également retrouvée dans les travaux de TAKANO-LEE *et al.* (48,49). En effet, lorsque leur membrane à base de parafilm et de silicone n'est pas scellée de manière hermétique, le sang fuit et recouvre les poux.

Dans les montages décrits dans les articles de TAKANO-LEE *et al.* (48,49), un seul type de barrière a été mis en place à base de silicone et de parafilm. À l'inverse, plusieurs matériaux ont été testés lors des expériences décrites ici : gélatine, parafilm, cellophane, boyau de porc, membrane Strat-M®, et épiderme reconstitué Episkin™.

Les poux ne peuvent pas se déplacer sur la gélatine.

Le boyau de porc semble prometteur, mais comme cette barrière est constituée à partir du vivant, une colonisation bactérienne est plausible. L'utilisation d'antibiotiques doit alors être envisagée. À noter que lors des expériences décrites dans la littérature (48,49), des antibiotiques ont été ajoutés au sang. Cela n'a pas semblé être une gêne supplémentaire à la prise alimentaire des poux ainsi qu'à leur survie.

Le parafilm et la cellophane ont montré des résultats mitigés. En effet, certains poux ont réussi à se nourrir, mais rarement gorgés. De ce fait, lors de certaines expériences, des trous ont été percés. Ce choix a été conforté dans l'idée de permettre au pou de sentir l'odeur du sang de manière plus intense et ainsi les inciter davantage à prendre un repas. Cette manipulation supplémentaire a sa limite : les poux s'enfoncent par les trous, malgré un faible diamètre, rendant l'utilisation de la barrière obsolète.

De plus, lors de l'application de la barrière, il faut veiller à ce que le sang ou le support imbibé de sang soit suffisamment en contact avec la surface de celle-ci pour permettre aux poux de prendre leur repas.

Ce dernier phénomène n'est pas une problématique soulevée dans les travaux de TAKANO-LEE *et al.* (48,49), car dans leur assemblage, la membrane est plongée dans le sang. La mise en contact entre les deux se fait donc parfaitement bien et facilement. Une situation similaire est retrouvée avec le test utilisant le dispositif Episkin™. C'est la méthode qui a montré les résultats les plus encourageants. Cependant, le diamètre reste relativement restreint. Une utilisation à long terme semble compliquée, d'autant plus que ce dispositif est assez coûteux (60 euros pièce).

D. QUESTIONNEMENT DU LAVAGE DU SANG

Les expériences mettant en opposition le sang lavé avec le PBS et le sang non lavé n'ont pas montré de résultats significativement différents. De ce fait, elles n'ont pas été poursuivies de manière plus approfondie. Toutefois, il serait intéressant de se pencher plus amplement sur la question, car cela pourrait éventuellement expliquer la mortalité des poux qui ont réussi à se nourrir même partiellement. En effet, dans l'article de MUMCUOGLU *et al.* (50), il est mentionné qu'une plus grande proportion de poux femelles se sont complètement gorgés avec du sang contenant de l'EDTA plutôt que de l'héparine ou du citrate mais que ces poux vivent moins longtemps (médiane de 2,81 jours contre plus de 4 jours) et pondent moins d'œufs (médiane de 2,67 contre plus de 3,4). De ce fait, le lavage du sang est une bonne alternative, mais son efficacité reste à déterminer puisque la proportion d'EDTA restante est inconnue.

E. PARAMÈTRES ÉTUDIÉS

Plusieurs paramètres ont été sélectionnés afin de permettre une évaluation de la réussite des expériences. Le principal caractère étudié est celui de la prise de repas : non nourris, plus ou moins nourris ou bien gorgés.

Une différence notable dans le comportement est observée entre les poux nourris sur un lapin et les poux nourris *in vitro*. En effet, les poux *in vivo* se nourrissent très rapidement alors que les poux *in vitro* mettent beaucoup plus de temps à prendre leur repas sanguin. Notamment, ils déambulent énormément. Ce constat est également retrouvé dans les travaux de TAKANO-LEE *et al.* (45). Les chercheurs américains ont catégorisé le comportement des poux de la manière suivante : recherche, nourrissage et repos. Toutefois, le comportement de recherche des poux semble difficilement réalisable au vu de la taille du compartiment dans lequel ils se trouvent.

