

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE de TLEMCCEN
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers



Département de biologie

MEMOIRE

Présenté par

MANSOURI Ghania

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Microbiologie appliquée

Thème

**Détection moléculaire des *Acinetobacter* sp dans les poux de tête
(*Pediculus humanus capitis*) chez les écoliers de Tlemcen-Est.**

Soutenu le 23/06/2016, devant le jury composé de :

Présidente	MALEK Fadéla	MCB	Université de Tlemcen
Encadreur	DRISSI Mourad	Professeur	Université de Tlemcen
Co-Encadreur	BERREZAG Meryem	MAA	Université d'Oran
Examinatrice	BOUBLENZA Lamia	MCB	Université de Tlemcen

Année universitaire 2015-2016

REMERCIEMENTS

J'adresse de sincères remerciements du jury qui ont accepté de juger ce travail.

*Mes remerciements les plus sincères vont à Monsieur **Mourad DRISSI**, professeur à l'université de Tlemcen pour avoir accepté de diriger mon mémoire. Je vous remercie pour l'encadrement de ce travail, et pour votre enseignement et vos encouragements.*

*Mes vifs remerciements à **Madame BERZAG Meriem**, Maître de conférences à l'université d'Oran Pour m'avoir guidée tout au long de ce travail, pour sa confiance, sa disponibilité et son dynamisme.*

*J'adresse mes sincères remerciements à **Madame MALEK Fadéla**, Maître de conférences à l'université de Tlemcen, qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence de ce jury.*

*Je remercie profondément **Madame BOUBLENZA Lamia** d'avoir accepté de faire partie du jury et d'examiner ce travail.*

*Je tiens à remercier **Dr. Kernif Tahar** pour sa disponibilité, ses conseils, la riche documentation qu'il m'a procurée, sa patience et son calme m'ont été précieux.*

*Au **Dr Harrat Z** Pour m'avoir accueilli au sein de leur laboratoire au niveau de l'institut Pasteur à Alger.*

Merci à tous les membres du laboratoire d'institut Pasteur qui ont participé à la réalisation de ce travail.

*Enfin mes chaleureux remerciements vont à **mes parents**. Je remercie mes chers parents pour le soutien inestimable et permanent et les précieux conseils que m'avez donné.*

Liste des figures, des tableaux et des annexes

Liste des figures :

Figure 1. Représentation d'un épouillage en chenille (a) et avec un peigne à poux associé au vinaigre (b).

Figure 2. Représentation des trois espèces de poux colonisant l'homme (a, b et c)

Figure 3. Représentation de la Pédiculose du cuir chevelu

Figure 4. Position taxonomique du pou de tête *Pediculus humanus*

Figure 5. Morphologie du pou de tête

Figure 6. Représentation d'une espèce de pou de tête (*Pediculus humanus*)

Figure 7. Comparaison morphologique entre le pou mâle et le pou femelle

Figure 8. Représentation d'une Lente de *P. humanus capitis*

Figure 9. Représentation d'une Larve de *P. humanus*

Figure 10. Représentation des trois stades larvaires et stade adulte de *P. humanus capitis*

Figure 11. Schéma du cycle de développement de *P. humanus*

Figure 12. Représentation du typhus épidémique

Figure 13. Représentation d'un épouillage manuel (à gauche) et avec un peigne à poux (à droite)

Figure 14. Présentation de la zone d'étude

Figure15. Examen des cheveux des élèves

Figure 16. Principales étapes d'extraction d'ADN

Figure 17. Les principales étapes de la PCR en temps réel

Figure18. Les principales étapes d'électrophorèse sur gel d'agarose

Figure 19. Prévalence des élèves infestés de poux de tête en fonction du sexe.

Figure 20. Morphologie du pou de tête larve L2 (a), larve L3 (b), adulte mâle (c), adulte femelle (d).

Figure21. Etude morphologique du pou de tête.

Figure 22. Résultats de la PCR en temps réel

Figure 23. Résultats de l'électrophorèse sur gel d'agarose.

Liste des tableaux

Tableau 1. Composants du mix de la PCR en temps réel.

Tableau2. Résultats des indices parasitaires.

Tableau 3. Résultats de la PCR en temps réel.

Liste des annexes

Annexe1.

Liste des Abréviations

ADN : Acide Désoxyribose Nucléique.

AE: Elution Buffer.

AL: Lysis Buffer.

ATL: Tissue Lysis Buffer.

AW1: Wash Buffer 1.

AW2: Wash Buffer 2.

BET: Bromure d'Ethidium.

EDTA: Ethylène- Diamine- Trétri acetate.

O.N.S: Office nationale des statistiques

PCR : Polymerase chain reaction.

QPCR : PCR quantitative

SOMMAIRE

Remerciements

Liste des figures, des tableaux et annexes

Liste des abréviations

Introduction.....1

Première partie. Données bibliographiques

I. Le pou dans l'histoire..... 3

II. Définition..... 5

III. Systématique..... 6

IV. Morphologie.....7

IV.1. Adulte.....8

IV.2. Œuf..... 9

IV.3. Larve.....10

V. Physiologie.....10

V.1. Système respiratoire.....10

V.2. Système nerveux.....10

V.I. Cycle de vie.....11

V.II. Bio- écologie.....11

V.III. Epidémiologie.....12

I.X. Génétique des poux.....12

X. Infestation par les poux de tête.....13

X.I. Rôle infectieux.....14

X.I.1. *Acinetobacter bomanii*.....14

XI.1.1. Historique-taxonomie.....14

XI.1.2. Morphologie, métabolisme et habitat.....	15
XI.2. Les infections transmises par les poux de corps.....	16
XI.2.1. Le typhus exanthématique (épidémique).....	16
XI.2.2. La fièvre récurrente à poux.....	17
XI.2.3. Les infections à <i>Bartonella quintana</i>	17
X.II. Prévention et lutte anti-poux.....	18
Deuxième partie. Matériel et méthodes	
I. Matériel et méthodes.....	19
I.1. Présentation de la zone d'étude.....	19
I.2. Matériel.....	20
I.2.1. Matériel biologique.....	20
I.2.2. Matériel non biologique.....	20
I.3. Méthodes	20
I.3.1. Collecte des poux de tête.....	20
I.3.2. Identification des spécimens.....	21
I.3.2.1. Identification morphologique.....	21
I.3.3. Diagnostic moléculaire d' <i>Acinetobacter sp.</i>	21
I.3.3.1. Extraction de l'ADN génomique.....	21
I.3.3.2. La PCR en temps réel.....	24
I.3.3.2.1. Préparation du mix.....	24
I.3.3.3. Electrophorèse d'ADN sur gel d'agarose.....	28
I.3.4. Exploitation des résultats.....	33
I.3.4.1. les indices parasitaires.....	33
Troisième partie. Résultats	
I. les indices parasitaires.....	34
II. Identification des spécimens.....	35
II.1. Identification morphologique.....	35
III. Résultats de la PCR en temps réel.....	36
IV. Résultats de l'électrophorèse sur gel d'agarose.....	38
Quatrième partie. Discussion	39
Cinquième partie. Conclusion et perspectives	41

Sixième partie. Références bibliographiques.....	42
Annexe.....	48

Introduction

Introduction

Les poux sont des insectes aptères, ectoparasites obligatoires de mammifères et d'oiseaux. Ils sont de véritables marqueurs pour l'étude de l'évolution humaine car ils ont été associés à l'homme depuis nos ancêtres et se sont dispersés à travers le monde avec ses différentes migrations (**Boutellis A, 2013**).

Le pou de tête (*Pediculus humanus capitis*) et le pou de corps (*Pediculus humanus humanus*), ce sont deux écotypes indiscernables occupant chacun une niche écologique. La pédiculose due au pou de corps est très répandue parmi les populations précaires telles les pauvres, les sans abris, les prisonniers et les réfugiés de guerre (**Raoult D, 2014**), tandis que les poux de tête affectent des centaines de millions d'écoliers à travers le monde indépendamment des conditions d'hygiène causant du prurit et une perte de sommeil dans certains cas (**Izri M, 1994**).

L'infestation des poux semble devenir très répandue dans le monde entier, associée à une baisse des conditions sociales et d'hygiène provoquées par les troubles civils et économiques dont le pou de corps représente une menace réelle pour l'homme en raison de son rôle de vecteur dans la transmission de trois maladies graves ayant tué des millions de personnes à travers l'histoire de l'humanité, à savoir : le typhus épidémique, la fièvre des tranchées et la fièvre récurrente causées par *Rickettsia prowazekii*, *Bartonella quintana*, et *Borrelia recurrentis* respectivement (**Drali, 2014**). *Acinetobacter baumannii*, a été aussi associé aux poux de corps et aux poux de tête (**Kempf et al., 2012a**), mais ils ne savent pas si les poux peuvent transmettre cette bactérie.

Jusqu'à ce jour, une seule étude portant sur l'origine et la distribution des poux d'Algérie a été rapportée dans la littérature (**Boutellis et al., 2014**), mais aucune étude basée sur le rôle épidémiologique des poux en Algérie n'a été publiée.

