

UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP - DAKAR

ECOLE INTER-ETATS DES SCIENCES ET MEDECINE VETERINAIRES
(E.I.S.M.V)

ANNEE 1990 - N° 10



**METHODOLOGIE EN EVALUATION DE
LA SENSIBILITE DES TIQUES AUX
ACARICIDES ORGANOPHOSPHORES**

●

THESE

ECOLE INTER-ETATS
DES SCIENCES ET MEDECINE
VETERINAIRES DE DAKAR
BIBLIOTHEQUE

présentée et soutenue publiquement le 27 Juin 1990
devant la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Dakar
pour obtenir le grade de DOCTEUR VETERINAIRE
(DIPLOME D'ETAT)

par
Moctar KARIMOU
né le 13 Juillet 1963 à NIAMEY (NIGER)

Président du Jury	: M. François DIENG Professeur à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Dakar
Directeur de Thèse et Rapporteur	: M. François Adebayo ABIOLA Professeur agrégé à l'E.I.S.M.V de Dakar
Membres	: M. Germain Jérôme SAWADOGO Professeur agrégé à l'E.I.S.M.V de Dakar : M. Louis Joseph PANGUI Professeur agrégé à l'E.I.S.M.V de Dakar

LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT

*** PERSONNEL A PLEIN TEMPS**

1-ANATOMIE-HISTOLOGIE-EMBRYOLOGIE

Kondi M.	AGBA	Maître de Conférences Agrégé
Jacques	ALAMARGOT	Assistant
Amedou	NCHARE	Moniteur

2- CHIRURGIE-REPRODUCTION

Papa El Hassane	DIOP	Maître de Conférences Agrégé
Frank	ALLAIRE	Assistant
Nohé	DIOUF (Melle)	Moniteur

3-ECONOMIE-GESTION

CHEICK	LY	Assistant
--------	----	-----------

4- HYGIENE ET INDUSTRIE DES DENREES ALIMENTAIRES D'ORIGINE ANIMALE

Melang	SEYDI	Maître de Conférences Agrégé
Ibrahima	SALAMI	Moniteur

5- MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE PATHOLOGIE-INFECTIEUSE

Justin Ayayi	AKAKPO	Maître de Conférences Agrégé
Rienatou	ALAMBEDI (Mme)	Assistante
DRISSOU-BAPETEL		Moniteur

6- PARASITOLOGIE-MALADIES PARASITAIRES-ZOOLOGIE

Louis Joseph	PANGUI	Maître de Conférences Agrégé
Jean	BELOT	Assistant
Charles	MANDE	Moniteur

7- PATHOLOGIE MEDICALE-ANATOMIE PATHOLOGIQUE ET CLINIQUE AMBULANTE

Théodore	ALOGNINOUBA	Maître de Conférences Agrégé
Roger	PARENT	Maître-Assistant

Jean	PARANT	Maître-Assistant
Yolacé Y.	KABORET	Assistant
Lucien	MBEURNODJI	Moniteur

8- PHARMACIE-TOXICOLOGIE

François Adébayo	ABIOLA	Maître de Conférences Agrégé
Moctar	KARIMOU	Moniteur

9- PHYSIOLOGIE-THERAPEUTIQUE-PHARMACODYNAMIE

Alassane	SERE	Professeur titulaire
Moussa	ASSANE	Maître-Assistant
Mohamedou M.	LAWANI	Moniteur
Lota Dabio	TAMINI	Moniteur

10- PHYSIQUE ET CHIMIE BIOLOGIQUE ET MEDICALES

Germain Jérôme	SAWADOGO	Maître de Conférences Agrégé
ADAM	ABOUNA	Moniteur

11- ZOOTECHNIE-ALIMENTATION

Kodjo	ABASSA	Assistant
Mobinou A.	ALLY	Moniteur

CERTIFICAT PREPARATOIRE AUX ETUDES VETERINAIRES

Tchala	KAZIA	Moniteur
--------	-------	----------

*** PERSONNEL VACATAIRE**

- Biophysique

René	NDOYE	Professeur Faculté de Médecine et de Pharmacie Université Ch. A. DIOP
Jacqueline	PIQUET (Mme)	Chargée d'enseignement Faculté de Médecine et de Pharmacie Université Ch. A. DIOP
Alain	LECOMTE	Maître-Assistant Faculté de Médecine et de Pharmacie Université Ch. A. DIOP
Sylvie	GASSAMA (Mme)	Maître de Conférences Agrégée Faculté de Médecine et de Pharmacie Université Ch. A. DIO

*** PERSONNEL EN MISSION**

(Prévu pour 1989-1990)

- PARASITOLOGIE

Ph.	DORCHIES	Professeur ENV -TOULOUSE
L.	KILANI	Professeur ENV SIDI THABET (TUNISIE)
S.	GEERTS	Professeur Institut Médecine Vétérinaire Tropicale -ANVERS (Belgique)

- PATHOLOGIE PORCINE ANATOMIE PATHOLOGIQUE GENERALE

A.	DEWAELE	Professeur Faculté Vétérinaire de CURCHEM Université de LIEGE (Belgique)
----	---------	--

JE

DEDIE

CE

TRAVAIL...

- A Mon père MOUSSA Karimou et à ma mère YAROU Haoua

*Pour tous les sacrifices consentis pour mon éducation et ma réussite
dans la vie ; ce travail est aussi le vôtre.*

- A mes soeurs Fourère et Zeinebou

Ma reconnaissance et mon affection fraternelle ;

Pour l'unité de la famille.

- A tous mes parents et connaissances

- A mes camarades et amis

- Au Niger mon pays

- Au Sénégal pays hôte

A NOS MAÎTRES ET JUGES

- Monsieur François DIENG Professeur à la Faculté de

Médecine et de Pharmacie de Dakar

Vous nous faites un grand honneur en président notre jury de thèse. Très profonde gratitude et hommage respectueux.

- Monsieur François Adébayo ABIOLA Professeur Agrégé à l'École

Inter-Etats des Sciences et Médecine

Vétérinaires de Dakar

Vous nous avez inspiré ce sujet de thèse. Vos conseils de Maître averti, votre entière disponibilité et votre rigueur scientifique ont facilité l'élaboration de ce travail. Profonde gratitude.

- Monsieur Louis Joseph FANGLI

Professeur Agrégé à l'École

Inter-Etats des Sciences et Médecine

Vétérinaires de Dakar

Vous avez beaucoup contribué à l'élaboration de ce travail et c'est un grand honneur pour nous d'être jugé par vous. Vive reconnaissance et profond respect.

- Monsieur Germain Jérôme SAWADOGO Professeur Agrégé à l'École

Inter-Etats des Sciences et

Médecine Vétérinaires de Dakar

Vous avez accepté d'être membre de notre jury de thèse avec plaisir.

Trouvez ici l'expression de nos profonde reconnaissance.

Par délibération, la Faculté et l'Ecole ont décidé que les opinions émises dans les dissertations qui leur seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elles n'entendent leur donner aucune approbation ni improbation .

TABLE DES MATIERES

	PAGES
INTRODUCTION	1
Première partie : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	2
CHAPITRE. I- Généralités sur les tiques	3
I-1. Principales espèces de tiques rencontrées en Afrique occidentale	3
I-2. Morphologie générale des tiques	5
I-2-1. Morphologie externe	6
I-2-1-1. L'adulte	6
a- la femelle	6
b- le mâle	6
I-2-1-2. La nymphe	8
I-2-1-3. La larve	8
I-2-2. Morphologie interne	8
I-2-2-1. Le tube digestif	8
I-2-2-2. Le système respiratoire	8
I-2-2-3. Les glandes sexuelles	8
I-2-2-4. La circulation	8
I-2-2-5. Le système nerveux	8
I-3. Biologie générale des tiques	10
I-3-1. Habitat	10
I-3-1-1. Vie parasitaire	10
I-3-1-2. Vie libre	10
I-3-2. Nutrition et cycle évolutif	10
I-3-3. Elevage de tique au laboratoire	12
I-3-3-1. Technique générale	12

1-3-3-2. Facteurs essentiels qui influencent le développement au laboratoire	12
1-4. Rôles pathogènes des tiques	14
1-4-1. Rôle pathogène direct	14
1-4-1-1. Fixation et repas de sang	14
1-4-1-2. Action mécanique et cytolytique	14
1-4-1-3. Les toxicoses à tiques	14
1-4-2. Rôle pathogènes indirect	16
1-5. Les neutransmetteurs chez les tiques	16
1-5-1. Historiques	16
1-5-2. Les cholinestérases	16
1-5-2-1. Définition	16
1-5-2-2. Mécanisme d'hydrolyse de l'Acétylcholine (Ach) par l'Acétylcholinestérase (AChE)	17
1-5-2-3. Caractéristiques et classification des cholinestérases	20
1-5-3. L'activité cholinestérasique chez les tiques	21
CHAPITRE. II - La lutte contre les tiques en Afrique	23
II-1. Généralités sur les acaricides organophosphorés	23
II-1-1. Structure, propriétés physicochimiques et classification	23
II-1-1-1. Structure	23
II-1-1-2. Propriétés physicochimiques	24
A- Propriétés physiques	24
B- Propriétés chimiques	24
II-1-1-3. Classification	25
A- Les phosphates	25

B- Les thionophosphates	25
C- Les thionothiophosphates	27
D- Les phosphoramides	27
II-1-2. Usage des acaricides organophosphorés	27
II-2. Mécanisme d'action des acaricides organophosphorés	29
II-3. Résistance des tiques aux acaricides organophosphorés	30
II-3-1. Définition-historique	30
II-3-2. Mécanismes de la résistance	30
II-3-3. Déterminisme génétique	32
II-3-3-1. Induction de la résistance	32
II-3-3-2. Emergence et persistance de la résistance	32
Deuxième Partie : ETUDE EXPERIMENTALE	33
CHAP. I : Matériel et méthode d'étude	34
I-1. Matériel d'étude	34
I-1-1- Les tiques	34
I-1-1-1. Origine des prélèvements	34
I-1-1-2. Technique d'élevage au laboratoire	34
I-1-1-3. Préparation des échantillons	36
I-1-2. Matériel de laboratoire	36
I-1-2-1. Le spectrophotomètre	36
I-1-2-2. Les réactifs	36
I-1-2-3. Les accessoires	38
I-2. Méthode d'étude	38
I-2-1. Mesure de la sensibilité des tiques par le test FAO	38
I-2-2. Dosage des cholinestérases	40
I-2-2-1. Principe du dosage des cholinestérases par la méthode d'Eilman	40
I-2-2-2. Mesure de l'activité cholinestérasique des tiques	42
A- Protocole expérimentale	42
B- Conditions requises pour un bon dosage	42

C- Hydrolyse non enzymatique des substrats	43
D- Cinétique de la réaction d'hydrolyse	43
E- Méthode de calcul de l'activité cholinestérasique	44
I-2-3. Inhibition par les organophosphorés	44
I-2-3-1. La technique d'inhibition	44
A- Hydrolyse non enzymatique du substrat	45
B- Influence de la durée d'incubation	45
I-2-3-2. Détermination de l'inhibition 50 % (I_{50})	45
I-2-4. Constante bimoléculaire de vitesse k_i	46
I-2-5. Estimation de la moyenne à partir d'un échantillon de taille n	47
Chapitre. II - Les Résultats	49
II-1. Sensibilité des larves par le test FA0	49
II-2. Analyse de l'activité cholinestérasique	49
II-2-1. Variation de l'activité cholinestérasique en fonction du substrat	49
II-2-2. Variation de l'activité cholinestérasique en fonction de l'âge des tiques	49
II-2-3. Variation de l'activité cholinestérasique en fonction du lieu de prélèvement des tiques	50
II-3. Inhibition 50 % (I_{50})	50
II-3-1. Variation de la sensibilité en fonction du lieu de prélèvement et des espèces de tiques	50
II-3-2. Variation de la sensibilité en fonction de la présentation chimique des acaricides.	50
Chapitre. III- Discussion	61
III-1. Du choix des tiques et des lieux de prélèvements des tiques	61
III-2. Du choix des substrats	61
III-3. Du choix des inhibiteurs	61
III-4. Des résultats	62

III-4-1. Test FAO sur la sensibilité des tiques aux acaricides	62
III-4-2. Activité cholinestérasique	62
III-4-3. Inhibition par les organophosphorés	62
CONCLUSION GENERALE	64



INTRODUCTION

Dans nos pays africains, les tiques parasites du bétail constituent un facteur limitant au développement de l'élevage. Selon les agents pathogènes en cause et la sensibilité du bétail en place, les pertes économiques dues aux maladies à tiques (manque de productivité, morbidité, mortalité) peuvent représenter jusqu'à 20 P.100 de la valeur du cheptel dans les zones d'endémies des babésioses et jusqu'à 40 p.100 dans celles où sévissent les theilérioses (24).

Afin qu'elle soit efficace, la lutte ne doit pas être menée d'une façon globale contre les tiques, mais plutôt orientée contre telles ou telles espèces de tiques en fonction des particularités de leur biologie et en raison de leur rôle pathogène précis.

Parmi les différents composés chimiques qui interviennent dans la lutte, les acaricides organophosphorés sont actuellement les plus utilisés. Leur mode d'action repose sur l'inhibition de l'activité cholinestérasique.

Il est par conséquent important avant d'engager une stratégie de lutte, d'apprécier à travers une méthodologie simple, la sensibilité d'une espèce de tique envers un acaricide, soit pour établir la concentration optimale du produit, soit pour mettre en évidence la résistance d'une population envers un ou plusieurs composés. C'est précisément ce dernier aspect de la lutte qui fait l'objet de notre travail qui comporte deux parties :

- la première est une synthèse bibliographique de données
- la deuxième sera consacrée à l'étude expérimentale que nous avons personnellement conduite et qui porte principalement sur la mesure de l'activité cholinestérasique des tiques et l'inhibition de cette activité par les acaricides organophosphorés.

PREMIERE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Cette partie comporte deux chapitres :

- * le premier présente des généralités sur les tiques**
- * le deuxième sera consacré à la lutte contre les tiques en Afrique**

CHAPITRE I - GENERALITES SUR LES TIQUES

Dans ce chapitre nous nous intéresserons essentiellement aux tiques parasites du bétail en Afrique occidentale, en examinant successivement :

- les principales espèces rencontrées
- la morphologie générale
- la biologie générale
- le rôle pathogène
- et enfin les neurotransmetteurs chez les tiques.

I.1. PRINCIPALES ESPECES DE TIQUES RENCONTREES EN AFRIQUE OCCIDENTALE

Les tiques sont des arthropodes appartenant à l'ordre des Ixodida. on y distingue deux super familles dont celle des Ixodoïdea qui nous intéresse dans ce travail.

La super famille des Ixodoïdea comporte deux familles :

- la famille des Ixodidae
- et la famille des Amblyommidae.

Tableau n° 1 : Distribution des tiques parasites du bétail en Afrique occidentale en fonction des zones climatiques

Source = (25)

Hya=Hyalomma - Boo=Boophilus - Rh=Rhipicephalus - Hae=Haemaphysalis
Amb=Amblyomma

zone climatique Espèces de tiques	Zone sahélienne 250 - 500 mm	Zone soudanienne NORD 500 - 1000 mm	Zone soudanienne SUD 1000 - 1250 mm	Zone des savanes GUINEENNES 1250 mm - FORÊT
Hya dromedarji	++			
Hya impeltatum	+++	+		
Hya marginatum rufupes	+++	++		
Hya impressum	+	++	+	
Hya truncatum	++	+++	+	
Hya nitidum		+	+++	++
Amb. variegatum		+++	+++	++
Boo-decoloratus		+++	++	
Boo-geigyi			+++	++
Boo-annulatus			+	+
Rh-sanguineus	+			
Rh-guilhoni	++	++		
Rh-evertsi	+	+++	+	
Rh-muhsamae	+	+++	+	
Rh-lumulatus		++	+	+
Rh-sulcatus		+	+++	+++
Rh-aurantiacus				++
Rh-senegalensis			+++	++
Rh-complanatus				++
Rh-moucheti				+++
Rh-ziemanni				++
Hae-spinulosa		+	+	+
Hae-rugosa			+	+
Hae-permata				++

+ = faiblement présent

++ = moyennement présent

+++ = fortement présent

En Afrique Occidentale, ce sont les isohyètes qui ont le plus d'utilité pratique pour juger de la répartition probable ou confirmée des tiques (tableau 1).

Numériquement c'est au niveau des isohyètes de 500-1000 mm annuels que les infestations sont plus importantes.

En allant vers le Nord les espèces sont peu nombreuses, mais représentées par de très nombreux individus, adaptés au milieu spécial qu'est le Sahel.

Au Sud, les espèces se font plus variées, mais les infestations sont moins massives.

I. 2- MORPHOLOGIE GENERALE DES TIQUES

Les tiques s'opposent aux autres arachnides par certaines caractéristiques qu'ils présentent en commun.

- Le corps est globuleux, sans limite nette entre parties antérieures et postérieures, bien qu'on constate la différenciation d'un capitulum d'avec le reste du corps.

- Absence de poumon

- Présence de six paires d'appendices chez l'adulte :

. une paire de chélicères

. une paire de pédipalpes

. quatre paires d'appendices locomoteurs.

Des différences, tant du point de vue morphologique que biologique tendent à distinguer les tiques des autres acariens.

Il s'agit notamment de :

- présence d'un rostre qui se présente sous la forme d'un organe unique issu la réunion de deux pièces symétriques;

- taille généralement grande (adulte à jeûn ; de 1,5 à 15 mm)

- existence d'une cuticule souple, extensible et susceptible de croissance lors de la réplétion, en relation avec le comportement alimentaire très évolué.

1-2-1. Morphologie externe

1-2-1-1. L'adulte

a) La femelle à jeun

- * Le capitulum présente une base cylindrique ou polyédrique très sclérifiée.
- * Le rostre est muni de denticules rétrogrades.
- * Le corps présente dorsolement :
 - un scutum sclérifié à forme variable (pentagonales, losange ou coeur)
 - le reste du tégument comporte des sillons longitudinaux et des rides transverses qui permettent l'extension du tégument.
- * Ventralement on observe quatre paires de hanches, des stigmates latéraux dans l'alignement des hanches, un pore génital entre les hanches et l'anus situé postérieurement (planche n° 1).