Pour rappel, les poux utilisés dans les expériences de TAKANO-LEE *et al.* (48,49) sont les premiers stades larvaires des poux. Ainsi, le développement a pu être observé. Les poux nourris *in vitro* se développent plus lentement que les poux nourris *in vivo*. Cette observation n'a pas pu être faite lors des expériences du laboratoire de Tours, car seuls des poux adultes ont été sélectionnés pour les expériences.

La mortalité a été étudiée dans les différentes expériences avec comme témoin les poux nourris sur le lapin vivant.

Dans l'optique de permettre une technique de nourrissage durable pour un élevage qui se reproduit, le nombre de lentes pondues a été regardé. Cependant, comme ce sont de jeunes adultes qui ont été sélectionnés, donc d'abord nourris sur le lapin vivant, les lentes pondues ne peuvent pas complètement être attribuées à la réussite de la prise des repas sanguins *in vitro*.

Ces paramètres méritent d'être étudiés plus précisément, car le but est de pouvoir nourrir des poux, mais avant tout de permettre une survie de la lignée avec une reproduction pour avoir différentes générations. Ce qui a été réalisé lors de ce travail est donc une première phase d'expérimentation et de tâtonnement afin de voir ce qui est possible de faire, à éviter ou nécessaire de faire avec précaution.

Certaines variantes auraient pu bénéficier de plus d'exploration, car elles montraient un potentiel intéressant, toutefois le temps pour réaliser ces expériences était également un facteur limitant. Le travail effectué et détaillé lors de cette thèse peut cependant servir de prémices à d'autres expériences futures.

TAKANO-LEE *et al.* (48,49) constatent que leur système ne permet pas de mener des recherches approfondies sur la biologie, le comportement et la réponse aux pédiculicides.

À noter qu'actuellement, les quatre colonies de poux de corps dans le monde sont nourries sur un lapin vivant. L'automatisation d'un système de nourrissage n'est pas répandue. Quel que soit le système artificiel mis en place, il ne parviendra jamais à reproduire les conditions *in vivo*. La présence d'anticoagulant et d'antibiotiques peut avoir des effets indésirables et des paramètres qui n'ont pas encore été mis en évidence et qui n'ont donc pas été pris en compte dans la mise au point d'un système de nourrissage *in vitro* peuvent jouer un rôle essentiel dans l'évolution de la colonie de poux maintenue en élevage.

VII. CONCLUSION

Lors de cette thèse, il a été rappelé que les poux sont des ectoparasites de l'Homme. Deux variétés de poux sont concernées : *Pediculus humanus var. humanus* et *Pediculus humanus var. capitis*. Avec un tropisme différent, ces insectes sont responsables de deux pédiculoses qui sont aujourd'hui des problèmes de santé publique.

Afin de les étudier et mieux les appréhender, un élevage de poux de corps est maintenu en vie au sein du laboratoire de Tours. La technique de nourrissage actuelle n'étant pas pleinement satisfaisante pour des raisons éthiques et pratiques, le travail de cette thèse a été de chercher un nouveau procédé.

Aucune technique parmi celles expliquées précédemment, n'a pu obtenir un résultat suffisamment satisfaisant pour permettre de développer un système durable pour le nourrissage de toute une colonie de poux sans l'intervention d'un lapin vivant, ni la main de l'Homme en tant que manipulateur. Toutefois, cela ne condamne pas le projet. Le non-résultat est un résultat en lui-même. En effet, ce qui a été testé lors de ce travail, a permis une ébauche pour les futures explorations de recherche.

Les essais effectués ont été réalisés à petite échelle, il est nécessaire de réfléchir à plus grande échelle si l'élevage entier doit passer à une méthode de nourrissage *in vitro* autonome.

Les problèmes éthiques posés par l'utilisation d'un lapin vivant sont liés au fait qu'il doit rester en décubitus dorsal pendant environ deux heures et subir la piqure de centaines de poux. Il est à noter que tout est fait pour que le bien-être de l'animal soit respecté (un seul nourrissage par semaine, aucune lésion de piqure observée, récompense alimentaire...). Le développement d'un système de nourrissage *in vitro* demanderait de grandes quantités de sang de lapin, impliquant de continuer à utiliser des animaux vivants. Le prélèvement de sang est considéré comme une procédure entraînant une douleur modérée supérieure à celle engendrée par la piqure des poux. L'amélioration du bien-être animal serait donc relativement limitée.