L'objectif de notre présente étude est de :

- recenser le taux de parasitisme par les poux de tête des enfants scolarisés dans quelques établissements scolaires se trouvant dans la région Est de Tlemcen.
- faire une identification morphologique de l'espèce *Pediculus humanus capitis*.
- Identifier l'agent pathogène *Acinetobacter* sp dans nos échantillons de poux de tête en utilisant la méthode moléculaire de PCR en temps réel.

Ce travail comprend 4 parties, (1) la synthèse bibliographique. (2), la partie expérimentale réalisée en grande partie à l'institut Pasteur d'Alger et portant sur l'identification et la recherche d'*Acinetobacter bomani* dans les poux de tête. (3), les résultats obtenus qui seront

discutés dans la quatrième partie et enfin, la conclusion de cette étude qui présentera les perspectives en vue.

Première partie
Synthèse bibliographique

I. Le pou dans l'histoire

Les poux ont toujours accompagné l'homme à travers les siècles. Dans l'antiquité, les poux étaient considérés comme une authentique sécrétion du corps humain; le pou naitrait par génération spontanée, (Aristote, Galien, Celse...). Au moyen âge, la présence de poux chez l'enfant fut considérée comme un symbole de bonne santé car ils suçaient le mauvais sang (**Gravinet, 2007**). Dès que le pou est entré dans la vie de l'homme, celui-ci a tout essayé pour s'en débarrasser. Il a commencé par chercher ces hôtes indésirables un par un pour ensuite les faire éclater entre ses ongles, voire contre ses dents. L'épouillage collectif fut parmi les premières méthodes utilisées pour se débarrasser des poux, outre le côté pratique et hygiénique, l'épouillage représente également un moyen de communication et d'interaction sociale. Certaines des peuplades indigènes, (**Fig.1a**), s'épouillaient en chenille (**Patton, 1931, Doby, 1995**). Plus tard on a commencé à utiliser des outils pour débarrasser des poux, telle que la brosse ou le peigne fin, associé à des produits comme le vinaigre (**Fig.1b**).



Figure1. Epouillage en chenille (a) (**Patton, 1931**). Un peigne fin associé au vinaigre (b) (**histoire Médica, 1639**).

Pendant la guerre 1914-1918, les soldats rassemblés dans les tranchées creusées dans la terre ont tellement souffert des poux que ces derniers ont été surnommés par la suite « les Rois des tranchées ». Les militaires avaient des poux sur les cheveux mais ils étaient aussi couverts par des poux de corps. Les mesures appliquées dans les écoles pendant la guerre ont été :

- ✓ renvoi des enfants qui avaient des poux, ils étaient considérés comme très contagieux avec une mauvaise hygiène et étaient exclus de collectivité jusqu'à guérison.

- ✓ menace de suppression des allocations familiales si certaines règles d'hygiène et de prudence n'étaient pas respectées (**Gravinet, 2007**)

Toutes ces mesures étaient réellement radicales face à une parasitose mal connue et qui faisaient peur, elles ont contribué à une forte diminution au nombre de porteurs de poux d'autant plus que c'est en 1940 sont apparus les insecticides organochlorés tel que le dichloro-diphényl-trichloroéthane (DDT) (**Patton et al., 1931**).

L'étude génétique de *pediculus humanus*, parasite ancestral de l'homme, a permis de dater approximativement l'apparition du vêtement chez l'homme. Des chercheurs allemands ont montré, par une analyse génétique comparée grâce à l'horloge moléculaire constituée par les taux de mutation enregistrés dans l'ADN mitochondrial d'origine maternelle, que le pou de corps s'est différencié il y a 70 000 ans de son cousin le pou de tête, devenant deux sous-espèces distinctes (**Doby et al., 1995**). Les scientifiques suggèrent que cette différenciation génétique s'est produite lorsque les humains ont adopté l'utilisation fréquente d'habits. Les poux de tête se sont soudain découverts dans les vêtements un nouvel habitat. En s'y adaptant, leurs caractéristiques génétiques ont évolué, aboutissant aux poux de corps. En d'autres termes, au fil des générations (issues de croisement entre eux) et des mutations, les poux vivant dans les vêtements ont fini par constituer une nouvelle sous-espèce, avec impossibilité d'hybridation avec les poux de têtes (**Combes, 2003**).

II. Définition

Les poux de tête sont des insectes suceurs de sang sans ailes, à six pattes et d'une longueur de 2 mm à 4 mm (pou adulte), qui vivent sur le cuir chevelu des humains (**Roberts, 2002**). En général, les enfants infestés sont porteurs de moins de 20 poux de tête matures (et plus souvent, de moins de dix) qui, sans traitement, vivent chacun de trois à quatre semaines (**Jones, 2003**). Les poux de tête demeurent près du cuir chevelu pour se nourrir et profiter de chaleur, d'un abri et d'humidité. Les poux de tête se nourrissent tous les trois à six heures en suçant le sang auquel ils injectent de la salive (**Burkhart, 2003**). Il existe trois formes cliniques de poux :

- Le pou de tête ou *Pediculus humanus capitis*, (**Fig2.a**)
- Le pou de corps ou *Pediculus humanus corporis*, (**Fig2.b**)
- Le pou de pubis ou *Phthirus pubis*, également nommé morpion, (**Fig2.c**)



Figure 2. Représentation des trois espèces de poux colonisant l'homme (**Wiv, 2013**).

(a): *Pediculus humanus capitis*. (b) : *Pediculus humanus corporis*. (c) : *Phthirus pubis*.

III. Systématique

Les poux sont des ectoparasites hématophages appartenant à l'ordre des anoploures qui comprend près de cinq cents espèces et spécifiques de son hôte (**Gerald et al., 2010**). Seules trois espèces parasitent l'homme (**Fig.4**).

- *Pediculus humanus capitis* (pou de tête) : plus précisément sur le cuir chevelu et les cheveux (**Fig.3**).
- *Pediculus humanus corporis* (pou de corps) : sur les parties non pileuses ils provoquent des irritations et démangeaisons. Le pou du corps transmet le typhus, des fièvres récurrentes.
- *Phthirus pubis* (morpion) : sur régions pileuses généralement pubienne mais plus rarement au niveau des cils ; ils provoquent des traces bleuâtres dues aux piqures (phtiriase) (**Greer, 1778**).



Figure 3. Pédiculose du cuir chevelu (**Québec, 2012**).

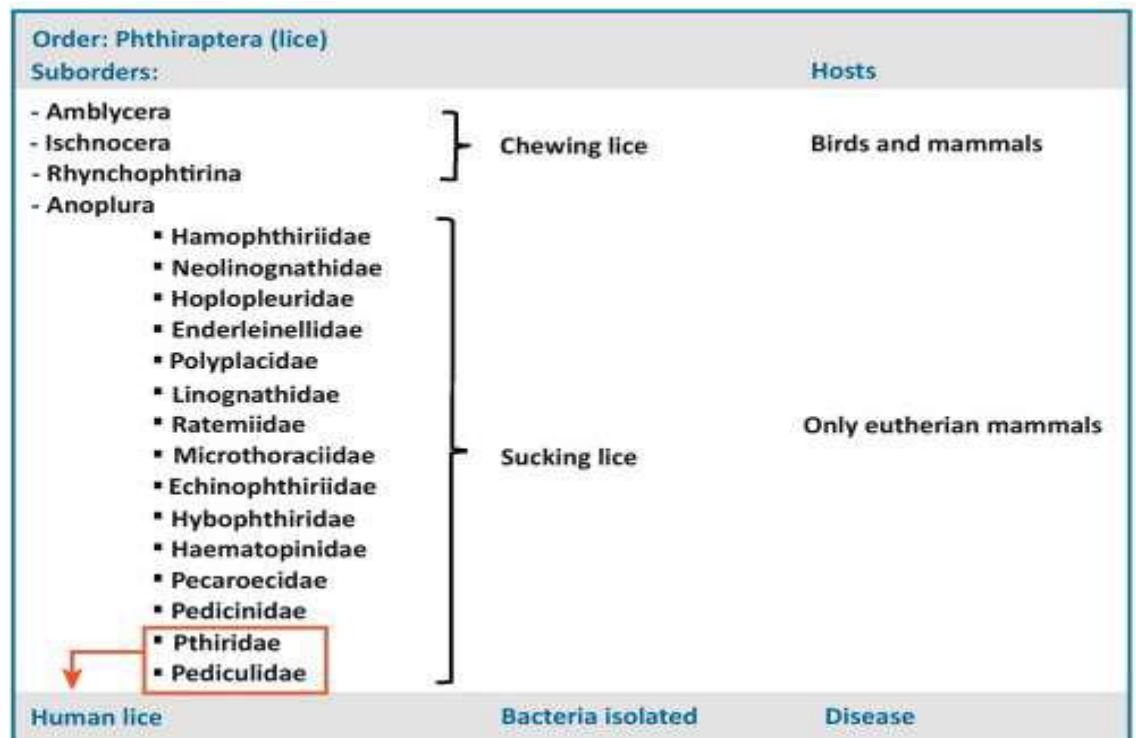


Figure 4. Position taxonomique du pou de tête *Pediculus humanus* (Veracx & Raoult, 2010).