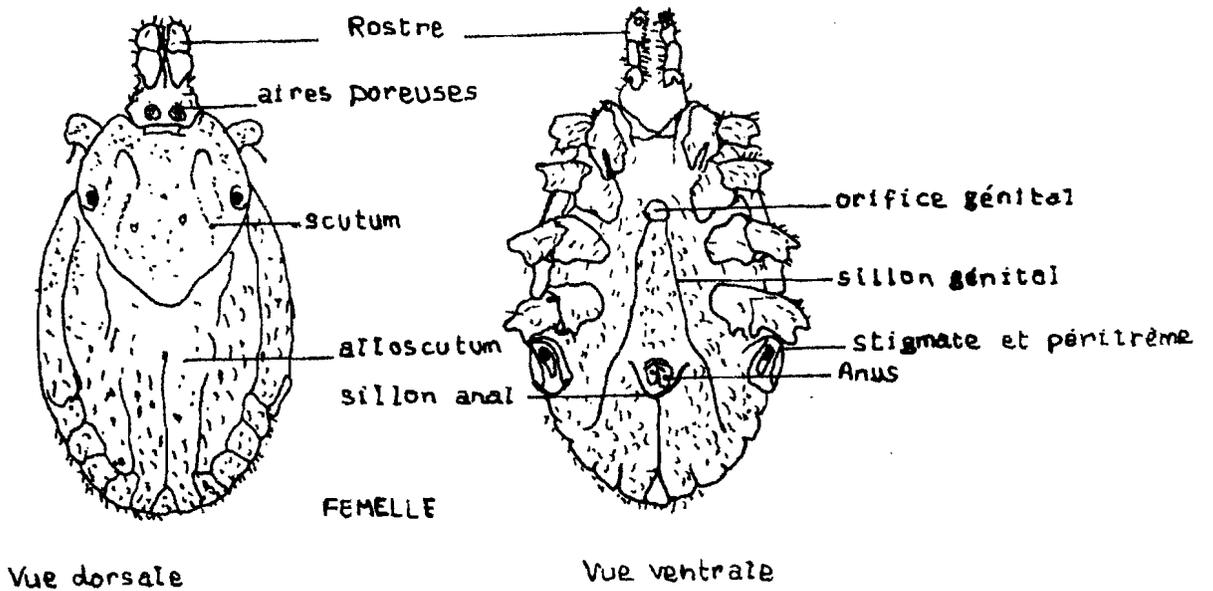
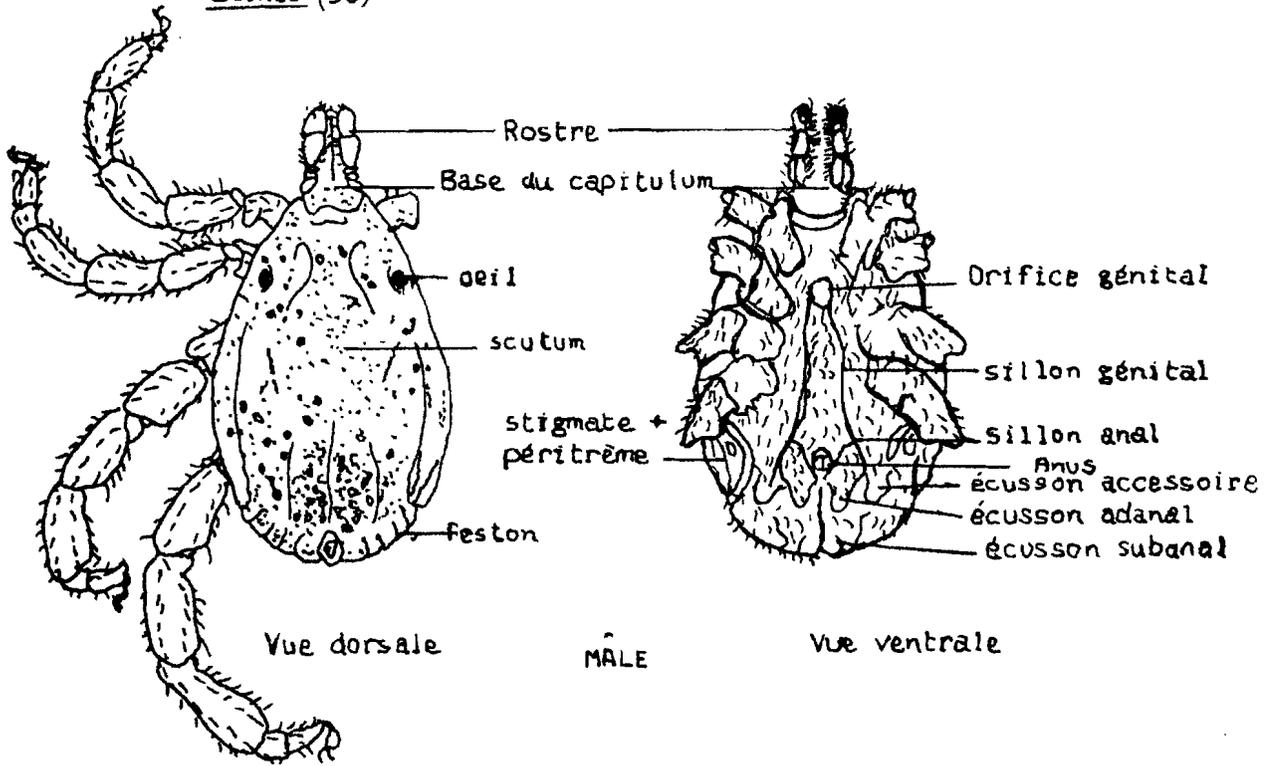
b) Le mâle

Il diffère de la femelle par sa structure et ses proportions.

- * Tout le tégument dorsal est recouvert d'un scrutum épais et rigide (et non la portion antérieure seulement).
- * Le mâle ne change pas de volume au cours du repas.
- * Le capitulum est plus ramassé chez le mâle (parfois équivalent à la moitié ou au tiers de la longueur chez la femelle).
- * Le dimorphisme sexuel est prononcé.
- * Absence d'aire poreuse chez le mâle.
- * Le gonopore est operculé.

Planche 1 MORPHOLOGIE GENERALE DES IXODIDAE

SOURCE (30)



1-2-1-2. La nymphe

Sa morphologie est analogue à celle de la femelle. La taille est moindre (1 à 2,5 mm) et on note une absence de pore génital.

1-2-1-3. La larve

Du point de vue morphologique, elle rejoint la nymphe à la différence que la taille est plus petite (0,5 à 1 mm à jeun) et on note en plus l'absence de stigmate et seulement la présence de trois paires de pattes.

1-2-2. Morphologie interne

a) Le tube digestif

L'élément le plus intéressant à étudier nous semble être l'estomac, du fait de sa particularité. En effet situé dans la partie centrale du corps, il présente plusieurs diverticules qui constituent de véritables poches qui se gonflent de sang lors du repas sanguin. L'excrétion se fait grâce à deux tubes de malpighi débouchant à l'anus

b) Le système respiratoire

Il est assez simple et se résume à des trachées qui débouchent au niveau des stigmates situés postérieurement à la quatrième paire de coxae.

c) Glandes sexuelles

Elles apparaissent sous la forme d'un massif unique en partie postérieure du corps.

Les éliminations se font au niveau d'un pore génital situé dans la partie antérieure du corps.

d) La circulation

La circulation chez la tique est assurée par un coeur dorsal pulsatile allongée en canal.

c) Le système nerveux

Le manque de segmentation qui caractérise les acaréens est mieux mis en exergue par l'anatomie du système nerveux central.

A la place d'un ganglion cérébral typique, de commissures circum-oesophagiennes et d'une chaîne ganglionnaire ventrale segmentée que nous observons chez la majorité des arthropodes, nous rencontrons essentiellement chez la tique, une masse solide de tissu nerveux percé par l'oesophage (planche 2).

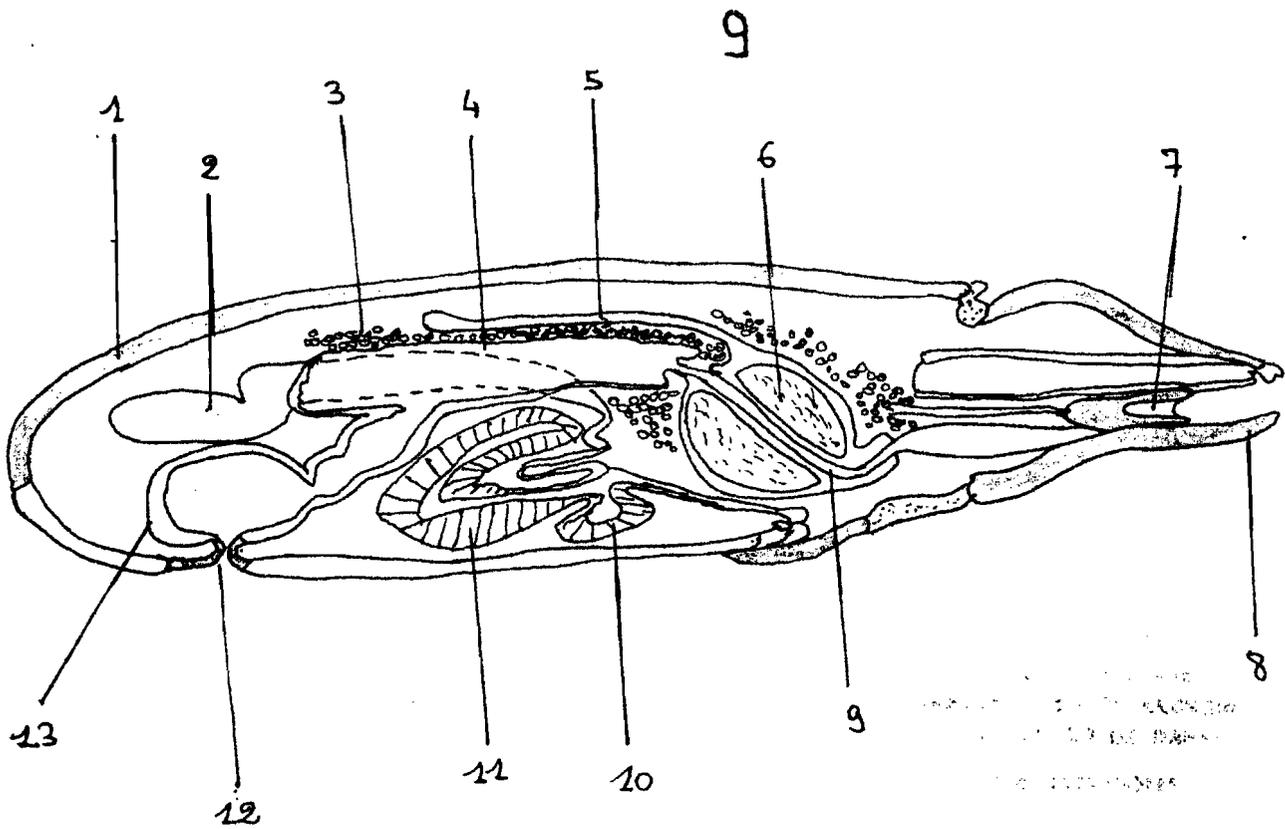


PLANCHE 2 : coupe sagittale du mâle de *Rh. appendiculatus*
 source 35 d'après DILL : 1961

LEGENDE :

- 1- scutum
- 2- testicule
- 3- glande salivaire
- 4- estomac
- 5- sorte
- 6- ganglion nerveux central
- 7- cavité buccale
- 8- hypostome
- 9- oesophage
- 10- tube médio-ventral de la glande génitale accessoire
- 11- glande génitale accessoire
- 12- canal anal
- 13- sac rectal

Le ganglion céphalique se divise en une partie dorsale à l'oesophage et en un lobe ventral. on ne distingue pas de commissures latérales.

A l'exception du nerf pharyngien et du nerf intestinal, tous les nerfs périphériques sont pairs.

En comparaison avec la taille de la tique adulte, le ganglion céphalique paraît bien minuscule. Chez la larve où le rudiment du ganglion est très tôt visible, il est d'une taille relativement immense par rapport aux dimensions du parasites (7).

1-3. BIOLOGIE GENERALE DES TIQUES

1-3-1. Habitat

Nous rencontrons les tiques, soit chez les hôtes spécifiques en tant que parasite, soit dans la nature.

1-3-1-1. Vie parasitaire

La vie parasitaire correspond au moment où la tique se rencontre chez l'hôte. Elle demeure agrippée à un endroit du corps de l'animal.

Cette fixation est liée aux possibilités de pénétration du rostre.

C'est ainsi qu'on distingue des localisations au niveau de la tête, le bord de l'anus ou l'extrémité de la queue pour les espèces à rostre court et des localisations au niveaux des parties déclives où la peau est plus épaisse pour les espèces à rostre long.

1-3-1-2. Vie libre

Nous parlerons de vie libre lorsque la tique se trouve au sol soit pour pondre ou pour rechercher son hôte.

Les facteurs climatiques conditionnent beaucoup la répartition des tiques et leur période d'activité qui est maximale en saison de pluie en Afrique tropicale.

1-3-2. Nutrition et cycle évolutif

Pendant que les tiques adultes mâles peuvent prendre plusieurs fois leur repas sanguin, les femelles elles se gorgent une seule fois. En effet, une fois qu'elles sont bien gorgées et après accouplement, elles tombent à terre, y pondent leurs oeufs, puis meurent.

La larve qui sortira de l'oeuf, lorsqu'elle trouve un hôte s'y agrippe, se gorge de sang, tombe à terre, mue et donne une nymphe qui va donner par le même processus l'adulte.

Il résulte de ce schéma type trois grandes variantes (planche 3).

- cycle à un seul hôte: tous les stades de développement se succèdent sur un même et unique hôte. C'est le cas du genre *Boophilus*.

- cycle à deux hôtes : larve et nymphe se gorgent sur le même hôte (généralement les petits mammifères, les oiseaux et les reptiles).

L'adulte va se rencontrer sur les grands mammifères; par exemple, les tiques du genre *Hyalomma*.

- cycle à trois hôtes; c'est le cycle le plus fréquent.

Les préimagos se gorgent sur les vertébrés terrestres disponibles (quoiqu'il y ait des préférences pour un groupe). Les adultes se gorgent sur les grands mammifères seulement. Les mues se font à terre.

exemple : genre *Amblyomma*.

La connaissance de ces cycles est très importante dans le cadre de la lutte contre les tiques.

1-3-3. Elevage des tiques au laboratoire

Cette activité est celle de laboratoires spécialisés.

1-3-3-1. Technique générale

Le plus pratique est de rechercher les tiques sur l'hôte en inspectant sur toute la surface du corps (24).

Les tiques assez grosses pour être saisies entre le pouce et l'index, sont tirées délicatement mais fermement dans le sens de l'implantation. Il est recommandé de prélever le plus grand nombre de tiques, car les pertes sont fréquentes pendant les différentes manipulations.

La conservation des tiques se fera à l'étuve, en air humidifié pour les diverses phases du cycle (ponte, embryogenèse, métamorphoses).

Les repas de sang vont s'effectuer sur des animaux divers (rongeurs, volailles, bétail); les tiques sont enfermées dans des capsules et placées sur une surface de peau rasée ou non.

1-3-3-2. Facteurs essentiels qui influencent le développement au laboratoire

Au laboratoire, c'est principalement la température et l'humidité relative qui conditionnent le développement des tiques. les résultats d'une étude menée sur le

Tableau n° 2 : Résistance à jeun aux différents stades de développement

Stade de développement	Durée de résistance par régime d'humidité relative en jour (j)			Quantité placée par régime
	HR 65 %	HR 51 %	HR 35 %	
Larves	12-15 j	11 - 12	6 - 8	ponte de 2 femelles
Nymphes	18- 20	12 - 16	8 - 10	90
Imagos femelles	88- 104	76 - 83	72 - 78	10

Tableau n°3 : Estimation d'éclosion des larves

Régime HR %	HR 64 - 65 %		HR 50- 51 %		HR 34-35 %	
	Tube I	II	I	II	I	II
Deufs pondus	4050	3162	5306	3559	3255	3273
Larves écloses	2246	1783	2185	1564	953	1043
Taux d'éclosion %	55,43	56,38	41,17	43,64	29,27	31,59

HR = humidité relative

Source (22)

genre *Hyalomma* (*Hyalomma Impeltatum* souche TOUKOUNOUS, NIGER) illustrent bien l'impact de ces deux facteurs (tableaux 2 et 3).

Les températures se situent dans la fourchette des 25 à 35°C et l'humidité relative entre 50 et 65 p.100.

Des vérifications statistiques ont permis de mettre en évidence une corrélation positive entre la durée de résistance à jeûn et l'humidité relative d'une part et d'autre part entre le taux d'éclosion des larves et l'humidité ambiante.

1-4. ROLES PATHOGENES DES TIQUES

1-4-1. Rôle pathogène direct

Il est dû au parasite lui-même.

1-4-1-1. Fixation et repas de sang

La fixation de la tique provoque localement à la surface de la peau de l'hôte, une lésion inflammatoire qu'accompagne la formation d'un oedème d'importance variable.

Puisque le sang ingéré est concentré (excrétion d'eau et de sels minéraux dès le début du repas), il faut considérer que la tique gorgée ingère en réalité une quantité de sang environ trois fois supérieure au volume présenté en fin de repas. Cette action spoliatrice explique l'apparition d'anémie chez les animaux fortement infestés.

1-4-1-2. Action mécanique et cytolytique

La cytolyse entraînée par la lésion de fixation de la tique, constitue le point de départ à la formation d'abcès. Ces abcès, lorsqu'ils sont nombreux représentent autant de portes d'entrée aux germes du milieu extérieur.

1-4-1-3. Les toxicoses à tiques

Les toxines présentes dans la salive des tiques vont être actives contre certains tissus des animaux infestés. On distingue globalement :

- des toxines neurotropes qui entraînent une paralysie de l'hôte
- des toxines dermatropes, responsables d'eczéma.

Les toxicoses peuvent apparaître sous une forme généralisée, se traduisant par un affaiblissement général des animaux. Cette forme serait due à l'existence

Tableau n°4 : Principales maladies transmises par les tiques parasites du bétail en Afrique occidentale

Maladies	Agents pathogènes	Tiques vectrices
Badésiose des bovins	Babésia bigemina Babésia bovis	Boophilus decoloratus Boo-geigui Boo-annulatus
Theilériose bénigne des ruminants	theileria mutans	Amblyomma variegatum
Anaplasmosse bovine	Anaplasma marginale	Rhipicephalus senegalensis Boophilus spp
Ehrlichiose bovine Rickettsiose generale	Ehrlichia bovis	Hyalomma spp.
Cowdriose (Heartwater)	Cowdria rumunantium	Amblyomma variegatum
Fièvre boutonneuse	Rickettsia	Amblyomma variegatum Hyalomma marginatum r. Boophilus spp. Rhipicephalus senegalensis Rh. sanguineus
Fièvre Q	Coxiella burneti	Amblyomma variagatum Hyalomma spp
Borréliose bénigne des herbivores domestiques	Borrélia theileri	Rhipicephalus evertsi evertsi Hyalomma dromedarü Boophilus spp
Fièvre hémorragique de crimée-congo	virus C.C.H.F.	Amblyomma variegatum Hyalomma marginatum r. Hya-truncatum Hya-impressum Hya-nitidum Rhipicephalus guilhorni

de toxines sans effet pathogène localisé.

1-4-2. Rôle pathogène indirect

Dans ce rôle, les tiques véhiculent et transmettent des organismes microbiens et parasites variés au bétail. Les maladies occasionnées par les tiques sur le bétail en Afrique occidentale sont nombreuses. Pour le clarté de l'exposé, nous présentons ce paragraphe sous forme de tableau (tableau 4).

1-5. LES NEUROTRANSMETTEURS CHEZ LES TIQUES

1-5-1. Historique

Le rôle de l'acétylcholine en tant que neurotransmetteur a été suspecté il y a plusieurs années, suite à la sensibilité des tiques aux acaricides organophosphorés, et à la mise en évidence de l'acétylcholinestérase chez les larves de *Boophilus microplus* et dans le ganglion céphalique des tiques adultes (35). Smallman et Schutner en 1972, ont pu extraire l'acétylcholine du tissu nerveux des insectes. Cette nouvelle perspective va ouvrir la voie à d'autres auteurs.

En effet, quelques années plus tard, le rôle neuromédiateur de l'acétylcholine chez *Boophilus microplus* fut confirmé à la suite des dosages biochimiques dans le ganglion céphalique, de l'acétylcholinestérase et de la choline acétyltransférase (35).