L'automatisation du nourrissage des poux permettrait de s'affranchir des contraintes liées à une intervention humaine indispensable tout au long de l'année sous peine de perdre l'élevage. Nos essais corroborent les résultats de la littérature dans ce domaine, qui montrent que les systèmes artificiels ne permettent pas aux poux ainsi nourris d'être maintenus en vie assez longtemps pour la pérennité de l'élevage.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. ROMANO D, STEFANINI C, CANALE A, BENELLI G. **Artificial blood feeders for mosquito and ticks-Where from, where to?** Acta Trop. juill 2018;183:43-56.
2. JOHNSTON JS, YOON KS, STRYCHARZ JP, PITTENDRIGH BR, CLARK JM. **Body lice and head lice (anoplura: pediculidae) have the smallest genomes of any hemimetabolous insect reported to date.** J Med Entomol. 1 nov 2007;44(6):1009-12.
3. LECOINTRE G, LE GUYADER H. **Classification phylogénétique du vivant. 3. éd., revue et augm.** Paris: Belin; 2006. 559 p.
4. VERACX A, RAOULT D. **Biology and genetics of human head and body lice.** Trends Parasitol. 1 déc 2012;28(12):563-71.
5. FRANC M. **Poux et méthodes de lutte.** Rev Sci Tech Int Off Epizoot. déc 1994;13(4):1039-51.
6. NUTANSON I, STEEN CJ, SCHWARTZ RA, JANNIGER CK. **Pediculus humanus capitis: an update.** R E V E W. 2008;17(4):11.
7. ANOFEL, UMVF. **Ectoparasitoses : poux (pédiculoses), puces, punaises et tiques.** 2014.
8. BUSVINE JR. **The 'head'and 'body' races of Pediculus humanus L.** Parasitology. 1948;39(1-2):1-16.
9. LA CITÉ DES INSECTES. **Anoplura (Poux)** [Internet]. La cité des insectes. 2009 [cité 2 nov 2020]. Disponible sur : <https://www.lacitedesinsectes.com/decouvrez-les-insectes/classification/anoplura>
10. BURKHART CN. **Fomite transmission with head lice: a continuing controversy.** The lancet. 11 janv 2003;361(9352):99-100.
11. BOUTELLIS A, ABI-RACHED L, RAOULT D. **The origin and distribution of human lice in the world.** Infect Genet Evol. 1 avr 2014;23:209-17.
12. LAROUSSE. **Définitions : symbiose** [Internet]. Larousse. [cité 3 nov 2020]. Disponible sur : <https://www.larousse.fr/dictionnaires/francais/symbiose/76048>
13. LAROUSSE. **Définitions : parasitisme** [Internet]. Larousse. [cité 3 nov 2020]. Disponible sur : <https://www.larousse.fr/dictionnaires/francais/parasitisme/58027>
14. LAROUSSE. **Définitions : ectoparasite** [Internet]. Larousse. [cité 30 oct 2020]. Disponible sur : <https://www.larousse.fr/dictionnaires/francais/ectoparasite/27774>