Morphologie

Les poux de tête ont 3 paires de pattes permettant un déplacement rapide. Ils mesurent à l'âge adulte entre 1 à 3 mm tandis que les œufs ne mesurent que 0.8 mm. Ils vivent dans une température située entre 28 et 30°C d'où une attirance particulière pour les personnes qui transpirent (**Fig.5**). *Pediculus humanus* est un insecte au corps aplati dorso-ventralement. Sa couleur à jeun varie en fonction de son hôte habituel, allant du jaune très clair chez les sujets blonds au noir chez les sujets très bruns (**Fig.6**). Gorgés de sang, ils deviennent rouges (**Rodhain,1985**).

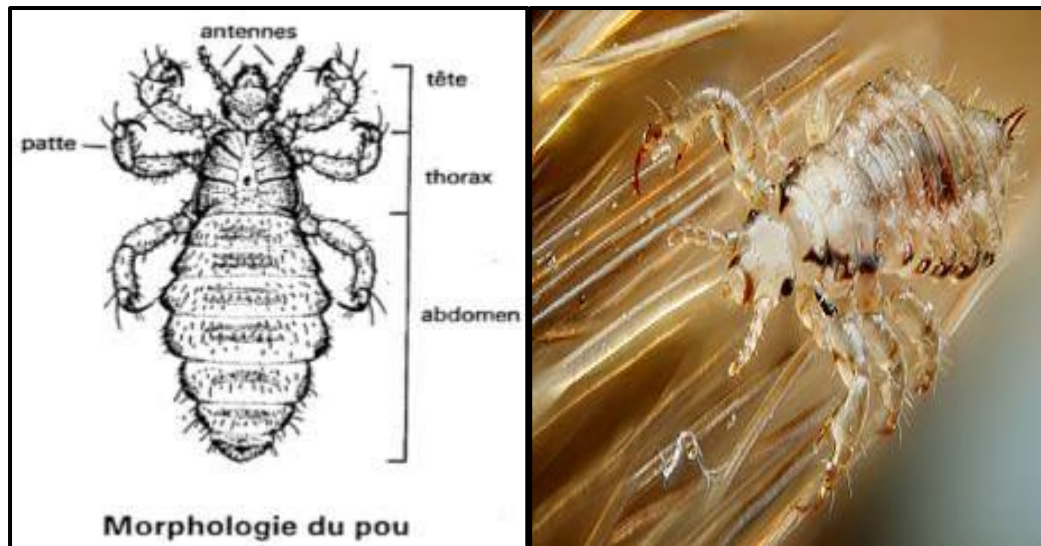


Figure 5. Morphologie du pou(Julie, 2013). **Figure 6.** *Pediculus humanus* (Kittler, 2003).

IV.1.Adulte

Insectes piqueurs de 1.6 à 3 mm chez le male et de 2.7 à 4 chez la femelle. Corp allongé, aplati dorso-ventralement (Rhodain 1985) (Fig.7). Tête prognathe ; les pièces buccales sont placées en avant de tête de type piqueur-suceur évoluées avec des stylets rétractables, qui restent à l'intérieur de la capsule céphalique lorsqu'il ne se nourit pas. Le comportement piqueur est de type solénophage (de solen qui signifie tuyau), les stylets internes de la trompe (maxilles) percent la peau jusqu'à un capillaire, et l'aspiration du sang se fait comme avec une seringue hypodermique, par le canal de succion (Bouchet et al., 1999). Quatre glandes salivaires volumineuse sécrétant des molécules anticoagulantes et irritantes; deux yeux simples réduits ou atrophiés ; une antenne courte à cinq articles ; trois segments thoraciques soudés, rattachés à la tête par un cou plus ou moins marqué; aptères (pas d'ailes); trois paires de pattes robustes sur les bords latéraux du thorax, chacune de ces pattes se termine par une griffe qui se replie sur le tarse pour former une pince puissante avec laquelle ils s'accrochent solidement aux cheveux, aux fibres des vêtements ou aux poils. Il est composé de neuf segments dont sept seulement sont distincts, il porte des stigmates latéraux et postérieurement les annexes génitales. Les mâles présentent souvent des bandes transversales sombres sur la face dorsale de l'abdomen dont l'extrémité apparaît légèrement pointue, avec un pénis rétractile. Les femelles sont plus claires et l'abdomen est terminé par deux lobes postérieurs avec deux appendices : les gonopodes . Ceux-ci servent à déposer et à

fixer les œufs sur les cheveux. Lors d'afflux de sang dans le tube digestif, l'abdomen se gonfle (Gravinet, 2007).

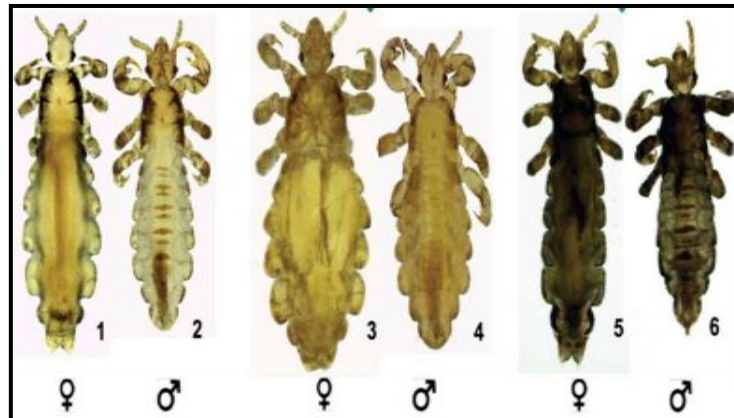


Figure 7. Comparaison morphologique entre le pou mâle et le pou femelle (Drali, 2014).

IV.2.Œuf

Les œufs sont appelés «lentes» ; ils mesurent environ 0,8 mm et ils sont de forme ovale (Fig.8). Un œuf donne naissance à une seule larve. Ils possèdent une gaine blanchâtre qui permet leur fixation au cheveu, cette gaine est produite par la femelle lors de la ponte, on l'appelle aussi ciment. La lente est fermée par un opercule présentant de petits tubercules creux, percés de spores permettant à l'embryon de respirer et à la larve de s'extraire de l'œuf (Gravinet, 2007).

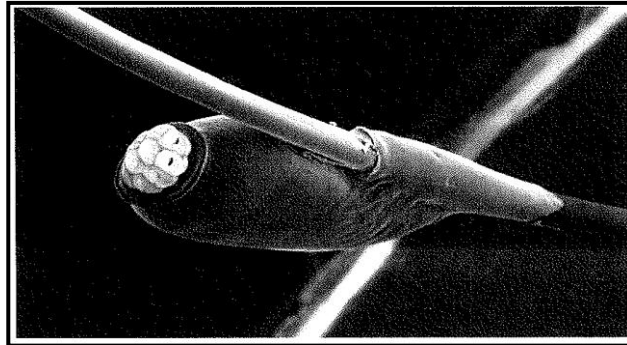


Figure 8. Lente de *P. humanus capitis* (Gravinet, 2007).

IV.3.Larve

L'œuf libère une larve qui mue trois fois avant de devenir un pou de tête adulte. Le pou étant un insecte à métamorphose incomplète ou hémimétabole, la larve ressemble à l'adulte en plus petit (Fig 9 et Fig 10) (Rhodain,1985).

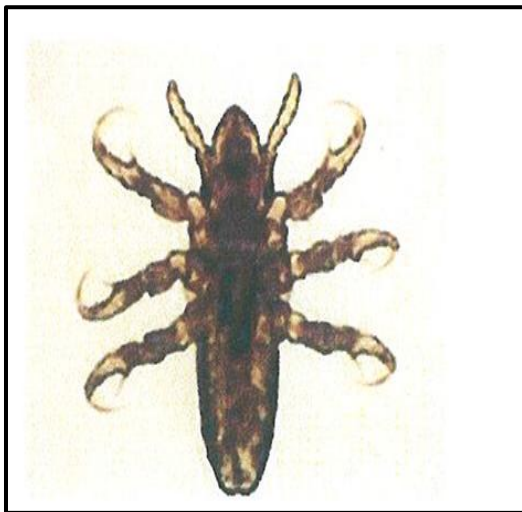


Figure 9. Larve de *P.humanus* (IzriA, 2001)

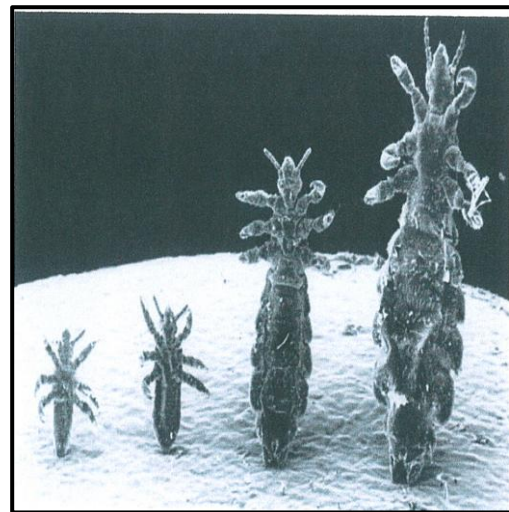


Figure 10. Trois stades larvaires et stade adulte de *P.humanus capitis* (Gravinet, 2007)

IV. Physiologie

V.1. Système respiratoire

Le système respiratoire est constitué par des trachées qui sont des invaginations ectodermiques tubulaires, ces trachées sont situées sur le thorax. Les dernières ramifications des trachées se terminent par des canalicules à parois minces dans lesquelles les échanges gazeux sont effectués.