Les travaux de Bennington et Odenchain cités par Frederick et Galun (11) sur la physiologie des tiques, permirent de mieux préciser le rôle de l'acétylcholine, de la dopamine, de la noradrenaline, du glutamate et du GABA, au niveau des jonctions neuromusculaires et des synapses. Comme chez la plupart des groupes animaux, le rôle neuromédiateur de ces composés serait le même chez les tiques (11).

1-5-2. Les cholinestérases

Une grande partie de notre travail est consacrée au dosage des cholinestérases. Il est par conséquent indispensable de mieux connaître ces composés ainsi que leur mode d'action.

1-5-2-1. Définition

Les cholinestérases sont des glycoprotéines dont l'unité est un monomère globulaire. Du fait de l'adjonction d'un pont dissulfure S-S, les monomères peuvent s'organiser en dimères, puis en tétramères qui seront rattachés à une queue de collagène à trois brins.

La fonction essentielle de cette queue de collagène est de permettre aux cholinestérases de s'ancrer dans les membranes cellulaires (45).

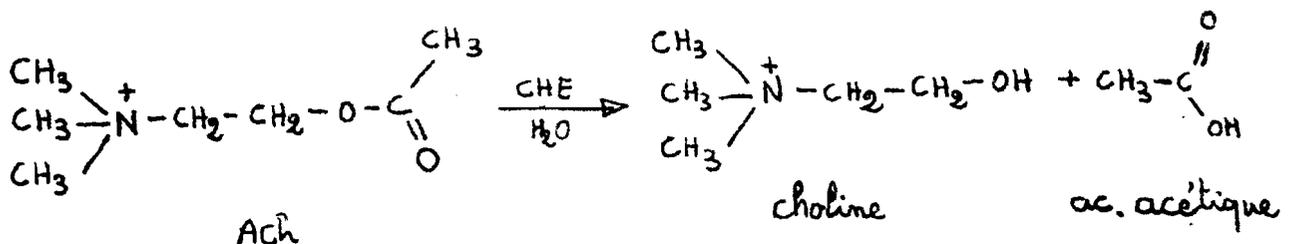
Afin de détacher les cholinestérases pour les solubiliser et faciliter leur étude, il est nécessaire d'employer des enzymes protéolytiques ou des détergents (par exemple le Triton X 100).

En plus des esters qu'elles hydrolysent, les cholinestérases sont des estérases qui peuvent hydrolyser les peptides et les amides.

1-5-2-2. Mécanisme d'hydrolyse de l'Acétylcholine (Ach) par l'Acétylcholinestérase (AChE)

Lors du passage de l'influx nerveux au niveau d'un synapse, il y a une libération importante d'Ach par la terminaison présynaptique. Une fois que l'Ach agit sur la membrane post-synaptique, il est rapidement hydrolysé par l'AChE afin d'éviter une prolongation excessive de son effet post synaptique (figure 1).

L'hydrolyse de l'acétylcholine par les cholinestérases (ChE) s'effectue selon la réaction générale suivante :



Le centre actif de l'acétylcholine présente deux sites :

- un site anionique chargé négativement
- un site estérasique chargé positivement.

Entre les deux sites existe une zone hydrophobe.

Sur le plan moléculaire, les événements qui se déroulent au niveau de l'enzyme ont été bien décrit (31).

On distingue trois grandes étapes :

1°- Formation du complexe enzyme-substrat avec au site anionique, intervention de forces de type vanderwals, et au site estérasique une véritable liaison covalente entre le carbone de l'acide acétique et l'oxygène de la sérine (figure 2).

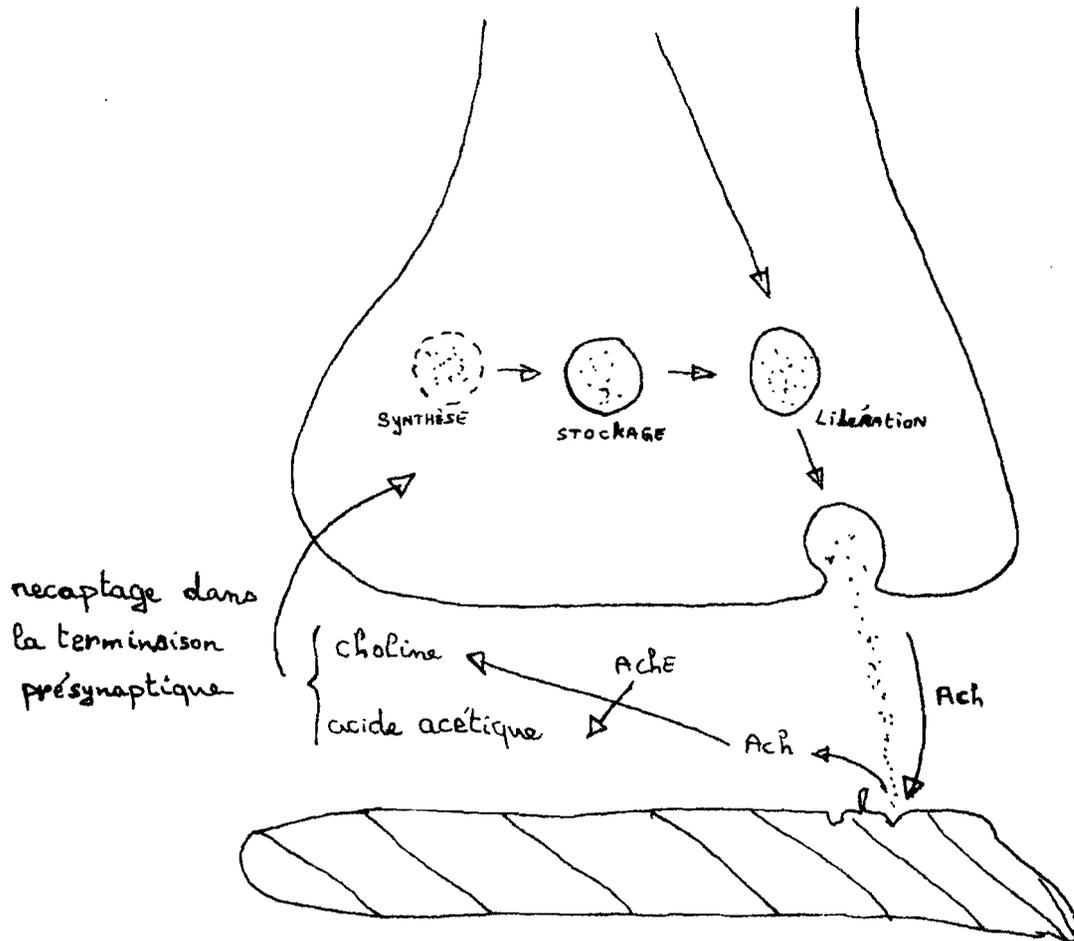


Figure 1 : l'économie cholinergique au niveau d'une synapse source (45)

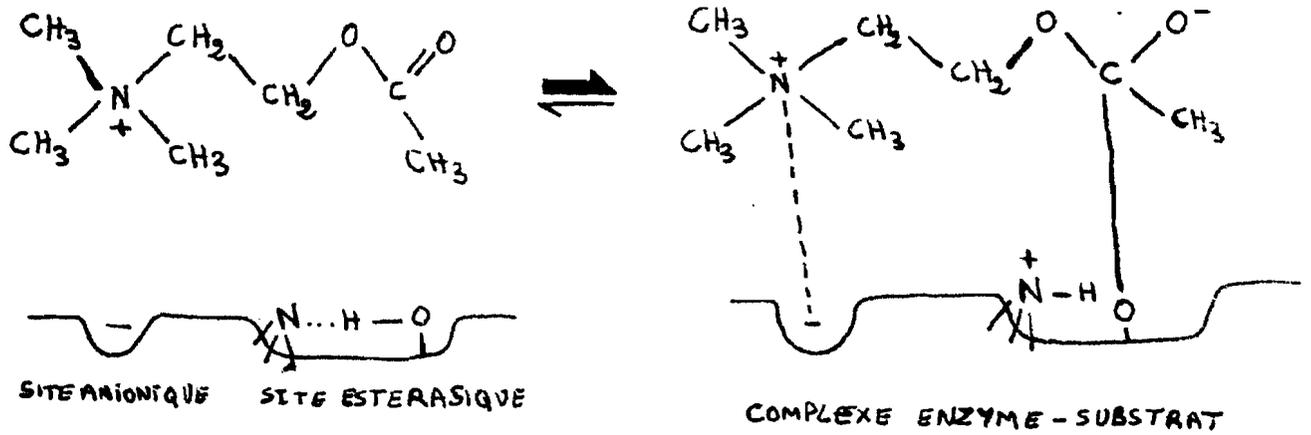


Figure 2: Formation du complexe enzyme-substrat

2°- Formation de l'enzyme acétylée : il y a hydrolyse et libération de la choline, mais la liaison covalente persiste au site estérasiqve (figure 3).

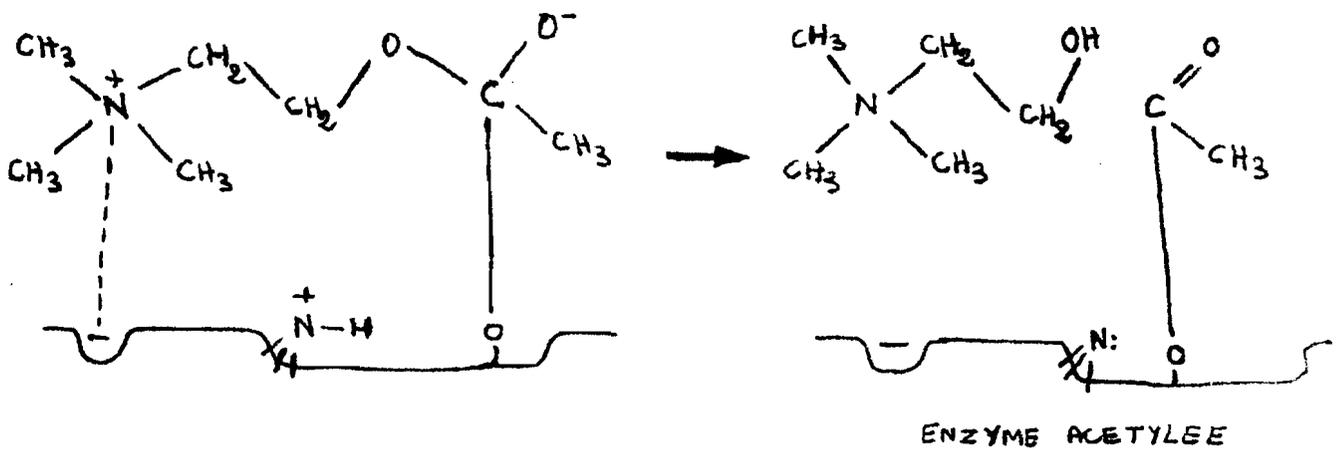


Figure 3 : Formation de l'enzyme acétylée

3°-Régénération de l'enzyme avec libération de l'acide acétique(figure 4)

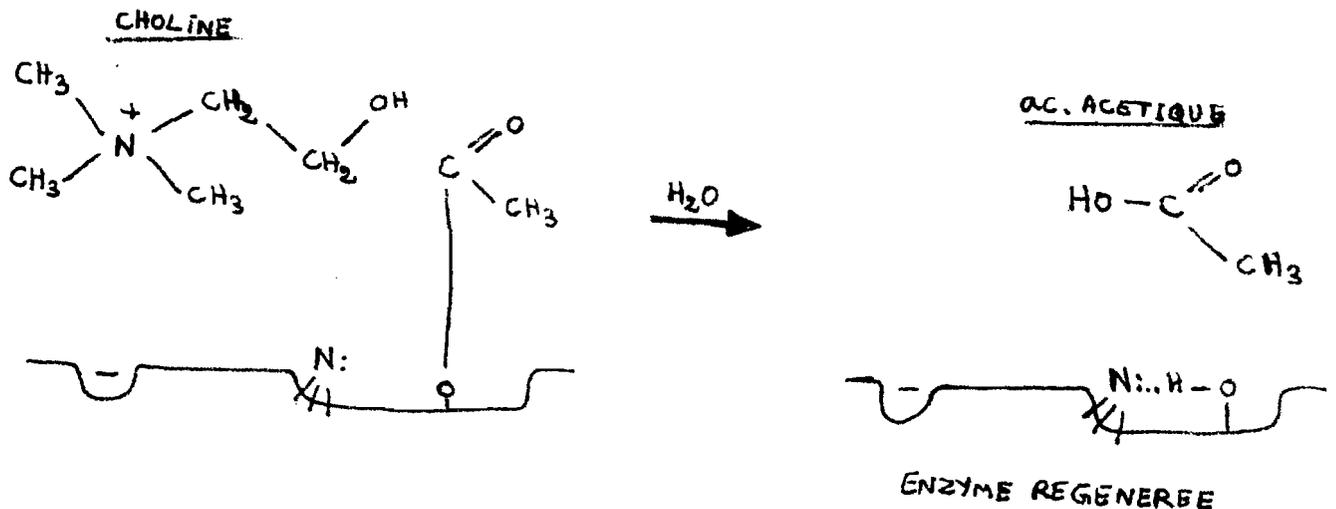


FIGURE n° 4 . REGENERATION DE L'ENZYME

1-5-2-3. Caractéristiques et classification des cholinestérases

En 1943, Mendel et Rudney proposèrent une classification permettant de distinguer deux catégories de cholinestérases en fonction de leur spécificité pour les substrats.

- "Les vraies cholinestérases" actives seulement vis-à-vis des esters de la choline.

- "Les pseudo-cholinestérases" actives à la fois sur les esters de la choline et des esters d'autres alcools tels la tributyrine, le tripropionine et le butyrate de méthyle.

Les vraies cholinestérases hydrolysent l'acétylcholine à un taux plus élevé que le butyrylcholine et sont inhibés par l'excès de substrat.

Les pseudocholinestérases elles, ne sont pas inhibées par l'excès de substrat et hydrolysent la butyrylcholine à un taux plus élevé que l'acétylcholine.

Les travaux de Aldridge cités par Watercomps (45) permirent de classer les

cholinestérases dans le groupe des estérases qui sont inhibées par les organophosphorés. De ce point de vue, la différence entre vraies cholinestérases et pseudo-cholinestérases repose sur l'utilisation d'inhibiteurs sélectifs.

1-5-3. L'activité cholinestérasique chez les tiques

Fred(10) étudia par la méthode d'Ellman, l'évolution de l'activité cholinestérasique sur des larves de plusieurs espèces de tiques du bétail.

Les résultats obtenus ont permis de tracer des droites qui illustrent l'évolution de l'activité cholinestérasique pour chaque espèce de tique en fonction de l'âge (figure 5).

On a pu constater chez deux souches différentes de *Boophilus microplus*, ainsi que chez le genre *Anocentor*, une activité qui demeurent constante avec l'âge.

Par contre chez les trois espèces d'*Amblyomma*, l'activité cholinestérasique augmente avec l'âge.

M. moles de substrat hydrolysé
par g de tique par heure

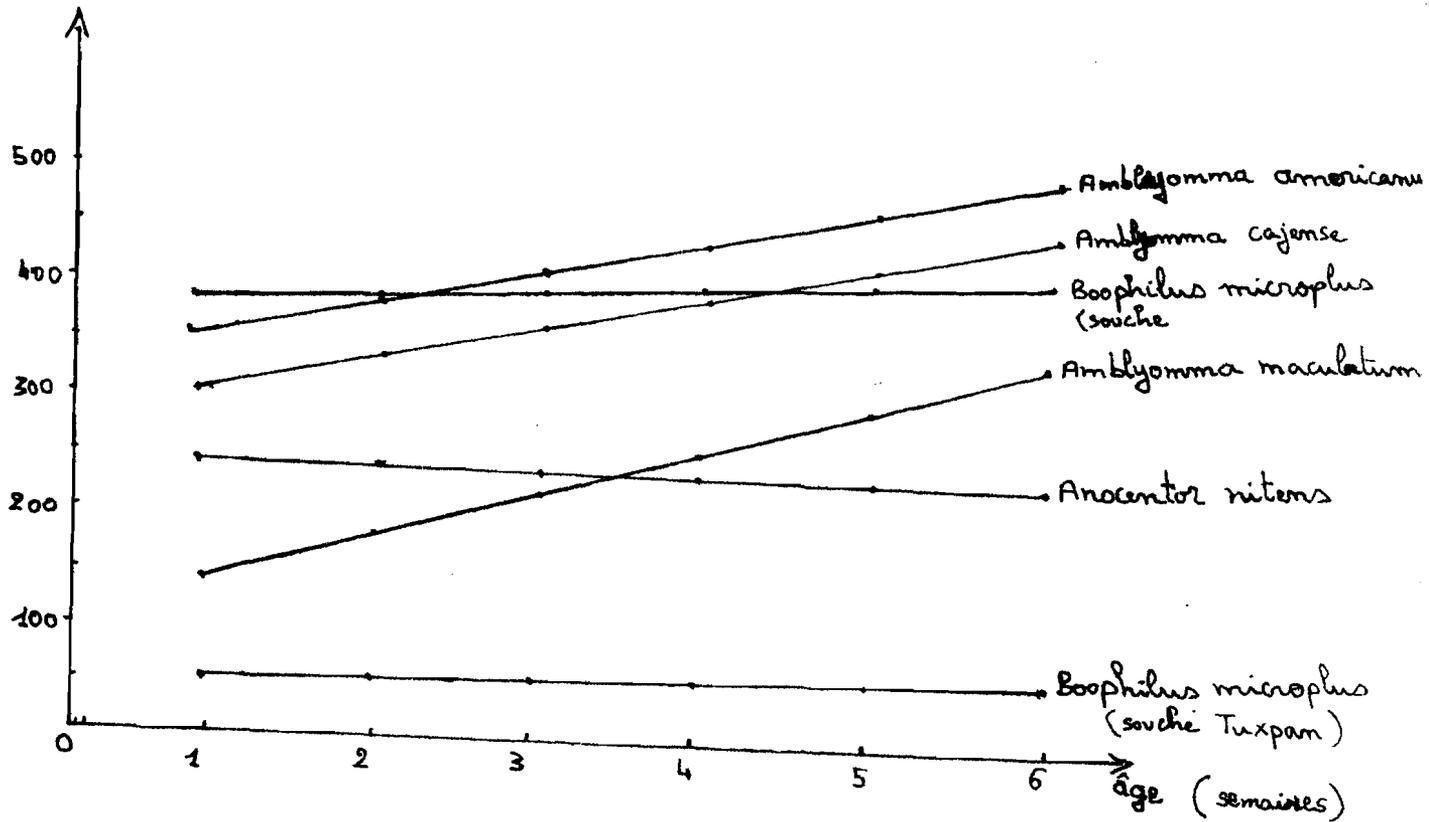


FIGURE 5 : Activité cholinestérasique en fonction de l'âge
chez différentes espèces de larves de tiques
source (10)

CHAPITRE II - LA LUTTE CONTRE LES TIQUES EN AFRIQUE

Les diverses méthodes de lutte pourraient se regrouper comme suit :

- actions directes sur le milieu ou lutte écologique
- lutte biologique à l'aide d'hyperparasites et de prédateurs
- lutte génétique par stérilisation des mâles
- lutte immunitaire par les résistances spontanées ou acquises des mammifères aux tiques
- lutte chimique par emploi d'acaricides.