15. CUMMINGS C, FINLAY JC, MACDONALD NE. **Head lice infestations: A clinical update.** Paediatr Child Health. févr 2018;23(1):e18-24.
16. ROZENDAAL JA. **Punaises de lit, puces, poux, tiques et acariens.** In: La lutte antivectorielle : méthodes à usage individuel et communautaire. Genève : Organisation Mondiale de la Santé; 1999. p. 259-314.
17. AMNH. **Metamorphosis in Arthropods** [Internet]. American museum of natural history. [cité 3 nov 2020]. Disponible sur : <https://www.amnh.org/learn-teach/curriculum-collections/biodiversity-counts/arthropod-identification/arthropod-morphology/metamorphosis-in-arthropods>
18. FRANKOWSKI BL, BOCCHINI JA, COUNCIL ON SCHOOL HEALTH AND COMMITTEE ON INFECTIOUS DISEASES. **Head lice.** Pediatrics. août 2010;126(2):392-403.
19. SANGARÉ AK, DOUMBO OK, RAOULT D. **Management and Treatment of Human Lice.** Biomed Res Int. 2016;2016:8962685.
20. POUXIT. **La lente** [Internet]. Pouxit. [cité 12 nov 2020]. Disponible sur : https://www.pouxit.fr/la_lente.html
21. LAROUSSE. **Définitions : hématophage** [Internet]. Larousse. [cité 2 nov 2020]. Disponible sur : <https://www.larousse.fr/dictionnaires/francais/h%C3%A9matophage/39450>
22. AMANZOUAGHENE N, FENOLLAR F, RAOULT D, MEDIANNIKOV O. **Where are we with human lice? A review of the current state of knowledge.** Front Cell Infect Microbiol. 2019;9:474.
23. POUXIT. **Le pou** [Internet]. Pouxit. [cité 5 nov 2020]. Disponible sur : https://www.pouxit.fr/le_pou.html
24. DERMATO INFO. **Les poux** [Internet]. Dermato info - Société française de dermatologie. 2009 [cité 17 nov 2020]. Disponible sur : https://2019.dermato-info.fr/article/Les_poux
25. FALAGAS ME, MATTHAIIOU DK, RAFAILIDIS PI, PANOS G, PAPPAS G. **Worldwide prevalence of head lice.** Emerg Infect Dis. sept 2008;14(9):1493-4.
26. LEUNG AKC, FONG JHS, PINTO-ROJAS A. **Pediculosis capitis.** J Pediatr Health Care. 1 nov 2005;19(6):369-73.

27. SOTO JC, BEDARD P, FORTIER D, HARTNER R, TRUDELLE A. **La pédiculose du cuir chevelu : lignes directrices pour le contrôle de la pédiculose du cuir chevelu dans les écoles et les services de garde éducatifs à l'enfance.** [Internet]. 2020 [cité 3 avr 2021]. Disponible sur : <http://collections.banq.qc.ca/ark:/52327/4027717>
28. ROBERTS RJ. **Head Lice.** N Engl J Med. 23 mai 2002;346(21):1645-50.
29. MINISTÈRE DE LA SANTÉ, DE LA FAMILLE ET DES PERSONNES HANDICAPÉES, DIRECTION GÉNÉRALE DE LA SANTÉ. **Avis du Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France, section des maladies transmissibles, relatif à la conduite à tenir devant un sujet atteint de pédiculose du cuir chevelu (séance du 27 juin 2003).** Ann Dermatol Vénéréologie. 1 déc 2004;131(12):1122-4.
30. COATES SJ, THOMAS C, CHOSIDOW O, ENGELMAN D, CHANG AY. **Ectoparasites: Pediculosis and tungiasis.** J Am Acad Dermatol. 1 mars 2020;82(3):551-69.
31. FRANCE.TV. **La guerre des poux** [Internet]. C'est toujours pas sorcier. 2020. Disponible sur : <https://www.france.tv/france-4/c-est-toujours-pas-sorcier/c-est-toujours-pas-sorcier-saison-2/1985449-la-guerre-des-poux.html>
32. IZRI A, GUIGUEN C. **Les pédiculoses et le rôle du laboratoire.** Rev Francoph Lab. 1 juill 2013;2013(454):33-9.
33. VIDAL. **Les traitements contre les poux** [Internet]. VIDAL. 2020 [cité 3 déc 2020]. Disponible sur : <https://www.vidal.fr/>
34. AMELI. **Poux : comment s'en débarrasser ?** [Internet]. Ameli. 2020 [cité 3 déc 2020]. Disponible sur : <https://www.ameli.fr/assure/sante/themes/poux/bons-reflexes>
35. PURESENTIEL. **Comment se débarrasser des poux naturellement et efficacement grâce aux huiles essentielles ?** [Internet]. Puressentiel. [cité 9 févr 2021]. Disponible sur : <https://fr.puresessentiel.com/blogs/conseils/comment-se-debarrasser-des-poux-naturellement-et-efficacement-grace-aux-huiles-essentielles>
36. BRAULT A. **Pédiculose et remèdes de grands-mères : idées fausses ou vrais conseils ?** [Thèse d'exercice]. [Tours]: François Rabelais; 2015.
37. GLAZIOU P, NYGUYEN LN, MOULIA-PELAT JP, CARTEL JL, MARTIN PM. **Efficacy of ivermectin for the treatment of head lice (Pediculosis capitis).** Trop Med Parasitol Off Organ Dtsch Tropenmedizinische Ges Dtsch Ges Tech Zusammenarbeit GTZ. sept 1994;45(3):253-4.