Les trachées s'ouvrent à l'extérieur par des orifices ou stigmates qui peuvent se fermer et devenir imperméables à l'eau évitant ainsi la noyade (**Grassé, 1970**).

V.2. Système nerveux

Les ganglions cérébroïdes jouent le rôle de cerveau. Ils sont situés au niveau de la tête. Des ganglions prennent le relais dans chaque segment du corps.

Ces ganglions sont reliés aux muscles par des nerfs moteurs et sensitifs afin de générer des mouvements (**Gravinet, 2007**).

V. Cycle de vie

Les poux se reproduisent très vite, le cycle se déroule entièrement sur l'hôte, et dure au total 18 jours environ (**Fig.11**). Le pou femelle s'accouple plusieurs fois au cours de sa vie d'adulte qui peut varier d'une dizaine à une quarantaine de jours. La femelle pond des œufs ovoïdes (4 à 10 œufs ou lentes) par jour, et ce pendant 3 à 5 semaines (200 à 300 au cours de sa vie) de 1 mm de long à coque ponctuée et pourvue d'un opercule, les lentes qui sont collées sur un support (cheveu pour *P. humanus capitis* et fibres textiles des vêtements au contact de la peau pour *P. humanus humanus*). L'incubation dure de 6 à 9 jours en fonction de la température, et l'éclosion libère une petite larve, une nymphe qui mesure 1 à 2 mm de long, qui migre peu et est peu contaminante. Elle effectue 3 mues en 8 à 12 jours à la surface de la peau. L'adulte (imago) peut s'accoupler 10h après la dernière mue (**Kitller, 2003**).

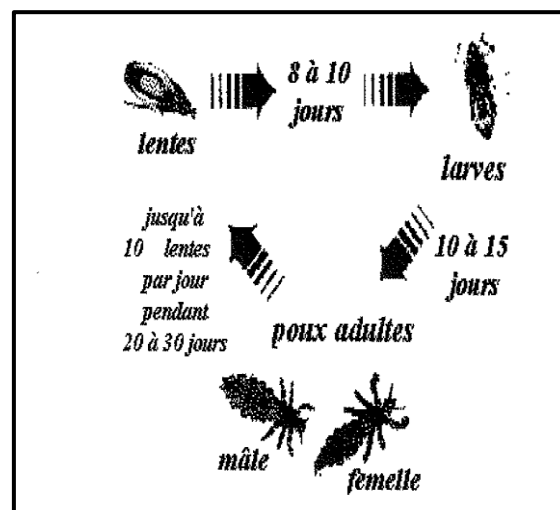


Figure 11. Schéma du cycle de développement de *P. humanus* (site internet Esculape).

VI. Bio- écologie

Le pou est un parasite permanent et spécifique (*P.humanus humanus* est localisé sur le corps, *P. humanus capitis* sur le cuir chevelu), toute sa vie s'effectue dans une ambiance stable quant à la température et l'humidité : celle du tégument humain, sous les vêtements ou dans la chevelure. Il ne quitte pas volontiers son hôte car il ne peut aller loin et meurt en quelques jours s'il ne rencontre pas une autre « victime ». La dissémination s'effectue par contact entre chevelures ou avec un objet contaminé (peigne, bonnet, oreiller) pour le pou de tête, et par contact avec des vêtements parasités pour le pou de corps. *Pediculus humanus* est strictement hématophage à tous les stades et dans les deux sexes, les adultes effectuent 1 repas sanguin chaque jour, leur résistance au jeûne est très faible (1 à 2 jours). Ils peuvent vivre jusqu'à 40 jours (**Gratz, 2008**).

VII. Epidémiologie

Le pou de tête (*P.humanus capitis*) est un parasite cosmopolite, dont le seul réservoir parasitaire est l'homme. La pédiculose à *P. capitis* est considérée par certains auteurs comme la maladie contagieuse la plus fréquente dans les écoles, après les infections respiratoires. La température optimale de vie est de 28 à 30 C les poux quittent les fiévreux et les cadavres. La résistance des poux adultes est de huit à dix jours pour une température de 10°C et de quelques heures à -20 C. L'œuf meurt en dix minutes à 55°C (**Gravinet et al., 2007**). Une humidité supérieure à 85% arrête la reproduction des poux. Les poux ne survivent pas dans l'eau, ils meurent par immersion dans l'eau douce en vingt heures et dans l'eau salée en 48 heures. Ils ne vivent pas plus de trente-six à quarante-huit heures sans contact avec un humain. Les poux de tête peuvent infester n'importe qui, quelle que soit l'origine socioéconomique ou l'hygiène personnelle, dès l'instant où il y a eu contact avec un sujet porteur de poux ou avec des vêtements porteurs de poux. Le principal facteur de risque de transmission est cohabitation de plusieurs personnes dans un espace restreint. Le pou ne vole pas, ne saute pas et nage très mal. L'épidémiologie se caractérise par une transmission interhumaine directe (contact de tête à tête surtout chez les enfants en milieu Scolaire) et interhumaine indirecte par les prêts vêtements ou les échanges de bonnets, de Peignes, ou de brosses, par l'intermédiaire de vêtements car ils sont souvent situés à proximité sur des porte

manteaux à l'école ou dans des vestiaires. Cette dernière est moins répandue mais il vaut mieux rester prudent et éviter de partager les effets personnels. (Bouvet et al., 1995).

VIII. Génétique des poux

Bien au chaud, bien nourri, le pou mène une vie simple et prévisible consacrée à des repas pris sur place et toujours constitués du même plat. C'est ce que vient de montrer une équipe internationale fort nombreuse, dirigée par Barry Pittendrigh, qui a analysé le génome du pou du corps et de son symbionte obligatoire (Pittendrigh, 2013). La taille prédictive du génome de *P. humanus* (108Mb) faisait de lui un excellent candidat au séquençage du génome (Clark, 2007). En 2010, Kirkness et al, publiaient une première version du génome du pou de corps et de son endosymbionte *Candidatus RIESIA PEDICULICOLA*. Ce génome renferme 10.773 gènes codants parmi lesquels 163 étaient spécifiques à *P. humanus* (Kirkness et al., 2010). La comparaison du profil transcriptionnel des poux de tête et de corps avait révélé que les deux écotypes avaient le même nombre de gènes excepté le gène *phum_PHUM540560* absent chez le pou de tête (Olds et al., 2012). Les poux ont un organisme diploïde (2n chromosomes) comportant 11 mini chromosomes (5 chromosomes métacentriques et 6 télocentriques) (Veracx & Raoult, 2012). En 2010, une équipe internationale de chercheurs séquence le génome du pou du corps humain ce séquençage montre un nombre réduit de gènes de détection ou de réaction à l'environnement, en lien avec la simplicité de son mode de vie. Il montre également « le plus petit nombre d'enzymes de désintoxication observés dans n'importe quel autre insecte », ce qui est intéressant pour l'étude de la résistance aux insecticides et d'autres mécanismes de défense (Alain, 2011).

Actuellement, les études moléculaires, effectuées à partir de l'ADN mitochondrial le gène Cytochrome b « *Cytb* » et la première sous unité « α » du gène codant pour le cytochrome Oxydase « *Cox1* », ont pu séparer les poux de tête des poux de corps en classant les poux de tête dans quatre clades très divergents (A, B, C ; D), et un seul clade de poux de corps qui est partagé avec les poux de tête (clade A) (Boutellis et al., 2014). Chaque clade a une répartition géographique spécifique (Raoult et al., 2008).

Récemment, une nouvelle étude génétique basée sur la PCR en temps réel multiplexe, réalisée à partir de certaines mutations au niveau du gène *PHUM540560* arrive à différencier entre les poux de tête et les poux de corps (Drali et al., 2013).

IX. Infestation par les poux de tête

Les infestations par les poux de tête (*Pediculus humanus capitis*) demeurent un problème transmissible désagréable, notamment chez les enfants d'âge scolaire (**Gratz, 2008**). Contrairement aux poux corporels, les poux de tête ne constituent pas un risque sanitaire, un signe de mauvaise hygiène ou un vecteur de maladie, mais plutôt un enjeu sociétal (**Harris, 2003**). La pédiculose est le terme qui désigne une infestation par les poux de tête. Elle se compose généralement de moins de dix poux vivants. Les démangeaisons se produisent si la personne est sensible aux éléments antigéniques de la salive du pou injectée lorsque le pou se nourrit. À la première infestation, il faut souvent de quatre à six semaines pour que la sensibilisation se manifeste) (**Burkhart, 2003**). Cependant, certaines personnes demeurent asymptomatiques et n'ont jamais de démangeaisons. En cas de fortes infestations, on observe parfois une infection bactérienne secondaire des excoriations du cuir chevelu. Contrairement aux poux corporels, les poux de tête ne sont pas des vecteurs d'autres maladies (**Frankowski, 2002**). Les poux de tête se propagent surtout par contact direct entre les têtes (cheveux à cheveux) (**Cahill, 2003**). Les poux ne savent ni sauter, ni voler, mais ils rampent très rapidement (23 cm/m dans des situations normales. Selon deux études australiennes, à la maison, les taies d'oreiller ne constituent qu'un faible risque et en classe, les tapis n'en posent aucun. Les animaux ne sont pas des vecteurs des poux de tête humains (**Crawshaw, 2003**).