Les composés chimiques utilisés dans la lutte sont d'origines très différentes

- l'anhydride arséneux
- les acaricides organochlorés
- les acaricides organophosphorés et les carbamates
- de nouveaux corps toxiques (deltaméthrine, amitraz, amidines cycliques).

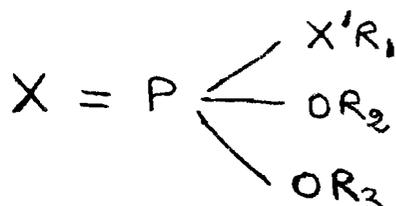
Le mécanisme d'action de ces produits sur les tiques est plus ou moins connu. L'un des plus connus actuellement est celui des organophosphorés. C'est cette catégorie d'ailleurs de plus en plus utilisée qui retient notre attention dans ce travail. Nous aborderons d'abord quelques généralités sur les acaricides organophosphorés et ensuite leur mécanisme d'action. Enfin nous aborderons un peu le phénomène complexe de la résistance des tiques aux acaricides organophosphorés.

II-1. GENERALITES SUR LES ACARICIDES ORGANOPHOSPHORES

II-1-1. Structure, propriétés physicochimiques et classification

II-1-1-1. Structure

Les acaricides organophosphorés sont du point de vue chimique, des esters ou des amides de l'acide orthophosphorique. la structure de base est la suivante :



x et x' sont des atomes de soufre ou d'oxygène.

R1, R2 et R3 sont des radicaux aliphatiques ou aromatiques.

11-1-1-2. Propriétés physicochimiques

A- Propriétés physiques

Les acaricides organophorés se présentent sous la forme de cristaux ou de liquide visqueux, incolore ou brunâtre, d'odeur alliacée désagréable.

Leur solubilité est généralement faible dans l'eau. Ils sont par contre très solubles dans les lipides, ce qui explique leur pénétration percutanée.

B- Propriétés chimiques

Parmi les nombreuses propriétés chimiques des acaricides organophosphorés, nous nous limiterons essentiellement à l'oxydation, l'hydrolyse, le pouvoir alkylant et l'isomérisation.

1°- L'oxydation

L'oxydation permet in vivo, la transformation de certains dérivés soufrés, en dérivés oxygénés plus actifs.

2°- L'hydrolyse

La vitesse d'hydrolyse des acaricides organophosphorés varie en fonction de la structure chimique, et des conditions de réaction (pH, température, nature du solvant, présence de catalyseur). Par exemple une augmentation du pH ou de la température entraîne une augmentation de la vitesse de réaction.

3°- Le pouvoir alkylant

Les propriétés alkylantes des acaricides permettent d'expliquer certaines de leurs activités biologiques d'une part, et d'autre part servent pour la synthèse de certains dérivés (38).

4°- L'isomérisation

L'isomérisation des acaricides organophosphorés est liée à la présence de cinq valences identiques du phosphore. Ceci permet d'expliquer certaines réactions d'isomérisation, par échange entre différents atomes.

11-1-1-3. Classification

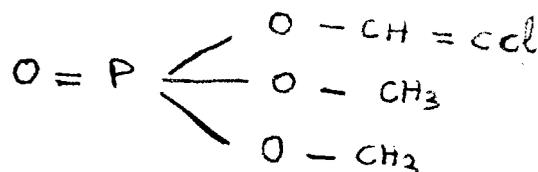
A partir de la structure chimique de base, les acaricides organophosphorés peuvent être regroupés en quatre classes principales (tableau 5) :

- les phosphates
- les thionophosphates
- les thionothiophosphates
- les phosphoramides.

A- Les phosphates

x et x' représentent des atomes d'oxygène

A titre d'exemple nous pouvons citer le Dichlorvos.



Le Dichlorvos a pour non déposé VAPONAND et connaît une large utilisation en médecine vétérinaire.

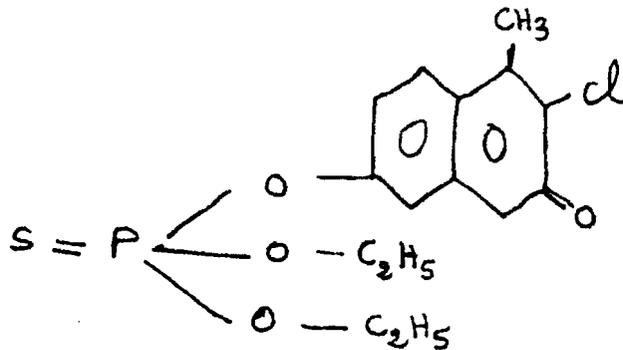
B- Les thionophosphates

x est un atome de soufre et x' un atome d'oxygène. C'est le groupe le plus important des acaricides organophosphorés.

Tableau n° 5 : Les principales classes des insecticides organophorés

Organophosphoré (classe)	Dénomination commune	Usage	Nom déposé	Remanence temps de dégradation approximatif 90 p.100 (j)
PHOSPHATES	Dichlorvos	V	Vapona	2 - 5
	Mévinphos	P	Atgard	
	Chlorphenvinphos	V	Phosdrin	
THIONOPHOSPHATES (phosphatethionate)	Parathion	P	Asuntol	15
	Cormaphos	V	Dursban	
	chlorpyrifos	P		
THIONOTHIOPHOSPHATES (phosphorodithioates)	Malathion	V	Cythion	7 - 15
	Carbophenothion	P	Trithion	15-30
	Téméphos	P	Abate	60
PHOSPHORAMIDES	Cruformate	V	Ruéliène	-
	Trichlorfon	V	Neguvon	10-15 j

Nous citerons à ce titre l'exemple du coumaphosND



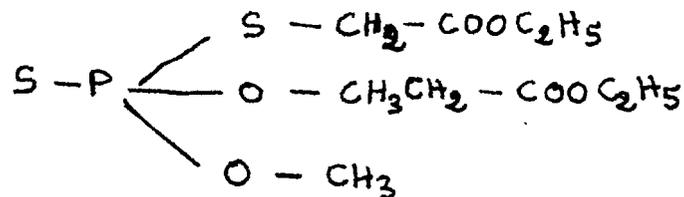
C'est un composé actif contre les ectoparasites et les endoparasites, et connaît une grande utilisation en médecine vétérinaire.

C - Les thionothiophosphates

Dans cette classe X et X' sont des atomes de soufre.

Exemple : le malathion

C'est un composé peu toxique utilisé en médecine vétérinaire contre les ectoparasites.



D - Les Phosphoramides

Les phosphoramides sont des composés beaucoup plus rares.

Comme exemple nous citerons à titre indicatif le cruformate (RUELENEND).

II- 1-2 Usage des acaricides organophosphorés

L'application des acaricides organophosphorés dans la lutte contre les tiques parasites du bétail se fait par des moyens divers.

Tableau n° 6 : Principaux acaricides organophosphorés utilisés contre les tiques

Produit	Nom déposé	Concentration initiale	état	Concentration finale recommandée	Usage
benoxaphos	Batestan Hoechst	70 p.100	émulsion	0,7 p.1000	bain, douche
carbophénothion	Supona Shell	20 p.100	émulsion	0,42 p.1000	douche
chlorpophervinphos	Supona Shell	20 p.100	poudre mouillable	0,50 p.1000	bain
Coumaphos	Asuntol Bayer	30 p.100	poudre mouillable	0,60 p.1000	douche
Crotoxyphos	Ciodrin Shell	25 p.100	émulsion	2,5 p.1000	douche
diazinon	Diazinon Geigy	20 p.100	émulsion	0,5 p.1000	bain, douche
dicrotophos	Ektaphos Ciba Geigy	100 p.100	solution	0,5 p.1000	douche
diéthion	Rhodiocide R.P. veterinaire)	60 p.100	émulsion	0,6 p.1000	douche
dioxathion	Delnav Hercules	50 p.100	émulsion	0,5-1 p.100	douche
fenchlorphos	Ronnel Dow Co	50 p.100	poudre mouillable	2,5-5 p.1000	bain, douche
fenitrothion	Sumithion Bayer	60 p.100	émulsion	0,6 p.1000	bain, douche
fenthion	Baylox Bayer	50 p.100	émulsion	1g/m ² à 10 p.1000	sur murs
malathion	Sumitox R.P. Ectigal 30 S.O.F.C.A. (+ diazinon)	20 p.100	poudre mouillable	1 p.1000	bain, douche
oxinothiophos	Bacdip Bayer	50 p.100	émulsion	0,25-0,5 p.1000	bain, douche
trichlorphon	Dipterex Bayer	50 p.100	poudre mouillable	0,5 - 1 p.1000	bain, douche
Dichlorvos	VAPONA				

L'ensemble des dispositifs et appareillages utilisables va de procédés très simples (mouillage individuel à l'éponge) aux plus élaborés (piscine, couloirs de douches). Il existe une large variété d'acaricides organophosphorés (tableau 6), mais ne seront retenus dans la lutte contre les tiques que ceux dont la toxicité est moyenne ou faible.

Il est important de savoir que seule la régularité d'emploi sur une longue période peut garantir l'efficacité des organophosphorés dans la lutte rationnelle contre les tiques.

En début d'utilisation l'effet des acaricides organophosphorés n'est pas aussi spectaculaire que celui observé avec les organochlorés. L'intérêt de l'effet des organophosphorés se manifeste plus par l'arrêt d'évolution de la descendance, que par la mort de la femelle gorgée, qui ne touche suivant les produits que 50-75 p. 100 des femelles (24).

II-2. MECANISME D'ACTION DES ACARICIDES ORGANOPHOSPHORÉS

Les perturbations induites par les organophosphorés résultent du blocage de l'un des sites de la cholinestérase, grâce à une ressemblance structurale avec l'acétylcholine.

En réalité la ressemblance ne conduit qu'à l'occupation du site estérasique, du fait de l'absence de fonction ammonium quaternaire dans la grande majorité des acaricides organophosphorés. La régénération de l'enzyme devient très difficile.

L'inhibition presque irréversible de l'acétylcholinestérase (AChE) par les acaricides organophosphorés aura comme conséquence immédiate une accumulation d'acétylcholine (ACh) non dégradé. Ce phénomène se traduit par une excitation excessive de tous ses récepteurs en fonction de leur sensibilité au neurotransmetteur.

Sur le plan moléculaire, il se forme d'abord un complexe enzyme-inactivateur (figure 6).

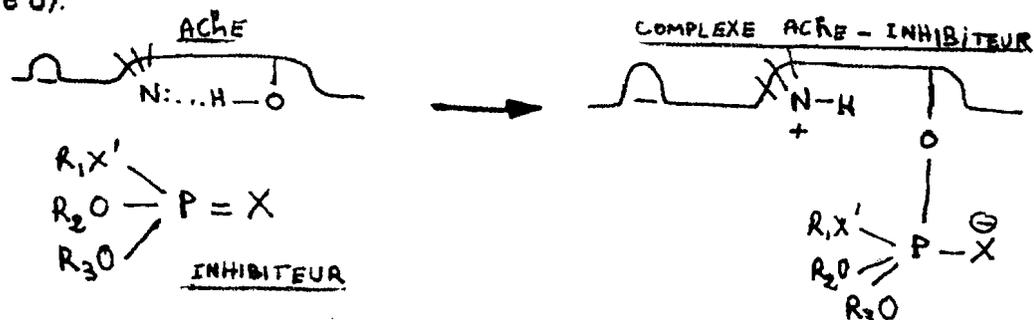


Figure 6: Formation complexe Ache- Inhibiteur

L'enzyme est ensuite phosphorylée comme le montre la figure 7.

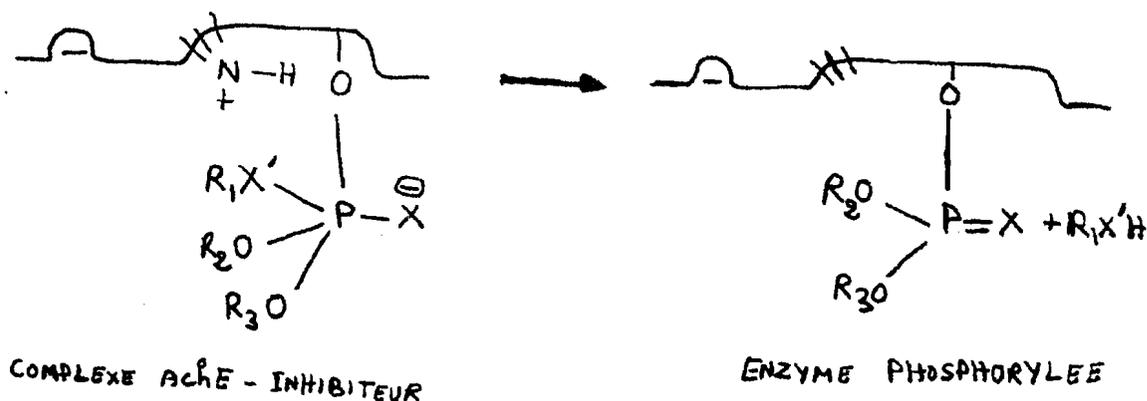


Figure 7: Phosphorylation de l'enzyme.

II-3. RESISTANCE DES TIQUES AUX ACARICIDES ORGANOPHOSPHORES

II-3-1. Définition historique

Selon la définition d'un comité d'experts de l'OMS, la résistance dite "physiologique", est "l'apparition, dans une souche d'insectes, de la faculté de tolérer des doses de substances toxiques qui exerceraient un effet létal sur la majorité des individus composant une population normale de la même espèce". Cette définition peut être étendue aux autres arthropodes, et en particulier aux acaridés (2).

L'utilisation des esters phosphoriques comme insecticide a connu un grand essor à partir de 1934 à la suite des travaux du chimiste allemand Schröder. En ce qui concerne les tiques Morel rappelle qu'on a constaté l'existence de souches résistantes dix ans environ, après le début de l'emploi des organophosphorés. Le phénomène s'est produit en pays tropicaux et a concerné d'abord des tiques appartenant au genre *Boophilus*, dont tous les stades sont parasites du bétail.

II-3-2. Mécanisme de la résistance

Lors de son utilisation prolongée, l'efficacité d'un insecticide vis à vis d'une espèce donnée diminue petit à petit. Cette résistance qui se manifeste donc progressivement, pourrait avoir deux causes :

- sélection d'individus à priori résistant
- résistance acquise.

Des études ont été menées afin de comprendre les mécanismes de la résistance aux acaricides.

Morel, Nolan et Gevrey ont bien établi que la résistance ne résulte pas d'un processus d'accoutumance de la tique, ni d'une post-adaptation de sa descendance. Il s'agit d'une préadaptation par mutation. Son déterminisme est par conséquent génétique (13).

On ne sait en général pas ce qui provoque ces mutations. Elles semblent apparaître spontanément, et il n'est pas prouvé que les acaricides en induisent.

L'acaricide exerce une "pression de sélection" phénomène qui laisse subsister surtout les individus résistants, favorisant leur reproduction et le développement d'une population résistante, capable de supplanter la population sensible.

La chimiorésistance est presque toujours due à une augmentation des processus de détoxication. Ce mécanisme n'est pas le seul à intervenir. D'après les études menées chez les arthropodes, il existe 2 autres mécanismes importants :

- altérations au niveau du site d'action des organophosphorés
- réduction de la pénétration de l'acaricide.

Tous ces mécanismes décrits agissent séparément ou conjointement (29).

1°- Augmentation des processus de détoxication.

Il résulte de ce processus une capacité accrue de métabolisation de l'acaricide.

Par simplification quelque peu caricaturale, on peut dire que les individus résistants doivent cette propriété à une hyperactivité enzymatique.

Il existe des mécanismes spécifiques. D'autres le sont beaucoup moins comme par exemple, les hydrolyses microsomaux.

2°- Altérations au niveau du site d'action des organophosphorés.

Chez les tiques ce processus est dû à la présence d'une acétylcholinestérase modifiée, moins sensible que l'acétylcholinestérase normale à l'inhibition par les organophosphorés.

Le taux de réaction de l'acétylcholinestérase modifiée avec l'inhibiteur est réduit. De même, l'hydrolyse rapide de l'acétylcholine est diminuée, mais demeure

quand même à un niveau compatible avec la survie de la tique(29).

3°- Réduction de la pénétration de l'acaricide

Ce phénomène a été observé chez les tiques du genre *Boophilus* (16).

En comparaison avec l'augmentation de la détoxication et l'altération de l'acétylcholinestérase, ce mécanisme est d'une importance mineure chez les tiques.

11-3-3. Déterminisme génétique

11-3-3-1. Induction de la résistance

Les recherches de génétique fondamentale ne sont pas encore très poussées sur les mutations déterminant la résistance aux acaricides.

On sait néanmoins que chez la tique, la mutation d'un seul gène autosomal peut entraîner l'apparition de résistance.

11-3-3-2. Emergence et persistance de la résistance

Certaines résistances sont monofactorielles (dominantes, intermédiaires ou récessives) d'autres, multifactorielles. Les gènes dominants ou semi-dominants expriment la résistance à l'état hétérozygote, donc rapidement après que l'acaricide ait commencé d'être utilisé.

Les récessifs ne sont "avantagés" qu'à l'état homozygote; ce qui est extrêmement rare si le gène n'est pas fréquent dans la population (16).

Les résistances peuvent demeurer inapparente pendant plusieurs années, avant de se révéler avec une grande intensité. De même, elles peuvent persister parfois longtemps après l'interruption de la pression de sélection.

En résumé :

En Afrique occidentale les espèces de tiques parasites du bétail sont très nombreuses. la particularité de leur biologie et leur rôle pathogène important constituent une sérieuse menace au développement de l'élevage. Par conséquent, la nécessité impérieuse d'une lutte contrôlée s'impose. L'efficacité de cette lutte à l'aide d'acaricides organophosphorés doit reposer sur la maîtrise d'une méthodologie permettant d'apprécier le comportement de ces arthropodes face aux composés organophosphorés.

Des aspects de la question feront l'objet de la deuxième partie de notre travail.

DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE

Cette partie de notre travail comporte trois parties :

- * Chapitre I : Matériel et Méthode d'étude**
- * Chapitre II : Résultats**
- * Chapitre III : Discussion**

CHAPITRE - I : MATERIEL ET METHODE D'ETUDE

I-1. MATERIEL D'ETUDE

I-1-1. Les tiques

I-1-1-1. Origine des prélèvements

Les tiques qui ont été le support de nos expériences ont deux grandes origines.

Le premier lot a été prélevé sur le bétail au Nord du BENIN pendant l'hivernage et comprend les tiques des genres *Amblyomma variegatum*, *Baophilus geigy* et *Hyalomma marginatum rufipes*.

Le second lot a été prélevé au NIGER dans trois départements (NIAMEY, TAHOUA, MARADI), pendant les mois de décembre-janvier. Les prélèvements ont été effectués sur le bétail au niveau des centres de multiplication de l'Etat (Ibeceten, TAHOUA) des abattoirs et des marchés à bétail (NIAMEY, MARADI). Les lots sont essentiellement constitués de *Hyalomma impeltatum* (NIAMEY, MARADI, TAHOUA) et de *Baophilus geigy* (MARADI).

Une fois prélevés et avant d'être acheminées au laboratoire, les femelles gorgées sont conservées dans des boîtes de pétri.

L'humidité de l'air dans les boîtes est assurée par du coton légèrement imbibé d'eau.