38. CHOSIDOW O, GIRAudeau B, COTTRELL J, IZRI A, HOFMANN R, MANN SG, et al. **Oral Ivermectin versus Malathion Lotion for Difficult-to-Treat Head Lice.** N Engl J Med. 11 mars 2010;362(10):896-905.
39. SHASHINDRAN CH, GANDHI IS, KRISHNASAMY S, GHOSH MN. **Oral therapy of pediculosis capitis with cotrimoxazole.** Br J Dermatol. 1978;98(6):699-700.
40. HIPOLITO RB, MALLORCA FG, ZUNIGA-MACARAIG ZO, APOLINARIO PC, WHEELER-SHERMAN J. **Head Lice Infestation: Single Drug Versus Combination Therapy With One Percent Permethrin and Trimethoprim/Sulfamethoxazole.** PEDIATRICS. 1 mars 2001;107(3):e30-e30.
41. GIANg D, VILLOING B, ALLO J-C. **Poux de tête, Poux de corps et Morpions** [Internet]. Urgence-online. 2015 [cité 3 avr 2021]. Disponible sur : <https://urgences-serveur.fr/poux-de-tete-poux-de-corps-et,2153.html>
42. BADIAGA S, BROUQUI P. **Human louse-transmitted infectious diseases.** Clin Microbiol Infect. 1 avr 2012;18(4):332-7.
43. KO CJ, ELSTON DM. **Pediculosis.** J Am Acad Dermatol. 1 janv 2004;50(1):1-12.
44. IZRI A. **Les poux : diagnostic, nuisance et rôle vectoriel.** Rev Fr Lab. 1 déc 2001;2001(338):37-40.
45. CDC. **Parasites - Lice - Body Lice - Treatment** [Internet]. Centers for disease control and prevention. 2019 [cité 6 déc 2020]. Disponible sur : <https://www.cdc.gov/parasites/lice/body/treatment.html>
46. CULPEPPER GH. **Rearing and maintaining a laboratory colony of body lice on rabbits.** Am J Trop Med. 1948;28(3):499-504.
47. UNIVERSITÉ DE TOURS. **Laboratoire des ectoparasites** [Internet]. Site SOS poux. [cité 8 févr 2021]. Disponible sur : <https://sospoux.univ-tours.fr/>
48. TAKANO-LEE M, YOON KS, EDMAN JD, MULLENS BA, CLARK JM. **In vivo and in vitro rearing of Pediculus humanus capitis (Anoplura: Pediculidae).** J Med Entomol. sept 2003;40(5):628-35.
49. TAKANO-LEE M, VELTEN RK, EDMAN JD, MULLENS BA, CLARK JM. **An automated feeding apparatus for in vitro maintenance of the human head louse, Pediculus capitis (Anoplura: Pediculidae).** J Med Entomol. nov 2003;40(6):795-9.

50. MUMCUOGLU KY, DANILEVICH M, ZELIG O, GRINBAUM H, FRIGER M, MEINKING TL. **Effects of blood type and blood handling on feeding success, longevity and egg production in the body louse, *Pediculus humanus humanus*.** Med Vet Entomol. 2011;25(1):12-6.
51. YOON KS, STRYCHARZ JP, GAO J-R, TAKANO-LEE M, EDMAN JD, CLARK JM. **An improved in vitro rearing system for the human head louse allows the determination of resistance to formulated pediculicides.** Pestic Biochem Physiol. 1 nov 2006;86(3):195-202.
52. PIETRI JE, RAY R. **A simplified protocol for in vitro rearing of human body lice.** Parasite [Internet]. [cité 6 déc 2020];27. Disponible sur : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7008773/>

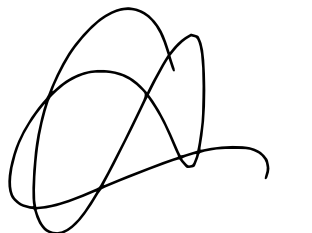
ENGAGEMENT DE NON PLAGIAT

Je, soussignée CAO Clara

Déclare être pleinement consciente que le plagiat de documents ou d'une partie d'un document publiés constitue une violation des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée. (*Décret n°92-657 du 13 juillet 1992*)

En conséquence, je m'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisées pour écrire ce mémoire.