X. Rôle infectieux

XI.1. *Acinetobacter baumannii*

XI.1.1. Historique-taxonomie

L'histoire du genre *Acinetobacter* débuté en 1911 avec la découverte par le microbiologiste néerlandais Beijerinck d'un microorganisme dénommé *Micrococcus calcoaceticus* à partir de prélèvement de sol (**Beijerinck, 1911**). En 1948, Schaub et Hauber redécouvrent cette bactérie à partir d'échantillons du système urinaire humain (**Schaub et Hauber, 1948**). La position taxonomique de cette bactérie peu évidente, ils proposent de la nommer *Bactérium* qui est le nom donné aux bactéries dont le genre est inconnu. Ce nom provisoire de *Bactérium anitratum* sera ensuite changé en *Moraxella lwoffivar glucidolytica*

puis en *Moraxella glucidolytica* (Villecourt et Jacobelli, 1954). Cette espèce a été transférée en 1953 dans le genre *Achromobacter* avec la nomenclature d'*Achromobacter anitratum*. C'est en 1954 que Brisou et Prévot créent le genre *Acinetobacter*. En 1968, Baumann et ses collaborateurs ont entrepris une étude de taxonomie numérique qui caractérise les propriétés nutritionnelles et biochimique de plus 100 souches de *Moraxella* oxydase négatives. Cette analyse a conduit les auteurs à regrouper l'ensemble des souches de *Moraxella* oxydase négatives sous l'appellation génétique *Acinetobacter* (Baumann et al. 1968). Le genre *Acinetobacter* est actuellement défini comme appartenant à la famille des Moraxellaceae au sein de l'ordre Gamma-proteobacteria et qui regroupe les genres *Moraxella*, *Acinetobacter* et *Psychrobacter* (Rossau et al., 1991). Une évolution du genre *Acinetobacter* a été réalisée en 1986 grâce aux techniques d'hybridation ADN/ADN de Bouvet et Grimont qui sont parvenus à distinguer 12 espèces génomiques (Taleb, 2013).

XI.1.2. Morphologie, métabolisme et habitat

Les bactéries du genre *Acinetobacter* sont des gamma-protéobactéries, bacilles ou coccobacilles à Gram négatif, aérobies strictes, oxydase négatives, catalase positives, immobiles et non-fermentant (Jans et al., 2004). Elles ne produisent pas de spores et apparaissent au microscope sous la forme de courts bacilles ou de cocci (en phase stationnaire). Leur contenu en G+C est compris entre 39 et 47% (Peleg et al., 2008). Les bactéries appartenant au genre *Acinetobacter* sont souvent considérées comme des microorganismes ubiquitaires et peuvent être isolées à partir du sol et des eaux (Baumann et al., 1968). En effet, ce ne sont pas toutes les espèces d'*Acinetobacter* qui vivent dans l'environnement (Peleg et al., 2008), elles font aussi partie de la flore cutanée de l'homme, de la salive, ainsi que du tractus respiratoire (Fournier et al., 2006). Dans une enquête épidémiologique réalisée pour étudier la colonisation de la peau humaine et des muqueuses, jusqu'à 43% d'individus non hospitalisés ont été trouvés colonisés par *Acinetobacter spp.*

Acinetobacter baumannii est l'espèce responsable d'infection nosocomiales et qui a été isolée sur la peau avec 0.5% et 3% (Berlau et al., 1999) et dans les selles humaines avec 0,8% (Dijkshoorn et al., 2005).

Des recherches récentes ont démontré que la bactériémie causée par les souches d'*A. baumannii* multirésistantes (MDR) et carbapénème -résistantes (CR), conduit généralement à une mortalité accrue. Cependant, l'information est limitée concernant les résultats cliniques et les facteurs de risque pour la résistance aux antibiotiques (Guezi, 2015).

Cette bactérie est dernièrement isolée à partir des poux de tête et des poux de corps humain en Ethiopie (**Kempf et al., 2012**) mais son rôle pathologique n'a pas encore été soulevé dans les cas infestés par ces poux infectés.

XI.2. Les infections transmises par les poux de corps

Les personnes vivant dans des conditions sanitaires précaires (guerres civiles, réfugiés) ou des conditions socio-économiques défavorisées (SDF, certaines populations d'Europe de l'Est) qui sont celles exposées au risque de pédiculose corporelle sont exposées à trois maladies bactériennes transmises par les poux (**Badiaga et al., 2008**).

XI.2.1. Le typhus exanthématique (épidémique)

Le typhus exanthématique ou typhus historique ou typhus à poux, due à *Rickettsia prowazekii*, est une maladie infectieuse grave, spécifiquement humaine (**Fig.12**). Elle se transmet par les déjections du pou. Les rickettsies pénètrent dans l'organisme par les lésions de grattage ou par les muqueuses en contact avec les poussières provenant de vêtements ou literie de sujets infectés. Le typhus sévit encore de façon épidémique dans de nombreuses régions dans le monde (**Raoult et al., 1998**). Six espèces de Rickettsies (*R. prowazekii*, *R. typhi*, *R. conorii*, *R. sibirica*, *R. rickettsii*, et *R. akari*) ont déjà été séquencées, et leur comparaison dessinaient, jusqu'à présent, une image très cohérente de génomes réduits, portés par un seul chromosome circulaire, évoluant lentement, coupé de tout apport génétique extérieur, et maintenant une colinéarité quasi-parfaite entre les espèces (**Raoult D et al., 2005**).



Figure 12. Représentation du typhus épidémique (**Drali, 2014**).

XI.2.2. La fièvre récurrente à poux

La fièvre récurrente cosmopolite à poux est due à *Borrelia recurrentis*. Les spirochètes sont transmis par l' hémolymphe de poux écrasés ou ayant subi un traumatisme au contact de lésions de grattage ou des muqueuses. La maladie, autrefois très répandue, ne persiste que dans de rares foyers (**Gratz, 1997**). L'agent responsable est un spirochète, *Borrelia recurrentis*. Le réservoir de la maladie est strictement humain la maladie se présente comme une fièvre d'apparition brutale, associée à des douleurs, une éruption cutanée et un ictère (**Didier et al., 2009**).

XI.2.3. Les infections à *Bartonella quintana*

La fièvre des tranchées ou fièvre des cinq jours, due à *Bartonella quintana*, est également une rickettsiose, transmise par les déjections des poux. Endémique dans de nombreux pays en voie de développement, elle est observée de manière sporadique dans les pays développés chez des sujets sans domicile fixe (**Raoult et al., 1998**). *Bartonella quintana* a pour unique réservoir l'homme. La fièvre des tranchées est une septicémie pouvant être asymptomatique ou de gravité variable (**Brouqui et al., 2006**). Outre la fièvre des tranchées, *Bartonella quintana* est responsable d'endocardites et d'angiomatoses bacillaires et de pélioses (**Raoult et al., 2003**).

XI. Prévention et lutte anti-poux

La lutte s'appuie principalement sur l'éducation du grand public et l'amélioration de l'habitat et de l'hygiène. L'adoption de mesures simples réduit la transmission du pou de corps, le simple fait de changer l'ensemble des vêtements est efficace, de même que le lavage systématique des vêtements à 60 °C. Des mesures telles que le changement des couvertures et le traitement des literies (du fait des coutures) se révèlent irréalisable en pratique (**Barrau et al., 2000**). L'utilisation de poudre à 10 % de DDT, 1 % de malathion ou 1 % de perméthrine sur l'ensemble des vêtements est aussi efficace. L'ivermectine, une lactone de macrocycline utilisée pour le traitement de l'onchocercose entraîne une paralysie chez de nombreux nématodes et arthropodes. Son utilisation par voie orale au sein d'une cohorte de SDF à Marseille, à raison de 3 doses de 12 mg chacune à 7 jours d'intervalle, a entraîné une chute du portage de poux de corps de 84,9 % à 18,5 % en 2 semaines (**Badiaga et al., 2008**). Les

traitements médicaux sont locaux. Crèmes, shampoings et lotions anti-phtiriasiques permettent une éradication du parasite. Le peigne fin est un précieux auxiliaire pour éliminer une partie des lentes et des parasites adulte (**Alain, 2011**) (**Fig.13**). Au-delà des traitements antiparasitaires (des insecticides) contre lesquels les poux ont développé une résistance de type neurotoxine entraînant une mutation de deux gènes (**Julie, 2013**). En effet, les poux respirent par leur corps et peuvent donc être asphyxiés s'ils sont enduits de substances grasses (comme des huiles) ou de dérivés de silicone comme le diméticone (**Alain, 2011**). Ces produits tendent à remplacer les produits insecticides qui agissent au niveau du système nerveux du pou ou soit de sa physiologie cellulaire.

En conclusion, les traitements chimiques tels que les insecticides opérant sur le système nerveux perdent leur efficacité (**Julie, 2013**).



Figure13. Représentation d'un épouillage manuel (à gauche) et avec un peigne à poux (à droite) (**Izri & Guiguen, 2013**).