I-1-1-2. Techniques d'élevage au laboratoire

Nous avons effectué cette opération en collaboration avec le département de Parasitologie de l'EISMY. Les femelles gorgées ont été identifiées une dernière fois, puis réparties dans plusieurs boîtes en fonction des espèces, des lieux de prélèvement et des dates de prélèvement. Elles sont ensuite placées à l'étuve à une température de 25-27°C.

L'humidité est toujours maintenue dans les boîtes afin d'assurer la survie des tiques et une meilleure ponte.

Notre travail portant sur les larves des tiques, seule une partie du cycle évolutif va nous intéresser. Il s'agit notamment de :

- la préoviposition, c'est à dire la période qui précède les premières pontes

Tableau n° 7 : Durée du cycle évolutif au laboratoire (du prélèvement des femelles à l'éclosion larvaire)

Lieu de prélèvement	Espèce de tiques	Nombre de femelles	durée moyenne en jours		
			Préoviposition	Oviposition	Incubation
Tahoua (NIGER)	<i>Hyalomma impeltatum</i>	85	11	27	38
Maradi (NIGER)	<i>Hyalomma impeltatum</i>	43	12	25	36
	<i>Boophilus geigyi</i>	6	7	13	30
Niamey (NIGER)	<i>Hyalomma impeltatum</i>	61	9	25	35
Province du Borgou (Nord BENIN)	<i>Amblyomma variegatum</i>	-	11	18	41
	<i>Boophilus geigyi</i>	-	6	9	9
	<i>Hyalomma marginatum rufipes</i>	-	8	16	24

- l'oviposition ou durée de la ponte ;
- l'incubation: temps qui se situe entre la période des pontes et les premières éclosions.

Pour la clarté de l'exposé, nous présenterons la durée de chacune de ces étapes dans un tableau (tableau 7).

1-1-1-3. Préparation des échantillons

Au total nous avons procédé à quatre prélèvements de larves, à une, deux, trois, puis quatre semaines d'âge. Elles sont immédiatement tuées par exposition au froid pendant un quart d'heure environ. Les larves sont ensuite comptées par lots de cent, puis placées dans des tubes numérotés.

Chaque lot est finement broyé dans un mortier, en présence de 1ml d'une solution tampon contenant du Triton (Triton x-100 dilué à 2 p.1000).

Le Triton est un détergent qui permet d'une part de libérer les molécules de cholinestérases des membranes cellulaires les rendant ainsi plus accessibles à leurs substrats et d'autre part de stabiliser ces enzymes.

Des broyats sont centrifugés à 3000 t/mn pendant 5 mn et les surnageants récupérés et répartis dans des tubes identifiés.

1-1-2. Matériel de laboratoire

1-1-2-1. Le spectrophotomètre

Nous avons utilisé un spectrophotomètre à affichage digital pour nos dosages.

1-1-2-2. Les réactifs

Quatre types de réactifs ont été nécessaires dans notre travail. Il s'agit de la solution tampon + le D.T.N.B. (Dithiobisnitrobenzoate); les substrats; les enzymes et les inhibiteurs.

a) La solution tampon ou tampon phosphate + D.T.N.B.

Elle est préparée de la manière suivante :

-verser 8,83 g de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ qu'on va dissoudre dans 800 ml d'eau distillée

- ajuster la solution à pH8 en ajoutant progressivement 60 ml de NaOH 1N et quelques gouttes par la suite

- verser la solution ainsi réalisée dans une fiole jaugée de 1 l et ajuster au trait de jauge avec de l'eau distillée

- ajouter le réactif D.T.N.B., soit 0,13 g/l de tampon phosphate

- transférer dans une bouteille brune et conserver au réfrigérateur.

b) Les substrats

Nous avons utilisé deux types de substrats :

- l'iodure d'acétylthiocholine

- l'iodure de propionylthiocholine.

La solution mère d'acétylthiocholine est obtenue en ajoutant 72,3 mg du produit dans 25 ml d'eau distillée. Nous avons ainsi une solution à 0,312 mM.

La solution de propionylthiocholine est obtenue de la même manière, en pesant cette fois ci 75,75 mg de produit.

Tous les réactifs sont purs et ont été obtenus chez SIGMA-CHIMIE (La Verpillière, France).

c) Les enzymes

Les surnageants que nous avons récupérés lors de la préparation des échantillons, constituent les enzymes que nous allons utiliser au cours des dosages.

Après la mesure de l'activité cholinestérasique le reste des enzymes est conservé au congélateur en attendant les inhibitions.

d) Les inhibiteurs

Comme composés organophosphorés nous avons utilisé le Dichlorvos, le Malathion, le Malaoxon, le Coumaphos non oxydé et le Coumaphos oxydé.

Pour chaque produit nous avons préparé d'abord une solution mère à 10^{-3} M et ensuite effectué des dilutions successives.

Les différentes dilutions de l'inhibiteur effectuées nous donnent des concentrations à 10^{-4} M ; 10^{-5} M ; 10^{-6} M etc. Tous les inhibiteurs sont purs et ont été obtenus chez Riedel de Haën (Belgique).

L'oxydation du coumaphos est réalisée au laboratoire par la technique suivante :

- peser 61,7 mg de Coumaphos qu'on va mettre dans 8,5 ml d'eau déminéralisée
- ajouter 250 ml d'eau de brome
- attendre 10 mn
- ajouter à la solution ainsi réalisée 1,5 ml d'une solution d'albumine à 10 % (500 mg d'albumine dans 5 ml d'eau déminéralisée).

1-1-2-3. Les accessoires

Nous avons essentiellement utilisé comme accessoires :

- un bain thermostaté
- un vortex
- un chronomètre
- des micropipettes de type Pipettman de 5 ml et de 1 ml avec des embouts adaptés
- des cuvettes de spectrophotomètre
- des béchers
- un bac pour la récupération des tubes
- des portoirs et des tubes en plastique

1-2. METHODE D'ETUDE

Il s'agit pour nous d'apprécier dans un premier temps la sensibilité des tiques vivantes aux acaricides organophosphorés et dans un second temps de mesurer l'activité cholinestérasique sur des échantillons préparés au laboratoire. Enfin, nous avons apprécié expérimentalement l'inhibition par des composés organophosphorés de l'activité cholinestérasique.

1-2-1. Mesure de la sensibilité des tiques par le test FAO

Cette étude représente pour nous une enquête épidémiologique et elle a été effectuée au laboratoire de Parasitologie de l'EISMV. En effet il s'agit d'étudier le comportement des tiques vis-à-vis des acaricides organophosphorés.

Le protocole expérimental est basé sur l'utilisation de papiers imprégnés d'acaricides organophosphorés à différentes concentrations (0,8 p.100 ; 0,4 p.10

Tableau n° 8 : Feuille de résultats

Test FAO pour mesurer la résistance des tiques aux Acaricides

<u>Analyste :</u>	<u>Espèce de tique</u>	<u>Date de la collecte des tiques</u>
<u>Laboratoire :</u>	<u>Acaricides déjà employés sur les animaux choisis, porteurs de tiques</u>	<u>Lieu de la collecte des tiques</u>

ACARICIDE :				
Concentration	Morts	Total	Mortalité %	Mortalité corrigée %
Papier témoin				
Date du test				

0,2 p.100 ; 0,1 p.100). Les larves de tiques sont prélevées par lot pour chaque espèce, et enveloppées dans les papiers imprégnés, puis placées à l'étuve à 25°C pendant 24 heures. Une paire de papiers témoins est prévue pour chaque espèce de tiques.

On procède ensuite au comptage des larves vivantes et des larves demeurées en vie afin de calculer pour chaque lot le pourcentage de mortalité selon les concentrations d'acaricides utilisées. Les pourcentages de mortalité pour chaque lot sont consignés dans un tableau (tableau 8).

1-2-2. Dosage des cholinestérases

Il existe plusieurs méthodes de dosage des cholinestérases :

- les méthodes Titrimétriques (titrage de l'acide acétique libéré au cours de l'hydrolyse...)
- les méthodes gazométriques (mesure du gaz carbonique formé par action de l'acide acétique libéré sur le liquide de Ringer...)
- les méthodes Electrométriques (mesure de l'abaissement de pH en milieu tamponnée...)
- les méthodes colorimétriques.

Dans notre travail nous nous sommes intéressés aux méthodes colorimétriques, particulièrement à celle du dosage photométrique de la couleur jaune produite par réaction de la thiocholine avec le Dithiobisnitrobenzoate (D.T.N.B.). C'est la méthode d'Ellman.

1-2-2-1. Principe du dosage des cholinestérases par la méthode d'Ellman

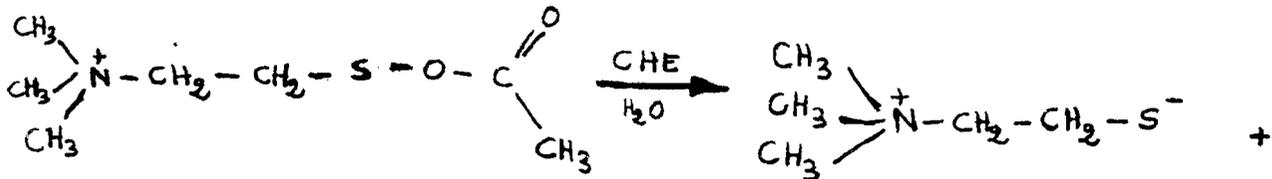
Les cholinestérases hydrolysent l'acétylthiocholine en thiocholine et en acétate.

La thiocholine libérée réagit avec le Dithiobisnitrobenzoate (D.T.N.B.) pour former un ion dithionitrobenzoate et le thionitrobenzoate qui est de coloration jaune.

La vitesse avec laquelle cette coloration jaune apparaît et s'intensifie est mesurée au spectrophotomètre à la longueur d'onde de 405 nm. la coloration jaune observée est en corrélation positive avec l'importance de l'activité cholinestérasique de l'échantillon étudié (9).

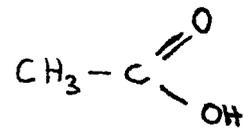
Le spectrophotomètre mesure cette coloration en variation de densité optique (D.O) pendant un temps donné.

La réaction chimique peut s'écrire :



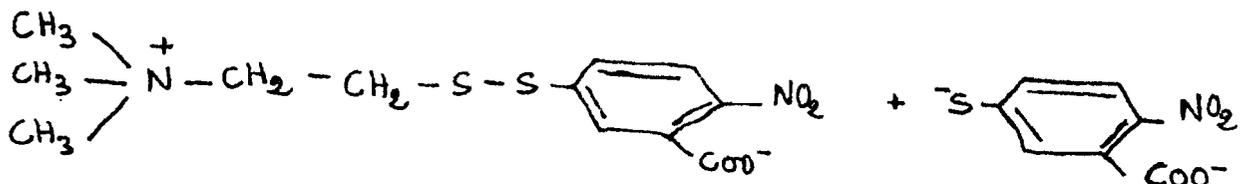
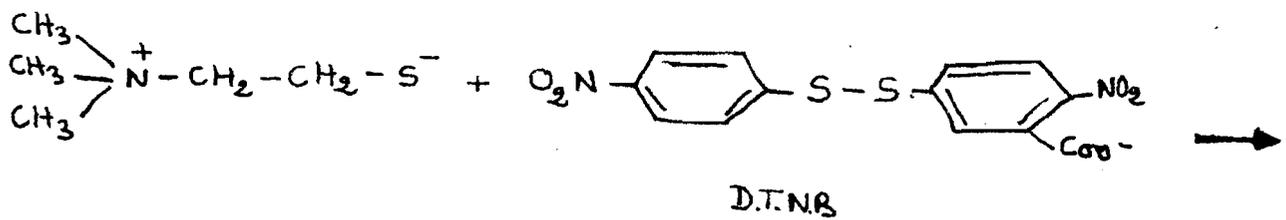
Acétylthiocholine

Thiocholine



acide acétique

Hydrolyse de l'acétylthiocholine



Réaction Thiocholine/D.T.N.B.

1-2-2-2. Mesure de l'activité cholinestérasique des tiques

Le premier objectif de notre travail est d'apprécier l'activité cholinestérasique des tiques par la méthode d'Ellman.

A- Protocole expérimental

Des tubes contenant 1,5 ml de tampon phosphate sont placés au bain-marie à 37°C.

Une fois l'équilibre thermique réalisé, nous y ajoutons à l'aide d'une micropipette 0,1 ml d'enzyme. Le mélange est homogénéisé au vortex et remis au bain-marie.

Nous ajoutons ensuite 0,1 ml de substrat ; une fois homogénéisé le mélange final est versé dans la cuvette du spectrophotomètre. Celle-ci est introduite dans la cellule et le couvercle de l'appareil est rabattu. Le chronomètre qui était au zéro est aussitôt déclenché.

L'ensemble de toutes ces opérations durent moins de 15 secondes. Nous attendons qu'une minute s'écoule afin que le faisceau lumineux du spectrophotomètre s'adapte aux nouvelles conditions ; puis nous lisons la variation de densité optique (D.O) entre 1 mn et 6 mn. Nous pouvons ainsi calculer la variation de densité optique par minute ou par heure de réaction.

B- Conditions requises pour un bon dosage

Afin de pouvoir minimiser les sources d'erreurs, nous avons pris un certain nombre de précautions.

- Lors de la préparation de nos enzymes, nous avons pris la précaution de broyer finement les larves dans le mortier avant d'ajouter notre solution de Triton.

- Avant de commencer les mesures, le spectrophotomètre est stabilisé au moins 30 mn après l'avoir branché au secteur.

- Avant toute mesure, nous mettons l'appareil au zéro avec de l'eau distillée.

- Nous avons respecté la même température (37°C) pour toutes nos mesures.

- Pour éviter les intercontaminations entre réactifs, nous réservons toujours le même embout pour le même réactif et ceci pour ne pas épuser rapidement notre stock.

- Le contenu d'un tube est toujours homogénéisé au vortex avant d'en

pipetter le contenu.

- Un substrat décongelé est utilisé dans les 48 heures car son activité diminue avec le temps du fait de l'hydrolyse spontanée.

- Les enzymes décongelées sont aussitôt analysées et ne sont plus recongelées.

C- Hydrolyse non enzymatique des substrats

En l'absence de toute enzyme l'acétylthiocholine et le propionylthiocholine subissent une hydrolyse spontanée au pH du milieu réactionnel (pH 8).

Nous avons donc procédé à l'évaluation de cette hydrolyse non enzymatique à travers ce qu'on appelle la mesure de l'activité optique du "blanc" selon le protocole suivant :

- à 1,5 ml du mélange tampon phosphate (D.T.N.B), ajouter 0,1 ml d'eau déminéralisée. Après homogénéisation du mélange final, mesurer la variation de densité optique entre 1 à 6 mn.

La variation de D.O du "blanc" sera soustraite de celle du mélange comprenant l'enzyme, afin de ne prendre en considération que l'activité enzymatique.

D- Cinétique de la réaction d'hydrolyse de l'Ach par l'AchE

Le taux d'hydrolyse de l'Ach par l'AchE est fonction de la concentration en substrats et la concentration en enzyme.

Nous avons commencé nos mesures avec des solutions de substrat à 1,25 mM. Les résultats que nous obtenions étaient alors très faibles.

Pour chercher la dilution optimale des substrats nous avons réalisé des dilutions croissantes à partir des solutions mères à 1,25 mM.

En mesurant les activités optiques de plusieurs échantillons nous avons obtenu un maximum de D.O. avec la solution à 0,312 mM.

D'autre part avec la solution de substrat à 0,312 mM, la variation de D.O du "blanc" est pratiquement nulle entre 1 et 6 mn, ce qui nous a amené à prendre directement en compte les résultats que nous lisons sur le spectrophotomètre lors des mesures.

Les valeurs de variations de D.O étant toujours assez faibles, nous n'avons pas jugé nécessaire de diluer nos échantillons. Les enzymes préparées ont donc été directement utilisées pour les dosages.

E- Méthode de calcul de l'activité cholinestérasique

La variation de densité optique de chaque échantillon est convertie en unité qui représente le nombre de nanomoles (nmoles) de substrats hydrolysés par larve de tique et par heure de réaction.

Cette unité est fonction du coefficient d'extinction du D.T.N.B., de la variation de D.O. par heure ($\Delta DO/h$) de l'échantillon en question et du nombre de larves homogénéisées.

$$A = \frac{\Delta DO/h}{1,36 \cdot 10^4} \times \frac{1,7}{0,1} \times \frac{10^9}{10^3 \times 100 \text{ larves/ml}}$$

Avec :

A = activité cholinestérasique en nmoles de substrat hydrolysé/larve/heure.

$1,36 \cdot 10^4$ = coefficient d'extinction du D.T.N.B.

$\frac{1,7}{0,1} = 17$ = taux de dilution de l'enzyme dans la cuvette

10^3 = moles de substrat/ml

10^9 = nmoles de substrat/ml

1-2-3. Inhibition par les organophosphorés

Après la détermination de l'activité cholinestérasique nous nous proposons à présent d'apprécier sur les mêmes échantillons le degré d'inhibition des acaricides organophosphorés. Pour cette étude nous avons recherché expérimentalement la concentration inhibitrice 50 % pour chaque composé organophosphoré en fonction des échantillons.

1-2-3-1. La technique d'inhibition

Avant toute inhibition, nous avons mesuré une seconde fois l'activité cholinestérasique de chaque échantillon, afin de nous assurer de la qualité des enzymes après la décongélation.

La méthode est toujours celle de Ellman (9) et comme substrat nous avons utilisé l'acétylthiocholine.

La composition du mélange réactionnel est la suivante :

composition du mélange	volume(ml)
- tampon phosphate + D.T.N.B.	1,4
- Enzyme	0,1
- Inhibiteur (suivant dilution)	0,1
- Acétylthiocholine (0,312 mM)	0,1
- total	1,7 ml

A- Hydrolyse non enzymatique du substrat

Lors de la préparation du mélange réactionnel nous avons constaté qu'il y avait une hydrolyse du substrat due à l'inhibiteur. Cette hydrolyse est d'autant plus importante que la concentration de l'inhibiteur est élevée. C'est pourquoi, avant toute série de mesures nous effectuerons le dosage d'un "blanc" (tout sauf l'enzyme). Cette valeur sera ainsi retranchée de toutes les mesures effectuées par la suite.

B- Influence de la durée d'incubation

En pratique, avant d'ajouter le substrat dans le mélange réactionnel, nous laissons incuber pendant un certain temps le mélange enzyme-inhibiteur dans le tampon phosphate au bain-marie ; ceci parce que notre spectrophotomètre n'est pas thermostaté.

A partir de 10 mn d'incubation, nous avons pu remarquer que la durée d'incubation n'a plus d'influence sur le degré d'inhibition. Cela nous a donc amené à choisir 10 mn d'incubation pour toutes nos mesures.

1-2-3-2. Détermination de l'inhibition 50 % (I₅₀)

En portant sur un graphique en ordonnée le pourcentage d'inhibition (% I) et en abscisse le logarithme de la concentration de l'inhibiteur (Log (I)), on obtient une droite d'équation $y = ax+b$.

Afin de pouvoir calculer le I₅₀, nous remplaçons dans l'équation y par 50 ; nous obtenons ainsi X qui représente la concentration de l'inhibiteur qui entraîne 50 % d'inhibition de l'activité enzymatique.