Signature :



SIGNATURES DU DIRECTEUR DE THESE ET DU DOYEN

N° Étudiant : 21400857

N° Thèse : 55

Nom et Prénom : CAO Clara

Sujet :

Essais de nourrissage de poux de corps (*Pediculus humanus humanus*) sur du sang de lapin *in vitro*.

Tours, le : 09.07.2021

Le(s) Directeur(s) de Thèse :

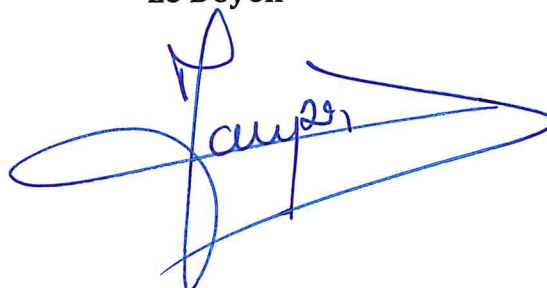
Debierre - Grockiego Françoise



09.07.21

Vu et Transmis :

Le Doyen



CAO CLARA

N° 55

**Essais de nourrissage de poux de corps (*Pediculus humanus humanus*)
sur du sang de lapin *in vitro*.****RÉSUMÉ DE LA THÈSE**

Les insectes parasites *Pediculus humanus var. capitis* (ou pou de tête) et *Pediculus humanus var. humanus* (ou pou de corps), responsables des pédiculoses du cuir chevelu ou du corps, représentent un problème de santé publique avec des centaines de millions de personnes infestées dans le monde, de tout âge et de toute classe socio-économique. Bien que des traitements soient commercialisés, il est difficile de bloquer la transmission et ces parasitoses persistent. Il est donc important de poursuivre la recherche de nouveaux traitements et répulsifs. Pour cela, il est nécessaire de maintenir une colonie de poux au laboratoire.

Dans cet objectif, des essais de nourrissage de poux de corps ont été réalisés *in vitro* avec du sang de lapin. Différents supports et différents matériaux ont été testés au cours de ce travail afin d'essayer de reproduire le nourrissage physiologique des poux de manière totalement artificielle. La réussite des expériences doit se traduire par des poux gorgés de sang après leur repas. Pour un succès total, les poux doivent survivre plusieurs semaines et se reproduire.

Toutefois, nos essais n'ont pas permis d'atteindre ces objectifs, ce qui suggère que, contrairement à d'autres parasites piqueurs tels que moustiques, punaises et tiques, les poux ne se nourrissent pas correctement en-dehors de leur hôte. Ces résultats sont en accord avec les données de la littérature.

MOTS-CLÉS SIGNIFICATIFS DE SON CONTENU, ATTRIBUÉS PAR LE CANDIDAT EN LIAISON AVEC LA
BIBLIOTHÈQUE UNIVERSITAIRE ET LES MEMBRES DU JURY

Pou, *Pediculus humanus var. capitis*, *Pediculus humanus var. humanus*, nourrissage *in vitro*.

JURY**PRÉSIDENT :**

Mme DEBIERRE-GROCKIEGO Françoise, Maître de conférence, HDR, Faculté de Pharmacie – TOURS

MEMBRES :

Mme BRAULT Alexane, Pharmacien d'officine, Pharmacie de la Manse – SAINTE-MAURE-DE-TOURAINE

Mme GERMON Stéphanie, Pharmacien, Maître de conférence, Faculté de Pharmacie – TOURS

Mme TOUBATE Berthine, Ingénieur de recherche, Faculté de Pharmacie – TOURS

DATE ET LIEU DE SOUTENANCE : Le 28 juin 2021 à TOURS