Deuxième partie
Matériel et méthodes

I. Matériel et méthodes

L'objectif de ce travail est d'examiner des écoliers de Tlemcen-Est et de collecter des poux de tête. Ces derniers seront identifiés et analysés pour voir s'ils sont infectés par *Acinetobacter* sp.

I.1. Présentation de la zone d'étude :

Tlemcen est située au Nord-ouest de l'Algérie à 540 Km à l'ouest d'Alger, à 140 Km au Sud-ouest d'Oran et, proche de la frontière du Maroc, la ville est érigée dans l'arrière-pays, est distante de 40 Km de la mer Méditerranée (O.N.S. 2008). Notre zone d'étude est représentée par six zones de la région Tlemcen-Est, à savoir : Hennaya, Imama, Mansourah, Ain Youcef, El fhoul et Beni Mester (Fig.14). L'étude a été menée sur des poux de tête prélevés à partir des enfants au niveau de quelques établissements scolaires. La période de collecte s'est déroulée entre Mars et Mai 2015.

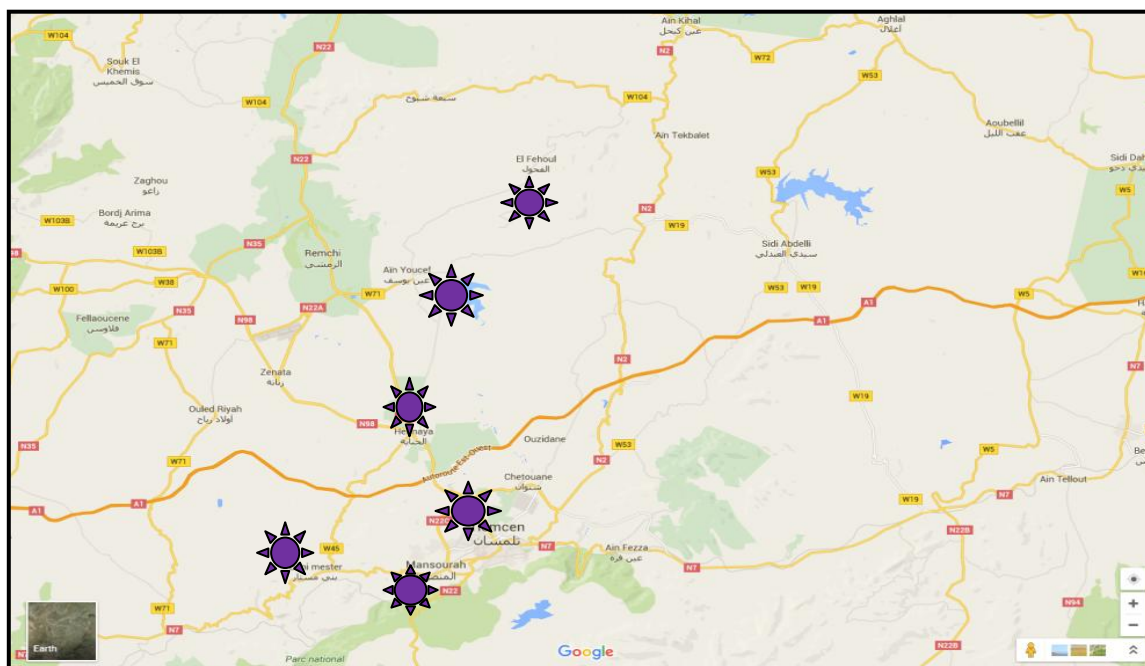


Figure 14. Présentation de la zone d'étude (GoogleMaps).

I.2. Matériel

I.2.1. Matériel biologique

Représenté par les ectoparasites collectés : poux de tête : adultes, larves.

I.2.2. Matériel non biologique

Représenté par les réactifs, appareillage et petit matériel (**Annexe**).

I.3. Méthodes

I.3.1. Collecte des poux de tête

L'enquête a été menée par la visite des écoles primaires dans six sites qui sont Hennaya ; Imama ; Mansourah ; Ain Yousef ; El Fhoul ; Beni Mester, avec l'autorisation de la direction de l'éducation de Tlemcen, ainsi que le consentement des directeurs des établissements primaires, suivi de l'accord verbal des enseignants. Avec des mains gantées, les cheveux de chaque élève ont été soigneusement examinés à l'œil nu (**Fig.15**). La pédiculose du cuir chevelu est confirmée dans le cas où nous observons des lentes, des larves ou des adultes dont seuls les poux adultes et les larves sont collectés à l'aide d'une pince. Les spécimens collectés ont été conservés dans des tubes Eppendorf étiquetés puis ils sont congelés à -20°C. Les informations de chaque élève ont été bien notées à savoir : l'âge, le sexe ainsi que le nombre de poux prélevés. Les spécimens recueillis, sont acheminés au laboratoire du service Eco-Epidémiologie Parasitaire et Génétique des Populations à l'institut Pasteur d'Alger (DelyBrahim, Algérie) pour l'identification morphologique des poux ainsi que l'identification de l'agent pathogène recherché.



Figure 15. Examen des cheveux des élèves

I.3.2. Identification des spécimens

I.3.2.1. Identification morphologique

Au laboratoire, l'identification des poux a été réalisée sous loupe binoculaire (Loupe Gr. x40). Selon les éléments de diagnose décrits par Pajot (2000), la détermination du sexe se fait sur la base de la taille des individus, l'extrémité abdominale, dont les mâles présentent souvent des bandes transversales sombres sur la face dorsale de l'abdomen dont l'extrémité apparaît légèrement pointue, avec un pénis rétractile ainsi que la présence d'une griffe au niveau du tibia droit chez les mâles qui lui permet d'accrocher la femelle lors de l'accouplement. Les femelles sont plus claires et l'abdomen est terminé par deux lobes postérieurs avec deux appendices.

I.3.3. Diagnostic moléculaire d'*Acinetobacter* sp

I.3.3.1. Extraction de l'ADN génomique

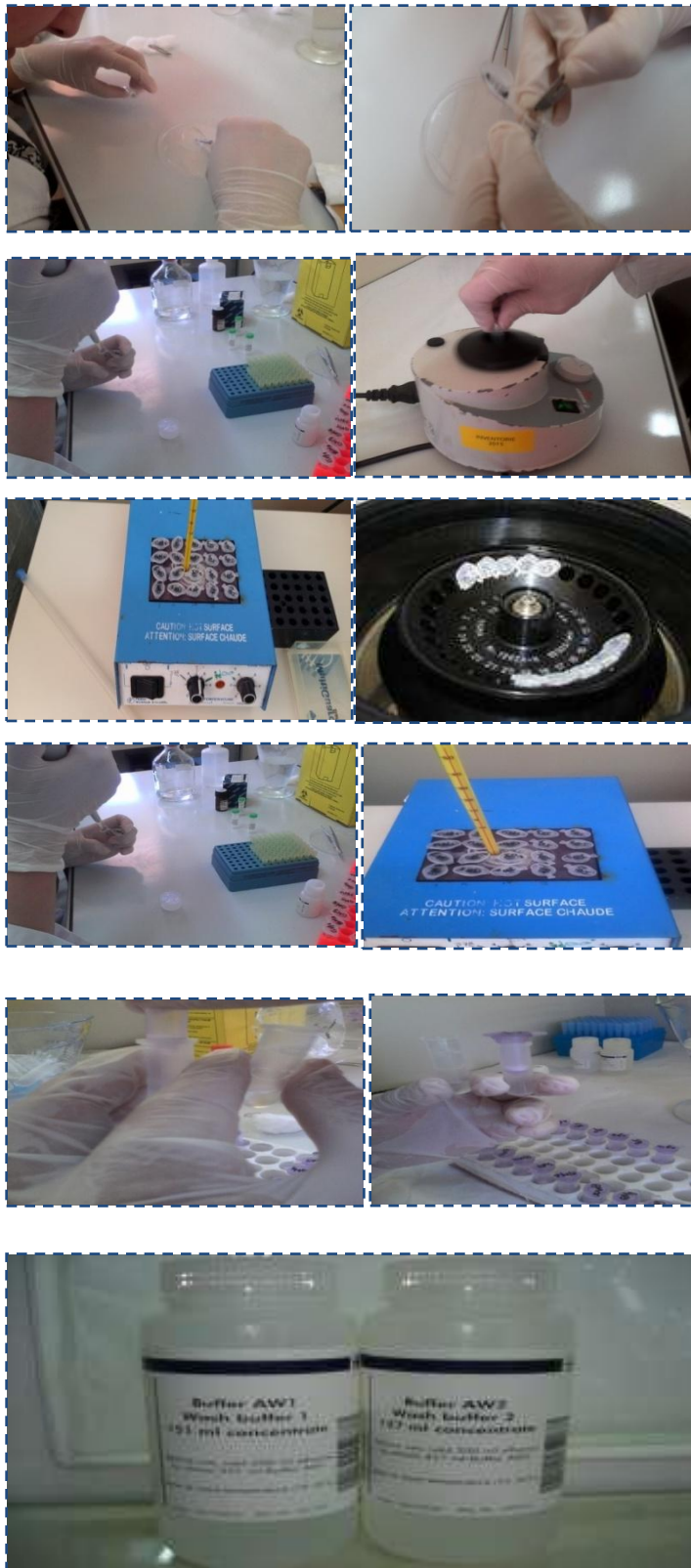
L'extraction de l'ADN est une technique qui isole l'ADN à partir d'une cellule en quantité et en qualité suffisante pour permettre son analyse. L'extraction d'acides nucléiques d'un matériau biologique requiert la lyse cellulaire, l'inactivation des nucléases cellulaires et la séparation de l'acide nucléique souhaité des débris cellulaires. L'extraction d'ADN est

réalisée à l'aide d'un Kit spécial QIA amp (kit QIAGEN®, Hilden, Germany) (**Fig.16**) selon le protocole ci-dessous :

- ✓ Rincer chaque pou à l'eau distillée stérile.
- ✓ Couper les poux longitudinalement et les introduire dans des tubes Eppendorf préalablement numérotés et codés.
- ✓ Ajouter 200µl d'**ATL** (Broyage chimique), puis à l'aide des tiges broyer les échantillons mécaniquement.
- ✓ Ajouter 20µl de la **protéinase K** (déprotéinisation), puis agiter rapidement à l'aide du vortex.
- ✓ Incuber les échantillons dans un bain à sec à 56° C pendant 2 heures ou à 37°C pendant une nuit.
- ✓ Faire une centrifugation rapide à 8000 tr/min pendant 4 secondes.