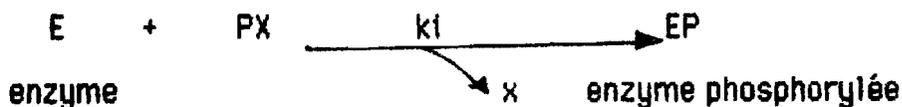
Cette concentration (en moles) est ensuite convertie en mg de produit à partir de la masse molaire de chaque acaricide.

1-2-4. Constante bimoléculaire de vitesse k_i

Cette manipulation était prévue dans notre travail. Cependant vu le peu d'enzyme dont nous disposions, nous n'avons pu l'effectuer. Néanmoins, nous allons rappeler brièvement le principe de la méthode.

L'étude consiste en l'appréciation de la cinétique de formation du complexe enzyme-inhibiteur.

Si nous considérons un composé organophosphoré comme étant un groupement phosphorylé P lié à un leaving group X pour former PX, le schéma d'inhibition enzymatique peut être présenté comme suit :



Ceci représente une simple réaction bimoléculaire entre E et PX pour former EP. La réaction est régie par la constante bimoléculaire de vitesse k_i .

Aldridge (45) propose cette formulation quand il reconnut que l'inhibition de l'acétylthiocholinestérase par le paraoxon était progressive dans le temps et suivait une courbe exponentielle (figure 8).

La concentration initiale en enzyme $[E]_0$ est équivalente à la somme des concentrations d'enzyme libre $[E]$ et d'enzyme phosphorylée $[EP]$: $E_0 = E + EP$

La vitesse de réaction est donnée par :

$$-\frac{d[E]}{dt} = -\frac{d([E]_0 - [EP])}{dt}$$

Le réarrangement de l'équation :

$$\frac{d[EP]}{dt} = k_i ([E]_0 - [EP]) [E]_0$$

en vue de l'intégrer entre les limites $[EP] = 0$ lorsque $t=0$ et $[EP] = [EP]$ lorsque $t=t$ donne:

$$\ln \left(\frac{[E]_0}{[E]_0 - [EP]} \right) = k_i [I] t$$

Cette équation est convertie en une forme qui utilise les valeurs déterminées expérimentalement. V et V_0 en substituant $\left(\frac{V_0}{V}\right)$ à $\left(\frac{[E]_0}{[E]_0 - [EP]}\right)$

on a alors :

$$\ln \left(\frac{V_0}{V} \right) = k_i [I] t$$

$$\text{ou } \ln V_0 - \ln V = k_i (I) t$$

Les dimensions de k_i sont $(\text{moles/l})^{-1} t^{-1}$ et sont celles d'une constante bimoléculaire de vitesse.

1-2-5. Estimation de la moyenne à partir d'un échantillon de taille

n

$$\text{La moyenne (m) est: } m = \frac{\sum x_i}{n}$$

avec x_i = la valeur de la variable étudiée pour un échantillon.

$$\text{L'erreur sur la moyenne vaut: } \frac{t s}{\sqrt{n}}$$

$$\text{avec } S = \text{écart type} = \sqrt{s^2}$$

$$s^2 = \frac{\sum (x_i - m)^2}{n-1} = \text{VARIANCE}$$

t est donné par la table de student en fonction du degré de liberté ($ddl = n-1$) et de la probabilité ($\alpha = 0,05$).

Les différentes moyennes que nous aurons dans nos résultats s'exprimeront sous la forme :

$$m \pm \frac{t s}{\sqrt{n}}$$

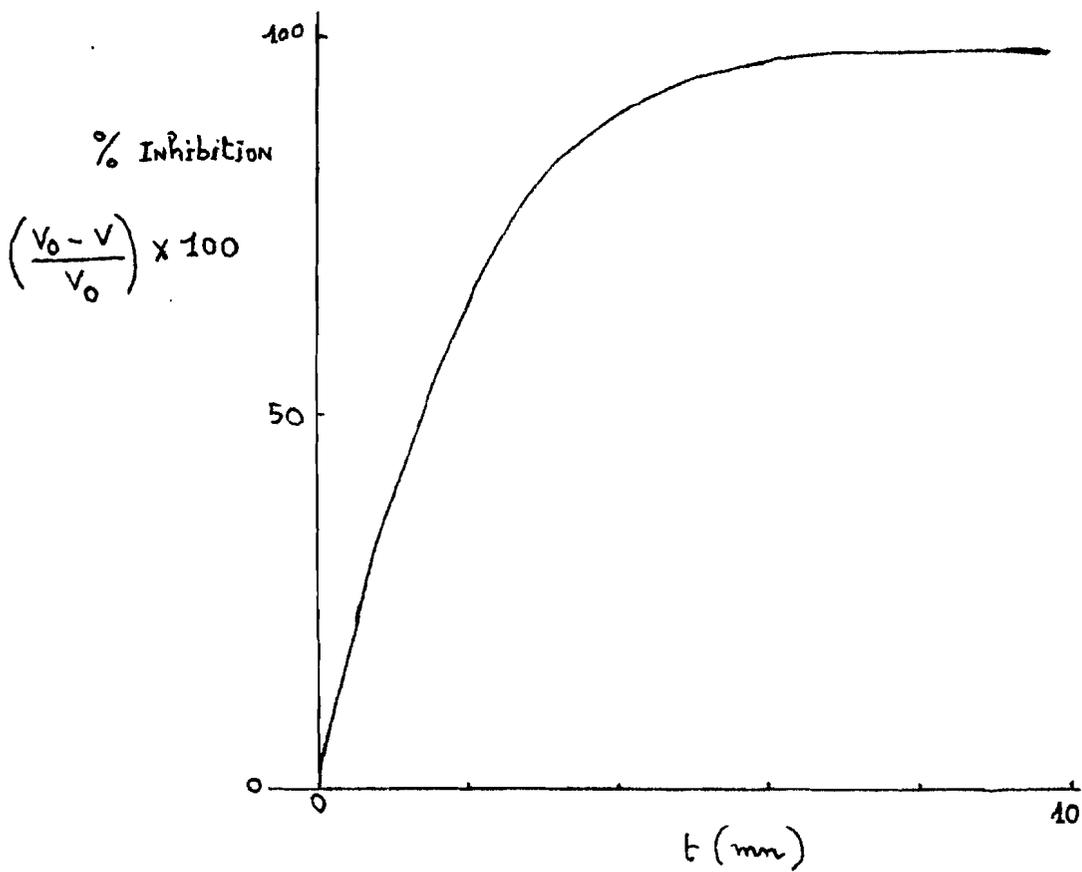


Figure 8 Courbe d'inhibition de l'acetylcholinesterase
par le PARAOXON

Source (45)

CHAPITRE II - RESULTATS

II-1. SENSIBILITE DES LARVES PAR LE TEST FAO

Nous avons utilisé trois acaricides organophosphorés : le Coumaphos, le diazinon et le dioxithion.

Le Coumaphos utilisé à des concentrations de 0,1 à 1,6 p.100 entraîne une mortalité à 100 p.100, chez toutes les larves que nous avons testées.

Seules les larves d'*Amblyomma variegatum* présentent une certaine résistance à des faibles concentrations de diazinon et de dioxithion.

En effet, il faut au moins des concentrations égales à 0,4 p.100 pour entraîner une mortalité à 100 p.100.

II- 2. ANALYSE DE L'ACTIVITE CHOLINESTERASIQUE

Les résultats que nous avons obtenus sont consignés dans des tableaux dont nous donnons un exemple (tableau 9).

Pour une meilleure analyse des résultats nous avons choisi de les représenter sous forme d'histogrammes.

II-2-1. Variation de l'activité cholinestérasique en fonction du substrat

Lors de nos mesures, nous avons pu remarquer qu'en général pour tous les échantillons, on arrivait à obtenir avec l'acétylthiocholine des résultats plus élevés qu'avec le propionylthiocholine (figure 9).

II-2-2. Variation de l'activité cholinestérasique en fonction de l'âge des tiques

L'âge n'a pas la même influence sur toutes les espèces de tiques. Nous avons en effet constaté (Figures 10, 11 ET 12) :

- Une augmentation très significative de l'activité des cholinestérasases avec l'âge des larves chez *Amblyomma variegatum*.

Chez les larves de *Hyalomma impeltatum* l'activité demeure constante ou

augmente légèrement de J7 à J28 selon les lieux de prélèvement, alors qu'elle est dans tous les cas constante chez *Boophilus geigyi*.

- Enfin, chez *Hyalomma marginatum rufipes*, on remarque une augmentation assez significative à partir de J14.

11-2-3. Variation de l'activité cholinestérasique en fonction du lieu de prélèvement des tiques

Le milieu semble bien avoir une influence sur l'intensité de l'activité cholinestérasique. En effet pour une même espèce de tique, cette activité peut être plus ou moins importante selon les lieux de prélèvement. Les résultats obtenus avec les échantillons de *Boophilus geigyi* (souche BENIN et souche NIGER) ainsi que ceux de *Hyalomma impeltatum* (souche NIAMEY, TAHOUA, MARADI) illustrent bien ce phénomène (figure 11 et 12).

11-3 INHIBITION 50 % (I₅₀)

La dose inhibitrice 50 % (DI₅₀) est déterminée à partir de la droite l'inhibition (figure 13 et 14). Pour chaque acaricide cette dose a été estimée en mg/l (tableau 10).

11-3-1. Variation de la sensibilité en fonction du lieu de prélèvement et des espèces de tique

Chez une même espèce de tique nous avons pu remarquer une variation de la sensibilité en fonction du lieu de prélèvement.

La variation la plus significative au sein de la même espèce de tique est enregistrée avec le Dichlorvos chez *Boophilus geigyi*, avec une DI₅₀ de 0,87 mg/l pour la souche MARADI/NIGER et une DI₅₀ de 6,98 pour la souche Nord BENIN (TABLEAU 10)

11-3-2. Variation de la sensibilité en fonction de la présentation chimique de l'acaricide

Afin de pouvoir illustrer ce phénomène nous avons utilisé le même composé organophosphoré sous forme non oxydée et sous forme oxydée.

Les formes oxydées des acaricides que nous avons utilisées (malaoxon pour le malathion et coumaphos oxydé) se sont révélées comme on devait s'y attendre plus actives que les produits non oxydés.

Cependant dans le cas du Coumaphos non oxydé nous n'avons pu tracer les

droites d'inhibition parce qu'il n'y avait pas de relation linéaire entre les pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations en inhibiteur. Dans ce cas particulier il n'était pas possible de déterminer graphiquement les DI_{50} .

Nous avons donc choisi d'une manière arbitraire la concentration de 10^{-4} M afin de pouvoir effectuer les comparaisons. Cette concentration entraînait 100 p.100 d'inhibition de l'activité cholinestérasique avec le coumephos oxydé, tandis que la forme non oxydée n'entraînait qu'une inhibition de l'ordre de 75 p.100.

Tableau n° 9 : Activité cholinestérasique : *Hyalomma impeltatum*

Substrat : Acetylthiocholine

(TAHOUA/NIGER)

Age (jours)	DO 1 mn	DO 6 mn	DDO/5mn	DDO/mn	Activité cholinestérasique (Nmoles/h/larve)	Moyenne
J7	0,150	0,157	0,007	$1,4 \cdot 10^{-3}$	1,05	1,20 $\pm 0,29$
	0,160	0,169	0,009	$1,8 \cdot 10^{-3}$	1,35	
	0,181	0,187	0,006	$1,2 \cdot 10^{-3}$	0,90	
	0,185	0,193	0,008	$1,6 \cdot 10^{-3}$	1,20	
	0,176	0,186	0,010	$2 \cdot 10^{-3}$	1,50	
J14	0,303	0,311	0,008	$1,6 \cdot 10^{-3}$	1,20	1,56 $\pm 0,28$
	0,197	0,308	0,011	$2,2 \cdot 10^{-3}$	1,65	
	0,322	0,333	0,011	$2,2 \cdot 10^{-3}$	1,65	
	0,339	0,341	0,010	$2 \cdot 10^{-3}$	1,50	
	0,264	0,376	0,012	$2,4 \cdot 10^{-3}$	1,80	
J21	0,280	0,287	0,007	$1,4 \cdot 10^{-3}$	1,05	1,62 $\pm 0,68$
	0,398	0,408	0,010	$2 \cdot 10^{-3}$	1,50	
	0,321	0,334	0,013	$2,6 \cdot 10^{-3}$	1,95	
	0,339	0,355	0,016	$3,2 \cdot 10^{-3}$	2,40	
	0,230	0,238	0,008	$1,6 \cdot 10^{-3}$	1,20	
J28	0,242	0,255	0,013	$2,6 \cdot 10^{-3}$	1,95	1,86 $\pm 0,48$
	0,294	0,302	0,008	$1,6 \cdot 10^{-3}$	1,20	
	0,262	0,275	0,013	$2,6 \cdot 10^{-3}$	1,95	
	0,331	0,344	0,013	$2,6 \cdot 10^{-3}$	1,95	
	0,381	0,296	0,015	$3 \cdot 10^{-3}$	2,25	

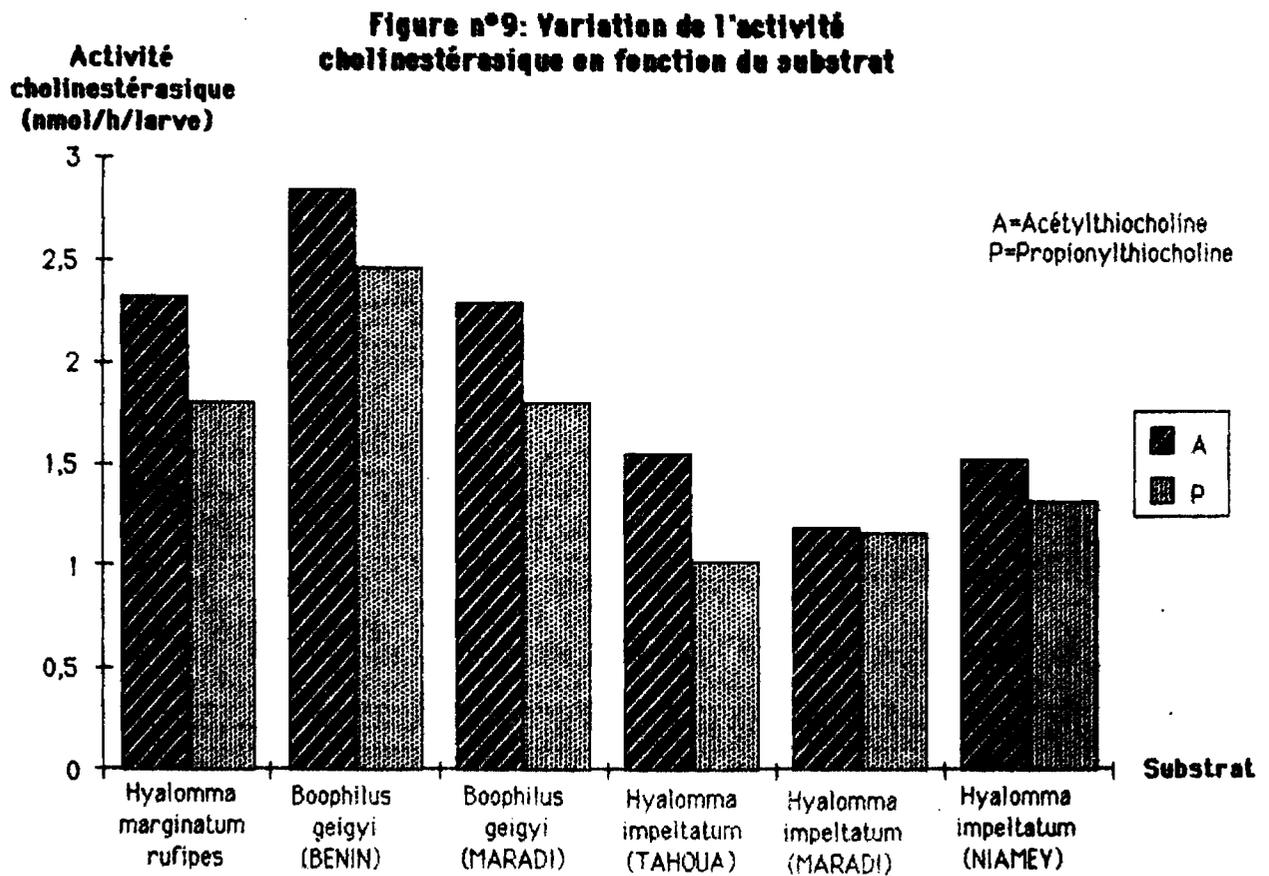


Figure n°10: Variation de l'activité cholinestérasique en fonction de l'âge chez *Amblyomma variegatum*

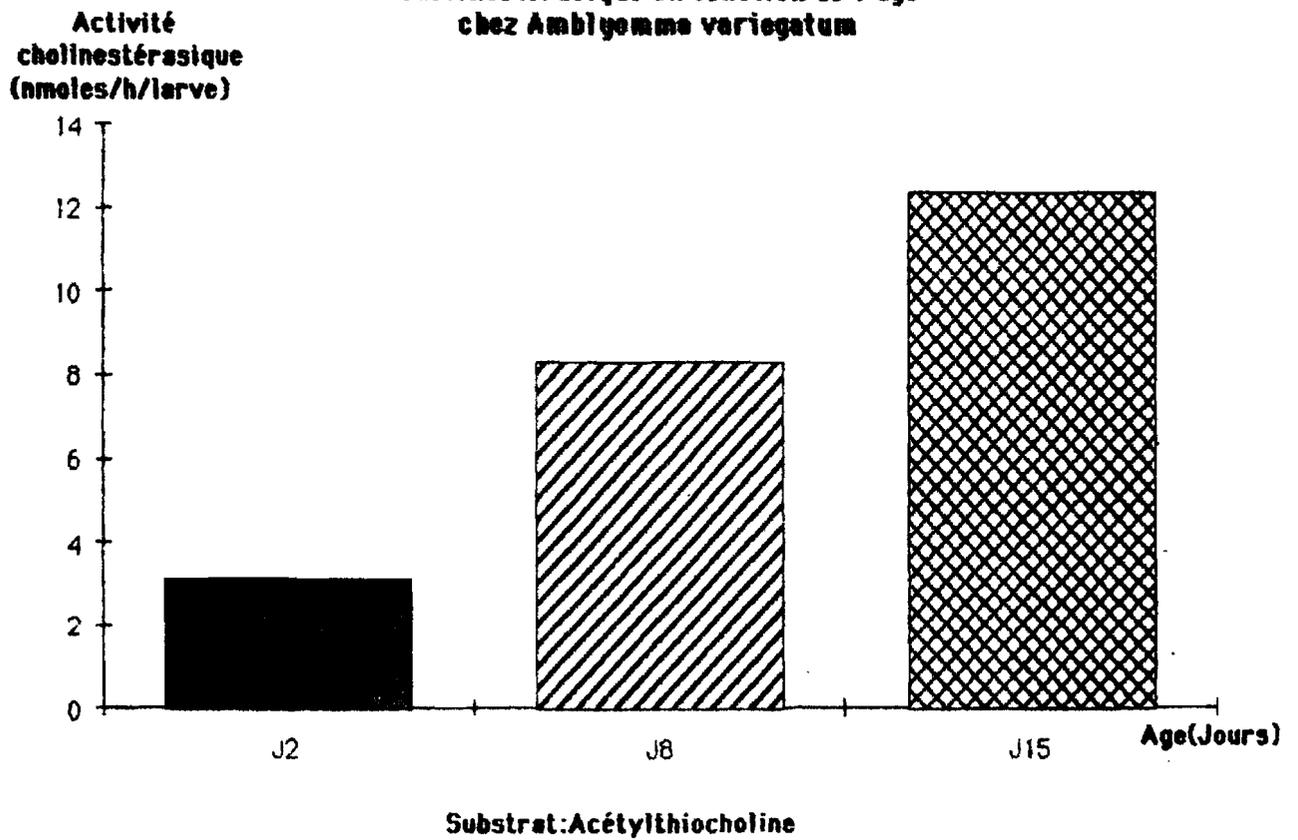
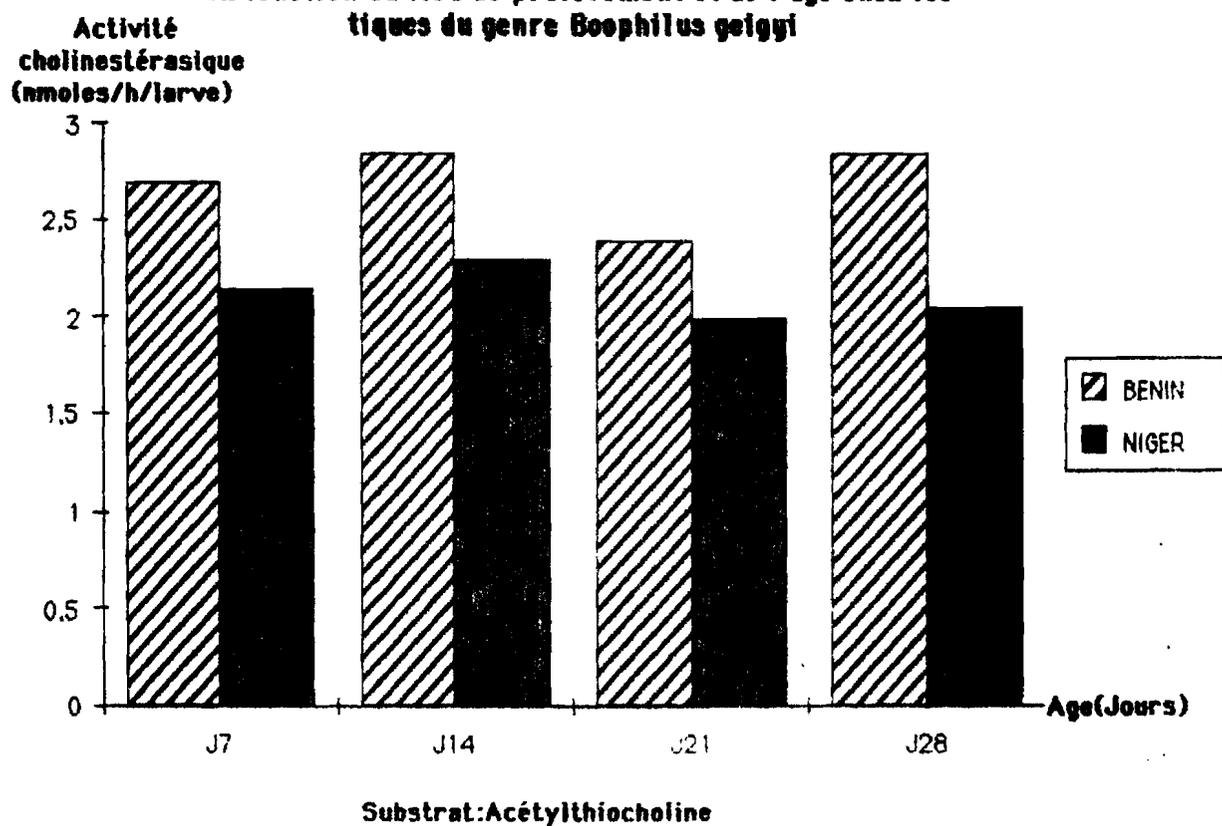


Figure n°11: Variation de l'activité cholinestérasique en fonction du lieu de prélèvement et de l'âge chez les tiques du genre *Boophilus* geiggi



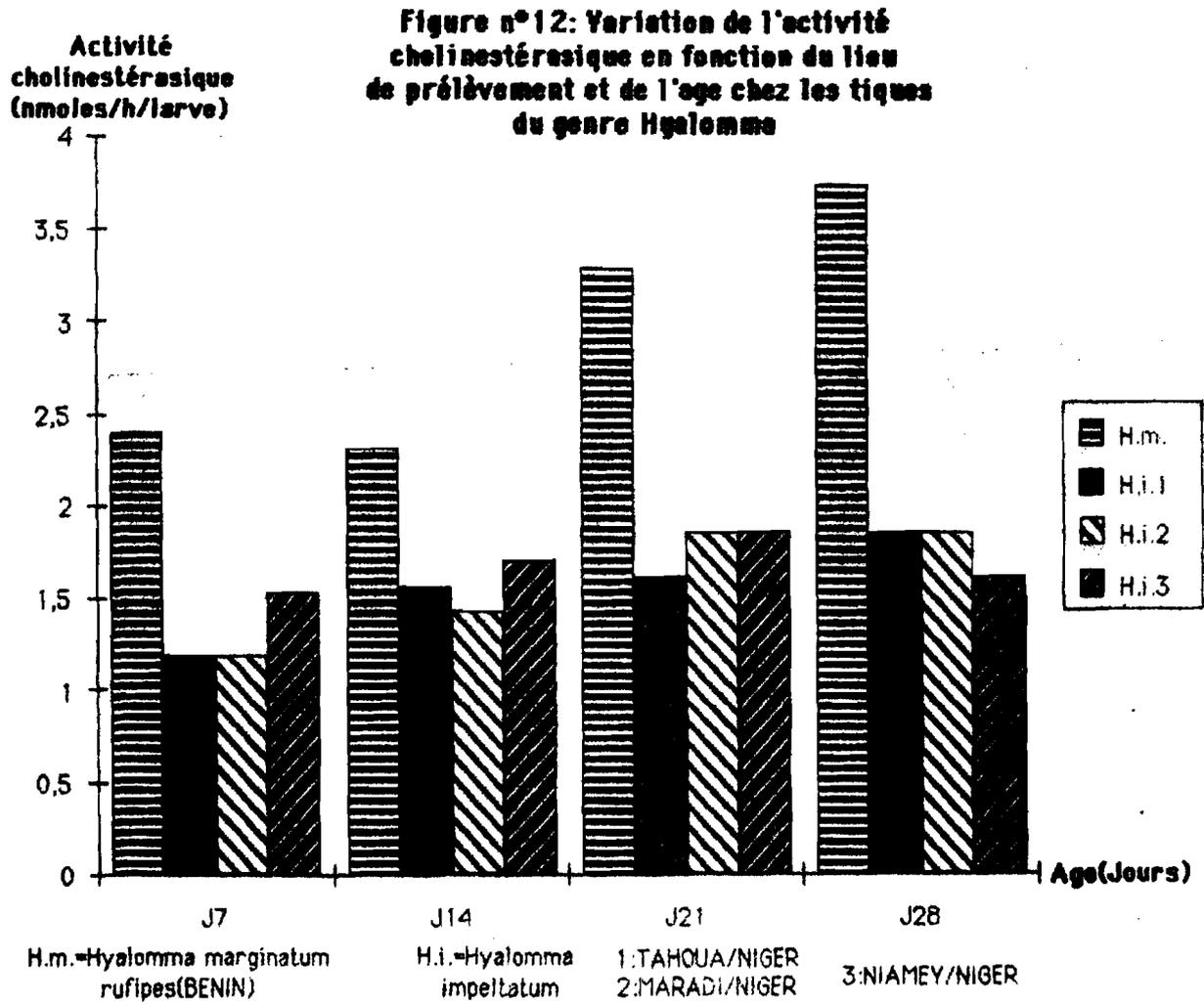


Figure n°13: Droite d'inhibition
du Dichlorves chez *Hyaemema*
impeltatum(TAHOUA/NIGER)

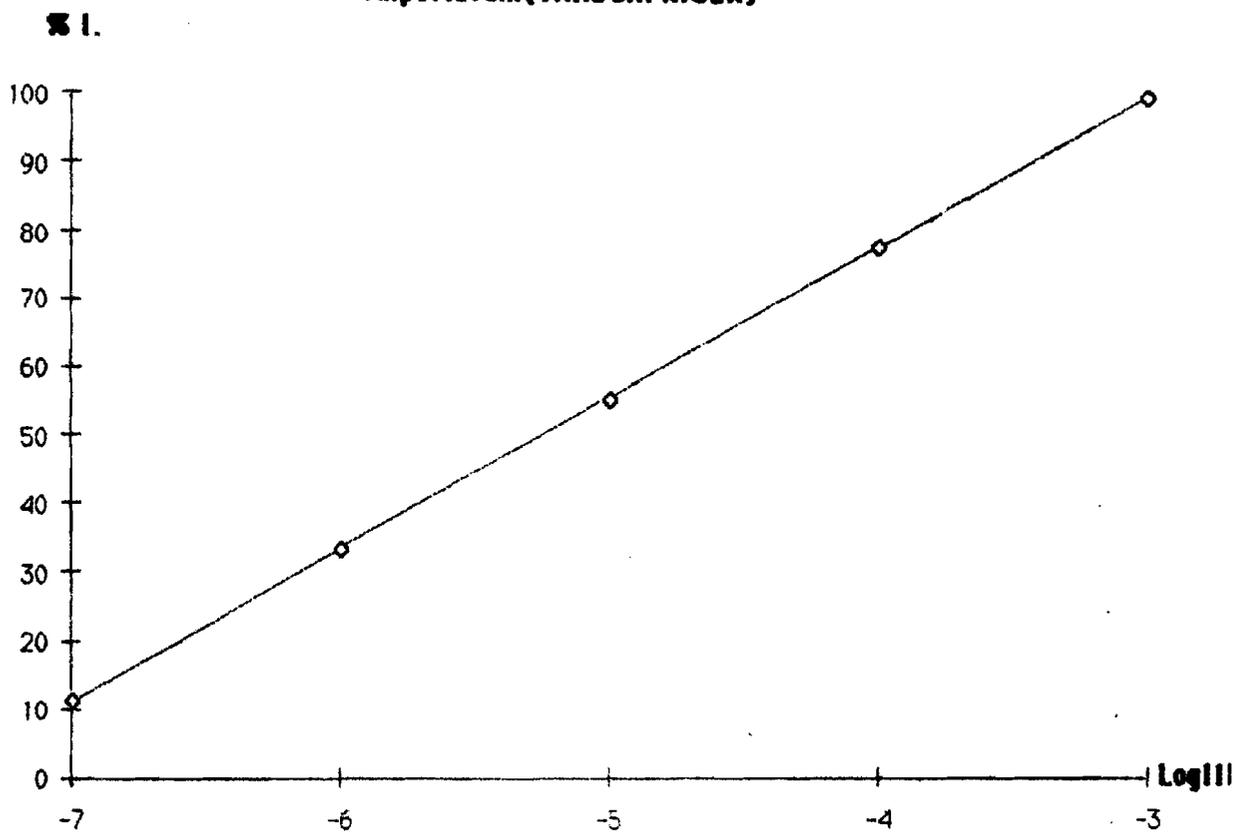


Figure n° 14: Droite d'inhibition du malathion chez *Hyaloma marginatum rufipes*

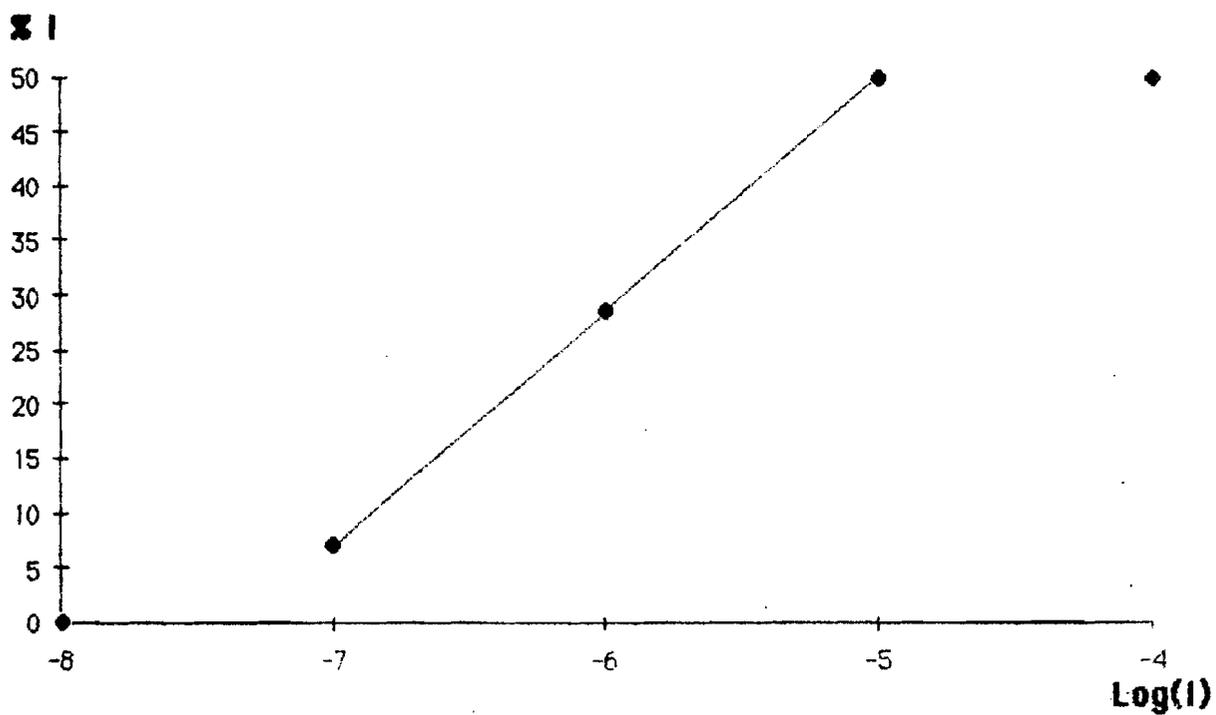
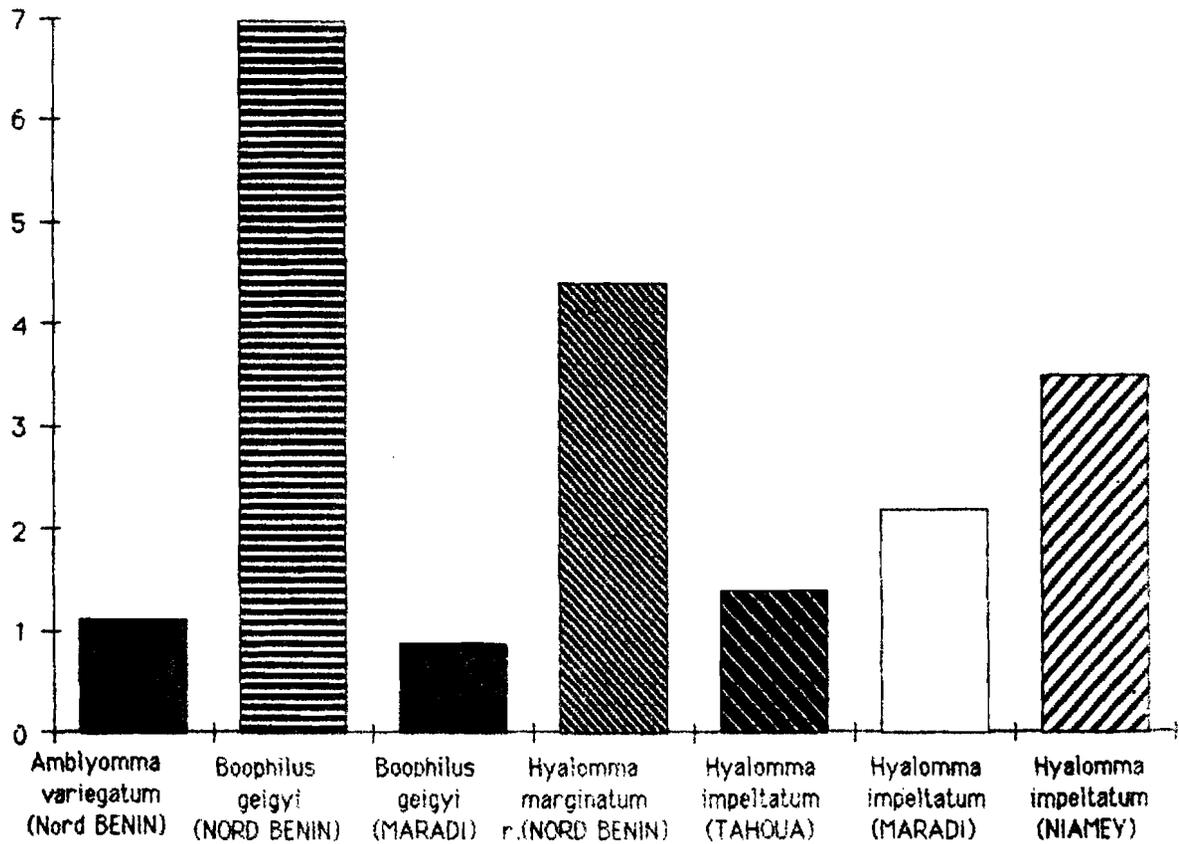


Tableau n° 10 : Résultats de l'inhibition 50 p.100 (I_{50}) de l'activité cholinestérasique par les acaricides organophosphorés

Espèce de Tiques	Acaricides : Dose inhibitrice 50 p.100 (mg/l)			
	DICHLORVOS	MALATHION	MALAOXON	COUMAPHOS OXYDE
<i>Amblyomma variegatum</i> (Nord BENIN)	1,12	-	-	-
<i>Boophilus geigyi</i> (Nord BENIN)	6,98	-	$1,57 \cdot 10^{-3}$	-
<i>Boophilus geigyi</i> (MARADI/NIGER)	0,87	-	$4,98 \cdot 10^{-2}$	-
<i>Hyalomma marginatum rufipes</i> (Nord BENIN)	4,40	-	$4,43 \cdot 10^{-3}$	-
<i>Hyalomma impeltatum</i> (TAHOUA/NIGER)	1,39	-	$3,14 \cdot 10^{-2}$	$1,23 \cdot 10^{-2}$
<i>Hyalomma impeltatum</i> (MARADI/NIGER)	2,20	-	$1,57 \cdot 10^{-2}$	$3,88 \cdot 10^{-3}$
<i>Hyalomma impeltatum</i> (NIAMEY/NIGER)	3,50	-	-	$1,38 \cdot 10^{-2}$

Dose inhibi-
trice 50%
(DI50) mg/l

Figure n° 1 :Variation de la DI50 en
fonction du lieu de prélèvement et des
espèces de tiques. Acaricide:DICHLORVOS



CHAPITRE III : DISCUSSION

III-1. DU CHOIX DES TIQUES ET DES LIEUX DE PRELEVEMENT DES TIQUES

Notre souci au départ était de pouvoir étudier comparativement la sensibilité des acaricides organophosphorés de plusieurs espèces de tiques parasites habituels du bétail. Nous avons commencé nos travaux avec des tiques prélevées au Bénin. Afin de pouvoir étudier aussi les variations de sensibilité en fonction des localités, nous avons effectué des prélèvements au Niger (Pays limitrophe du Bénin).