- ✓ Ajouter 200µl d'**AL**, puis agiter 15 secondes au vortex.
- ✓ Mettre les échantillons au bain sec à 70° C pendant 10 minutes, et centrifuger rapidement.
- ✓ Ajouter 200µl d'**éthanol** (Précipitation de l'ADN), et agiter pendant 15 secondes.
- ✓ Verser le mix dans les tubes collecteurs à filtre.
- ✓ Centrifuger les tubes pendant 1 minute à 8.000 tr/min.
- ✓ Jeter l'éluat et placer le filtre dans un nouveau tube collecteur.
- ✓ Faire un premier lavage avec 500µl d'**AW1**.
- ✓ Centrifuger 1 minute à 8.000 tr/min.
- ✓ Jeter l'éluat et placer le filtre dans un nouveau tube collecteur.
- ✓ Faire un deuxième lavage avec 500µl d'**AW2**.
- ✓ Centrifuger 4 minutes à 10.000 tr/min.
- ✓ Jeter l'éluat et placer le filtre dans un nouveau tube collecteur.
- ✓ Centrifuger une nouvelle fois 1 minute à 10.000 tr/min.
- ✓ Placer le filtre dans un nouveau tube Eppendorf
- ✓ Ajouter 200µl de tampon **AE**
- ✓ Incuber 1 à 5 minutes à température ambiante et centrifuger une dernière fois pendant 1 minute à 8.000 tr/min.

- ✓ Récupérer l'éluat qui contient l'ADN.
- ✓ Conserver l'ADN extrait à + 4°C.



- Rincer les poux à l'eau distillée stérile puis couper les longitudinalement.
- Introduire les deux moitiés dans des Eppendorf.



-Ajouter 180 μ l d'ATL, broyer les échantillons.
- Ajouter 20 μ l de la protéinase K, et agiter à l'aide d'un vortex.



- Incuber dans le bain à sec à 56°C pendant 2 heures ou bien à 37°C pendant une nuit.
- Centrifuger rapidement



- Ajouter 180 μ l de AL, agiter au vortex.
- Incuber au bain sec à 70°C pendant 10 minutes.



-Verser le mixe dans les tubes collecteurs à filtre.
- Centrifuger 1 minute à 8000 tours.
- Jeter l'éluât et placer le filtre dans un nouveau tube collecteur.



- Effectuer un 1er lavage dans 500 μ l d'AW1
- Centrifuger 1minute à 8000 tours/minutes
- Jeter l'éluât et placer le filtre dans un nouveau tube collecteur
- 2ème lavage dans 500 μ l d'AW2:
- Centrifuger 3minutes 10 000 tours/minutes



-Récupérer l'éluât contenant l'ADN.

Placer le filtre dans un tube Eppendorf et ajouter entre 150 à 200 μ l de tampon AE.

Figure 16. Principales étapes d'extraction d'ADN

I.3.3.2. La PCR en temps réel

La technologie de la PCR en temps réel est basée sur la détection et la quantification d'un «reporter» fluorescent. L'augmentation du signal fluorescent est directement proportionnelle à la quantité d'amplicons générés durant la réaction de PCR. En observant la quantité de fluorescence émise à chaque cycle, il devient possible de suivre la réaction PCR durant sa phase exponentielle où la première augmentation significative dans la quantité d'amplicons est en corrélation directe avec la quantité initiale de la matrice originale cible (template). Ces appareils utilisent généralement un système en tubes fermés et la quantification ne requiert aucune manipulation post amplification, ce qui minimise ou élimine les problèmes de contamination par les amplicons suite à la réaction de PCR et réduit le temps d'analyse (**Bustin, 2000**). Ce système en « temps réel » utilise un thermocycleur pour stimuler l'émission des échantillons par rayonnement UV (**Fig.17**). L'émission de la fluorescence est détectée à l'aide d'une caméra CCD (Charge-coupled device). En traçant l'augmentation de l'émission en fonction du nombre de cycle, le système produit des courbes d'amplification exhibant un schéma plus complet de la PCR (**Poitras&Houde, 2002**).

Le concept du « cycle seuil » Ct pour Threshold cycle en anglais est à la base d'une quantification précise et reproductible pour les techniques fluorescentes en PCR. Les valeurs de fluorescence sont enregistrées au cours de chaque cycle et représentent la quantité d'amplicons produits en un point précis dans la réaction (**Poitras&Houde, 2002**).

I.3.3.2.1. Préparation du mix

La préparation du mix est une étape cruciale du diagnostic moléculaire. Elle doit être effectuée dans une pièce entièrement dédiée à cet usage, avec le port de gants et dans des conditions aseptiques, sous une hôte exempte de toute contamination (**Fig.17.a**). Le mix devra comprendre les réactifs cités dans le tableau 2

Tableau 1. Composants du mix de la PCR en temps réel

Réactif	Volume d'un seul échantillon (μl)	Concentration finale
Master mix (2X)	10	1X
Sonde ($2\mu\text{M}$)	2	$0,2\mu\text{M}$
Amorce F forward ($20\mu\text{M}$)	0.5	$0,5\mu\text{M}$
Amorce R reverse ($20\mu\text{M}$)	0.5	$0,5\mu\text{M}$
H ₂ O	2	
Total mix	15	
Total avec ADN	20	

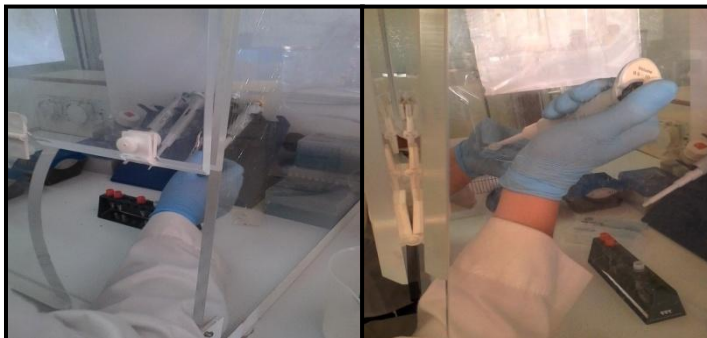
Chaque constituant de ce mix est multiplié par le nombre d'échantillons étudiés, puis 15 μl de ce mélange sont distribués dans chaque tube Eppendorf du Smart stériles.

- **Témoin négatif:** 5 μl d'ADN négatif plus 15 μl de mix dans un tube.
- **Témoin positif:** 5 μl d'ADN positif plus 15 μl de mix dans un tube.
- **Echantillons:** 5 μl d'ADN extrait ajouté à 15 μl du mix dans chaque tube.
- **Volume total:** 20 μl par échantillon (les témoins ou les échantillons à analyser).

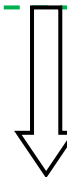
À l'aide d'une centrifugeuse adaptée au format des tubes de type «Smart Cyclor professionnel», une centrifugation de quelques secondes a été effectuée. Ensuite, les tubes ont été placés dans le Smart Cyclor.



La préparation du mix est une étape cruciale du diagnostic moléculaire. Elle doit être effectuée dans une pièce entièrement dédiée à cet usage, avec le port de gants et dans des conditions aseptiques, sous une hôte exempte de toute contamination.



- Mettre les réactifs dans box de glace.
- Décongeler les réactifs, frotter entre les mains et agiter à l'aide d'un vortex.
- N'ouvrir pas le réactif sauf si la pipette est prête.



- Vortexer le mélange final.
- Insérer les tubes spécifiques du smart dans les deux blocs (Aet B).

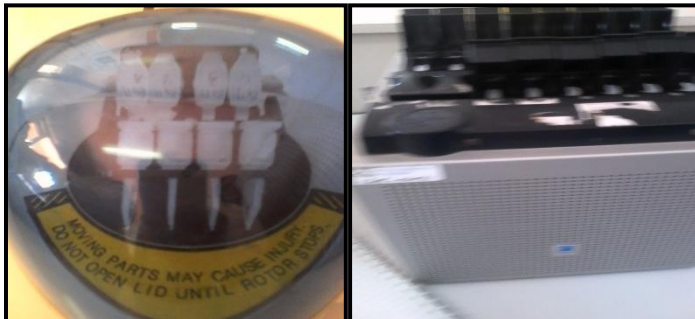
- Distribuer 15 μ l (pour un échantillon) dans chaque tube même le témoin négatif.
- Fermer bien les tubes.