Cependant nous avons été limité dans nos choix des espèces car la période de prélèvement au Niger était située aux mois de Décembre-Janvier, une période généralement peu favorable au développement des tiques.

III-2. DU CHOIX DES SUBSTRATS

Nous avons choisi l'acétylthiocholine et le propionylthiocholine comme substrats dans le but de connaître celui qui a le plus d'affinité pour nos enzymes.

Pour mieux apprécier le pouvoir inhibiteur des acaricides, il est important d'avoir une activité cholinestérasique qui soit au départ assez élevée.

Lors du dosage de l'activité cholinestérasique de nos échantillons, les réponses enzymatiques les plus élevées étaient celles obtenues avec l'acétylthiocholine. C'est donc la principale raison qui nous a conduit à le choisir pour la détermination de l'inhibition 50 p.100.

III-3. DU CHOIX DES INHIBITEURS

C'est principalement le disponible en enzyme qui limite le choix de nos acaricides. Nous avons jugé qu'il fallait choisir au moins un représentant pour chacune des classes d'organophosphorés les plus utilisées encore en Afrique occidentale. Il s'agit notamment du Dichlorvos (classe des Phosphates), le Coumaphos (Thiono-phosphate) et le malathion (Thionothiophosphate).

L'oxydation in vivo de certains dérivés soufrés conduit à la formation de dérivés oxygénés plus actifs ; c'est pour cette raison que nous avons choisi certains de nos inhibiteurs sous forme non oxydée et sous forme oxydée.

III-4. DES RESULTATS

III-4-1. Test FAO sur la sensibilité des tiques aux acaricides

Les tiques qui ont été le support de notre travail proviennent généralement d'un élevage où il n'existe pratiquement pas de politique de lutte avec les acaricides organophosphorés.

Ceci est un élément qui pourrait expliquer leur comportement aux produits que nous avons utilisés.

Le manque de papiers imprégnés avec des concentrations inférieures à 0,1 p.100 nous a limité dans la recherche d'éventuelles variations de sensibilité entre les différentes espèces et ceci nous paraît très important.

III-4-2. Activité cholinestérasique

Les résultats que nous avons obtenus révèlent qu'il y a chez les tiques parasites du bétail au NIGER et au BENIN, des variations de l'activité cholinestérasique en fonction de plusieurs facteurs :

- en fonction de l'âge des tiques, nos résultats ouvrent la voie à une confrontation avec les données de la bibliographie. FRED (10) montra que l'activité cholinestérasique augmente significativement avec l'âge chez *Amblyomma americanum*, *Amblyomma cajense* et *Amblyomma maculatum*. l'auteur constate aussi une activité constante avec l'âge chez deux souches différentes de *Boophilus microplus*.

Les résultats que nous avons obtenus avec *Amblyomma variegatum* et *Boophilus geigyi* (souche du Bénin et souche du Niger) illustrent bien ces constats.

- en fonction du substrat, les cholinestérasases se sont révélées plus actives avec l'acétylthiocholine. Cette augmentation de l'activité bien que peu significative par rapport au propionylthiocholine est en conformité avec les constatations faites par CISSE (31) sur l'encéphale du poisson.

- en fonction du lieu de prélèvement, nos travaux rapportent une faible variation de l'activité cholinestérasique entre les différentes souches de *Boophilus geigyi* et de *Hyalomma impeltatum*. Cependant dans certains cas cette variation peut être grande. C'est le cas des souches de *Boophilus microplus* étudiée par FRED (10). En effet l'auteur trouve pour la souche Escondido une valeur moyenne de 400 moles de substrat hydrolysé par g de tique par heure, contre seulement 50 moles/g/H chez la souche Tuxpan.

III-4-3. Inhibition par les organophosphorés

En général avec le même acaricide, nous n'avons pas pu mettre en évidence

une variation importante de la sensibilité au sein d'une même espèce de tique. Seules les souches de *Boophilus geigy* présentent une variation significative. En effet avec le Dichlorvos, la souche prélevée au Niger se révèle 8 fois plus sensible que celle provenant du Bénin.

L'oxydation des acaricides organophosphorés est un phénomène très important, car elle permet de rendre le produit plus actif. c'est notamment le cas du Malathion, dont la forme oxydée (le malaaxon) entraîne chez *Hyalomma marginatum rufipes* une DI_{50} environ 700 fois plus faible.

Les tiques étudiées sont elles résistantes à tel ou tel composé ?

La question est pertinente mais la réponse est difficile à donner actuellement pour plusieurs raisons.

Dans un premier temps, il faut maîtriser toute une méthodologie permettant une évaluation correcte du comportement vis-à-vis des composés chimiques. Dans un passé récent, le test de papier imprégné de la FAO a rendu bien de service puisque permettant un screening rapide. Toutefois, nous l'avons vu, les concentrations disponibles sont relativement élevées. en outre, le test ne permet qu'un constat (vie ou mort de la larve) et non de comprendre le mécanisme intime d'apparition éventuelle de phénomène de résistance.

De nos jours, de nouveaux tests sont disponibles pour comprendre le mécanisme d'apparition de ces phénomènes et mieux, de les prévoir.

Ensuite, on comprend aisément qu'avec les travaux d'une année il soit difficile de dire que telle tique est résistante à tel composé ou pas. toute comparaison faut-il le souligner est relative.

Les prochains travaux nous fixeront. Dans le cas présent tout ce qu'on peut approcher est le comportement des tiques des mêmes espèces obtenues au Bénin et au Niger. C'est le cas par exemple avec le Dichlorvos. S'il est difficile de dire si la souche *Boophilus geigy* obtenue au Bénin y est résistante, il est facile d'annoncer que celle du Niger y est plus sensible.

Notre travail représente donc une étape initiale très importante qui nous permettra avec les paramètres ainsi disponibles de conclure dans quelques années (ce qui nécessite une surveillance continue) si les arthropodes sont toujours sensibles aux organophosphorés étudiés. Conclure à partir de données ponctuelles à une résistance quelconque nous paraît peu prudent.

CONCLUSION GENERALE

Depuis leur apparition, les acaricides organophosphorés n'ont cessé de connaître une très large diffusion et une utilisation massive.

Il est cependant important de savoir qu'il n'y a pas dans nos pays d'acaricides employés judicieusement et méthodiquement car il est avant tout nécessaire de bien connaître les particularités de chaque espèce de tique.

Les informations déjà disponibles dans nos Etats au sujet de la sensibilité des tiques aux acaricides sont peu nombreuses et très fragmentaires; ce qui peut constituer un handicap dans les stratégies de lutte.

Dans le cadre de notre travail dont le but est d'élaborer une méthodologie fiable d'évaluation de la sensibilité des tiques aux acaricides organophosphorés quelques observations ont été faites :

- chez les tiques, les cholinestérases sont plus actives avec l'acétylthiocholine qu'avec le propionylthiocholine.

- L'activité cholinestérasique peut varier pour une même espèce de tique en fonction des localités. C'est ainsi que nous avons constaté une activité plus importante de *Boophilus geigyi* souche Nord Bénin par rapport à la souche du Niger.

- Les tiques *Amblyomma variegatum* sont 4 à 6 fois plus actives que toutes les autres espèces que nous avons étudiées. D'autre part, leur activité augmente significativement avec l'âge.

- Pour un acaricide donné, la dose inhibitrice 50 % de l'activité cholinestérasique (DI_{50}) varie en fonction des espèces de tique, et au sein d'une même espèce en fonction des souches.

Avec le Dichlorvos le DI_{50} varie de 0,87 mg/l à 6,98 mg/l, tandis qu'elle est en général de l'ordre du $\mu\text{g/l}$ avec le malaoxon et le coumaphos oxydé.

Nous avons pu remarquer qu'il n'y a pas nécessairement un lien entre l'importance de l'activité cholinestérasique et la sensibilité aux organophosphorés.

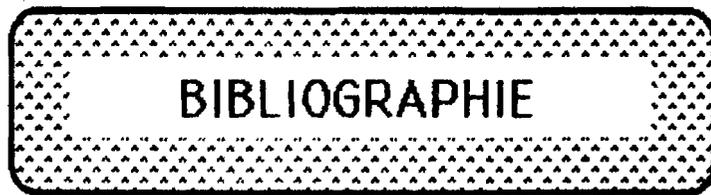
A titre d'exemple nous avons :

Espèce de tique	Activité cholinestérasique (nmoles/h/larve)	dichlorvos DI ₅₀ (mg/l)
<i>Boophilus geigyi</i>		
- souche Nord Bénin	2,85	6,98
- souche Maradi (NIGER)	2,25	0,87
<i>Amblyomma variegatum</i>	12,30	1,11

Dans un passé récent, les papiers imprégnés d'acaricides ont permis des recherches assez rapides sur la sensibilité des tiques. Mais aujourd'hui de nouveaux tests qui ont l'avantage d'approcher le mécanisme de ce comportement pour mieux les prévoir sont disponibles et maîtrisables.

Au terme de ce travail, il ressort que la mesure et l'inhibition de l'activité cholinestérasique par la méthode d'Ellman chez les tiques, peuvent être appliquées à l'évaluation de la sensibilité des tiques aux acaricides organo-phosphorés.

Ce travail qui constitue pour nous un repère ne sera valorisé que si les tiques des mêmes espèces et des mêmes régions sont suivies dans le temps. C'est pourquoi nous souhaitons qu'il soit élargi à d'autres espèces et à d'autres composés afin de pouvoir garantir le succès de la lutte contre les tiques parasites du bétail en Afrique.



BIBLIOGRAPHIE

1- ALDRIDGE (W.N.)

The differentiation of true and pseudocholinesterase by organophosphorus compounds.

Biochem. J. 1953, 53 : 62.

2- BARNETT (S.F.)

La lutte contre les tiques du bétail.

O.M.S. ; édit. Genève 1962, 132 : 98-108.

3- BURGAT (S.V.) ; PETIT (C.I.) ET BONNEFOI (M.)

Mode d'action et métabolisme des antiparasitaires externes.

Rev. Méd. Vét. 1988, 139 : 5-11.

4- CAMICAS (J.L.) ET MOREL (P.C.)

Cours sur les tiques (Acarions , Ixodida).

O.R.S.T.O.M., Paris 1976 ; 207 p.

5-COATS (J.R.)

Insecticide : mode of action.

Acad. Press ; edit. Londres 1982 ; 470 p.

6- COLY (S)

Mesure de l'activité cholinestérasique plasmatique et érythrocytaire : Application de l'effet des insecticides organophosphorés chez les manipulateurs.

Thèse méd. vét. Dakar 1988 ; 28.

7- CHRISTOPHERS (S.R.)

The anatomy and histology of ticks.

Scientific memoirs ; India 1906 ; 23p.

8- DIPEOLU (O.O.)

Etude sur les tiques à importance vétérinaire au Nigéria.

Bull. des santés et productions animales en Afrique : 1977 ; 25 : 25-32.

9- ELLMAN (L.) ; DIANE COURTNEY (K.) ; ANDRES (V.JR.) ; FEATHERSTONE (R.M)

A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase

activity.

Biochemical Pharmacology 1961 ; 7 : 88-95.

10- FRED (C.W.)

Effect of age on cholinesterase activity and protein of unfed larval ticks.

J. Parasitol. 1989 ; 75 : 6-10

11- FREDERIC (D.O.) ET GALUN (R.)

Physiology of ticks.

Current themes in tropical science I.C.P.E. 1980 ; 1 : 371-393

12- FORGASH (A.J.)

History, evolution and consequences of pesticide resistance.

Pest. Biochem. physiol. 1984 ; 22 : 178-186

13- GEVREY (J.)

Résistance aux insecticides et acaricides.

Rev. méd. vét. 1988 ; 139 : 27-33

14- GIACOBINI (E)

The distribution and localization of cholinesterase in nerve cells.

Acta-physio-scandinavica 1959 ; 156 ; 45 p.

15- HUGHES (T.E.)

Mites or the acari.

University of London 1959, 225 p.

16- JAMES (N.)

Mechanism of resistance to chemicals in arthropod parasites of veterinary importance.

Vet. Parasitol. 1985 ; 18 : 155-166

17- KEIDING (J.)

Persistence of resistant populations after relaxation of the selection pressure.

World Rev. Pest. Contr. 1976 ; 6 : 115-130

18- KHAN (A.A.) ; COPPOCK (P.W.) ; SCHULER (M.M.) ET LILLIE (L.E)

In vitro and in vivo effects of dichlorvos on blood cholinesterase activities of cattle.

American J. Vet. Res. 1980 ; 7 : 1184-1187

19- LEE (R.H.) et BATHAM (P)

The activity and organophosphate inhibitor of cholinesterase from susceptible and resistant ticks.

Entomol. Exp. Appl. 1966 ; 9 : 13-24

20- LEFLANG (P)

Tick-borne of domestic animals in northern Nigeria

Trop. Anim. Hlth. Prod. 1977 ; 9 : 147-152

21- LUGYRU (S.M.) ; BANDA (D.S.) ET PEGRAM (R.G.)

Susceptibility of ticks to acaricides in Zambia.

Trop. anim. Hlth. Prod. 1984 ; 16 : 21-26

22- MIKO (I)

Dynamique saisonnière des tiques en zone sahélienne (Région de Toukous, NIGER) relation avec les hotes vertébrés domestiques et sauvages.

Thèse Fac. Sciences d'Orsay-Paris-Sud. 1985

23- MONIQUE (P.D.)

Etude biochimique, pharmacologique et histochimique des cholinestérases des muscles striés chez les poissons, les batraciens et les mammifères.

Thèse-Sciences Nat. Paris- 1962

24- MOREL (P.C.)

Maladie à tiques du bétail en Afrique.

Précis-parasit. vét. trop. 1983, 3 : 317

25- MOREL (P.C.)

Tiques d'animaux sauvages en Haute Volta

Rev. Elev. Méd. Vét. Pays trop. 1977 ; 9 : 147-152

26- MOREL (P.C.)

La lutte contre les tiques.

Publication IEMVT 1976 ; 131 : 127-13

27- MOREL (P.C.)

Contribution à la connaissance de la distribution des tiques (Acaréens, Ixodidae et Amblyommidae) en Afrique Ethiopienne continentale.
Thèse méd. vét. I.E.M.V.T. 1969

28- MOREL (P.C.)

Tiques des animaux domestiques en Afrique occidentale Française.
Rev. Elev. Méd. Pays trop. 1958 ; 2 : 45-62

29- OPPENDORTH (F.J.)

Biochemistry and genetics of insecticide resistance.
Insect Control Pergamon 1985 ; 12 : 731-767

30- QUEDRAOGO (A)

Tiques des animaux domestiques de Haute Volta.
Thèse méd. vét. Dakar 1974 ; 4

31- PALY (C)

La mesure des cholinestérases chez les poissons des genres Tilapia et Clarias au Sénégal : application au suivi de la contamination du milieu aquatique par les insecticides organo-phosphorés.
Thèse méd. vét. Dakar 1989 ; 58

32- PARF (M)

L'utilisation actuelle des pesticides au Burkina Faso
Thèse méd. vét. Dakar 1985 ; 11

33- ROULSTON (W.J.) ET JAMES (N.)

Résistance en *Boophilus microplus* to cholinesterase inhibition and alterations in the site of action.
Environmental Quality and Safety supplement 1975 ; 3 : 416-420

34- SACCA (L)

Les tiques (Amblyommidae) parasites des bovins en République populaire du BENIN
Thèse méd. vét. Dakar 1982 ; 9

35- SAVER (J.R.) et HAIR (J.A.)

Physiology of ticks.
In: Morphology, physiology and behavioral biology of ticks- Oklahoma state University U.S.A. 1980 ; 510 p.

36- SCHUNTNER (C.A.) ; ROULSTON (W.J.) et SCHNITZERLING (H.J.)

A mechanism of resistance in organophosphorus acaricides in a strain of the cattle tick *Boophilus microplus*.

Austr. J. Biol. Sci. 1968 ; 21 : 97-109

37- SEN (A) et FLETCHER (L)

Veterinary entomology and acarology for India.

Indian council of agricultural research - New-Delhi 1965 ; 668 p.

38- SIDO (S)

Mesure de l'activité cholinestérasique chez les ruminants = application au diagnostic de l'intoxication par les insecticides organophosphorés.

Thèse méd. vét. Dakar 1967 ; 8

39- SOLOMON (K.R.) ; MAUREEN (K.B.) ; HELOISE (H.) et VAN KLEEF (J)

The use of frequency diagrams in the survey of resistance to pesticides in ticks in southern Africa.

Onderstepoort Journal of Veterinary Research 1979 ; 46 : 176-177

40- TAKAHIRO (S) et MORFUSA (E)

Effects of salixon and fenitroxon on altered acetylcholinesterase of organophosphate resistant housefly.

J. Pest. Sci. 1967 ; 12 : 17-21

41- THOMPSON (K.C.) ; ROA (J.) ; et ROMERO (T.N.)

Anti-tick grasses as the basis for developing practical tropical tick control package

Tropical Anim. Health Prod. 1973 ; 10 : 18-27

42- VASSILIADES (G)

Contribution à la connaissance de la tique africaine *Rhipicephalus senegalensis*,

Koch 1944.

Extrait annale Fac. Sci. Dakar 1964 ; tome 14 ; n°2

43- WALADDE (S.M.)

Une étude toxicologique et biochimique comparative des effets du coumaphos sur les larves de *haemaphysalis longicornis* et *Boophilus microplus*.

Bull. Santé Prod. Anim. Afr. 1976 ; 24 : 79-85

44- WALKER (C.H.) et MACKNESS (M.I.)

Estérases = problems of identification and classification.
Biochemical Pharmacology 1983 ; 32 : 32-65

45-WATTECAMPS (D)

L'inhibition des cholinestérases par les insecticides organophosphorés =
détermination des paramètres réactionnels.
Mémoire Gradué en biochimie ; Belgique 1988- IRCHUNWELZ n° 7801

SERMENT DES VETERINAIRES DIPLOMES DE DAKAR

"Fidèlement attaché aux directives de Claude Bougelat, fondateur de l'Enseignement Vétérinaire dans le monde, je promets et je jure devant mes maîtres et mes aînés:

* d'avoir en tous moments et en tous lieux, le souci de la dignité et de l'honneur de la profession vétérinaire.

* d'observer en toute circonstance, les principes de correction et de droiture fixés par le code déontologique de mon pays.

* de prouver par ma conduite, ma conviction que la fortune consiste moins dans le bien que l'on a que dans celui que l'on peut faire.

* de ne point mettre à trop haut prix le savoir que je dois à la générosité de ma patrie et à la sollicitude de tous ceux qui m'ont permis de réaliser ma vocation.

**QUE TOUTE CONFIANCE ME SOIT RETIREE S'IL ADVIENNE QUE
JE ME PARJURE "**

VU
LE DIRECTEUR
DE L'ECOLE INTER-ETATS
DES SCIENCES ET MEDECINE
VETERINAIRES

LE CANDIDAT

LE PROFESSEUR RESPONSABLE
DE L'ECOLE INTER-ETATS
DES SCIENCES ET MEDECINE
VETERINAIRES.

VU
LE DOYEN DE LA
FACULTE DE MEDECINE ET
DE PHARMACIE

LE PRESIDENT DU JURY

VU ET PERMIS D'IMPRIMER _____

DAKAR, LE _____

LE RECTEUR, PRESIDENT DU CONSEIL PROVISOIRE DE L'UNIVERSITE CHEIKH
ANTA DIOP DE DAKAR