(a) Préparation du mix

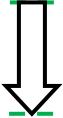


- Mettre le code moléculaire sur les tubes.
- Vortexer chaque échantillon d'ADN avant de l'introduire dans les tubes (5µl).

(b) Distribution de l'ADN



- Centrifuger les tubes,
- placer les tubes dans le thermocycleur par ordre et par bloc,



- Allumer l'automate d'abord,
- Ouvrir le logiciel afin de détecter les deux blocs,
- Vérifier l'ordre des blocs,

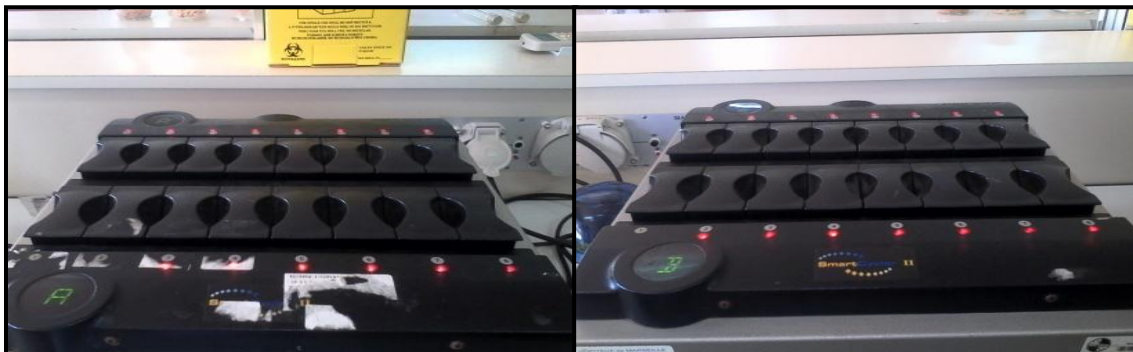


Figure17. Les principales étapes de la PCR en temps réel.

Après avoir préparé le mélange réactionnel en additionnant la sonde et les amorces, ainsi que l'ajout des ADN de nos échantillons et du témoin positif, l'amplification est réalisée sur l'automate Smart Cycler qui est couplé à un spectrofluorimètre piloté par un ordinateur qui permet l'acquisition et le suivi en temps réel des données ainsi que leur traitement. Cet appareil présente l'avantage d'avoir 32 puits fonctionnant indépendamment les uns des autres et permet de lancer différentes PCR en même temps. L'amplification comprend deux étapes:

1. Activation de la Taq polymérase: chauffage à 95° pendant 2 minutes.

2. Suivi de 40 cycles d'amplification de 75 secondes chacun :

Dénaturation de l'ADN : 15 secs à 95° C

Hybridation : 30 secs à 60° C

Extension : 30 secs à 72° C

La fluorescence émise par les sondes d'hydrolyse est mesurée lors de l'étape d'hybridation.

Les résultats obtenus sont exprimés en nombre de cycles de PCR. Ainsi plus la quantité d'ADN initial est faible plus le nombre de cycle de PCR nécessaires pour dépasser le seuil de fluorescence sera élevé.

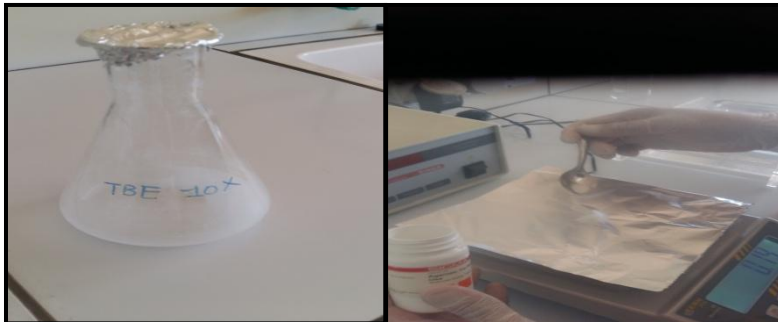
I.3.3.3 Electrophorèse d'ADN sur gel d'agarose

L'électrophorèse sur gel est une méthode de séparation des macromolécules en fonction de leur taille, de leur charge électrique et d'autres propriétés physiques. Le terme « électrophorèse » décrit la migration de particules chargées sous l'influence d'un champ électrique. Le préfixe « électro » fait référence à l'électricité et la racine « phorèse » vient du grec *phoros*, qui signifie « porter d'un côté à l'autre ». L'électrophorèse sur gel fait référence à une technique où les molécules sont obligées de traverser une couche de gel sous l'impulsion d'un courant électrique. L'énergie motrice de l'électrophorèse est la tension qui est appliquée à des électrodes placées de part et d'autre de la couche de gel (**Fig.18**). Les propriétés d'une molécule déterminent la rapidité avec laquelle un champ électrique peut traverser un milieu gélatineux (**Sambrook, J., 2010**).

La séparation de macromolécules dépend de deux variables : la charge et la masse. Lorsqu'un échantillon biologique tel qu'un ADN est mélangé à une solution tampon et appliqué sur un gel, il se produit une interaction des deux variables. Les molécules repoussées d'un côté par le courant électrique produit par une électrode sont attirées simultanément par le courant produit par l'autre électrode. La force de friction du matériau composant le gel joue le rôle de

« tamis moléculaire » et sépare les molécules en fonction de leur taille. Durant l'électrophorèse, les macromolécules sont poussées à travers les pores. Leur vitesse de migration à travers le champ électrique dépend des facteurs suivants :

- la résistance du champ,
- la taille et la forme des molécules,
- l'hydrophobicité relative des échantillons,
- la force ionique et la température du tampon dans lequel les molécules se déplacent **(Westermeier, 1997)**.



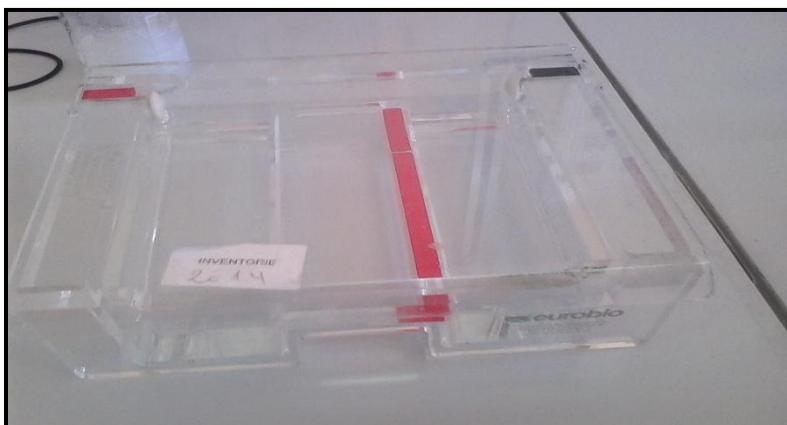
-Mélanger le tampon TBE et l'agarose à raison de 1,5 g d'agarose pour 100 ml de tampon.



-Faire fondre l'agarose au four à micro-ondes en surveillant et en agitant de temps à autre pour homogénéiser le mélange,
-Laisser refroidir.

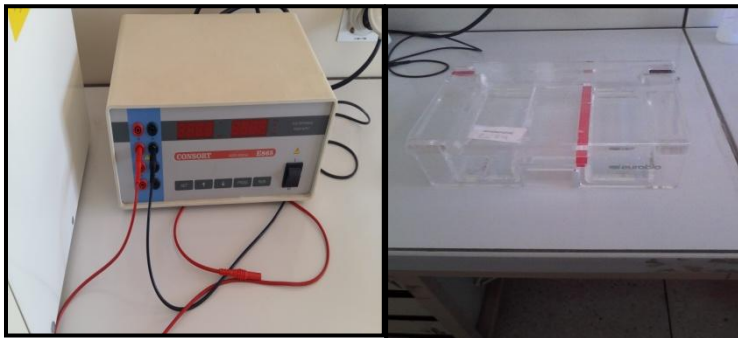
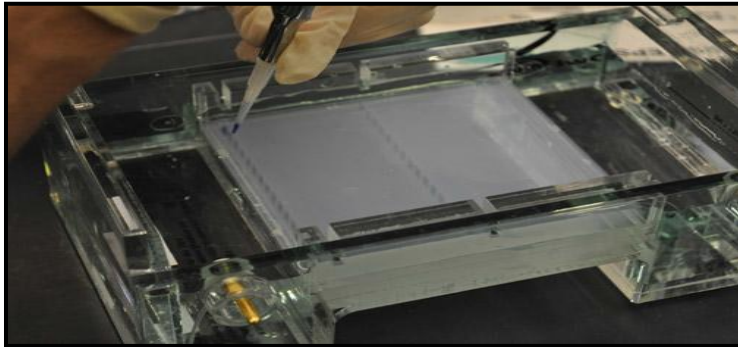
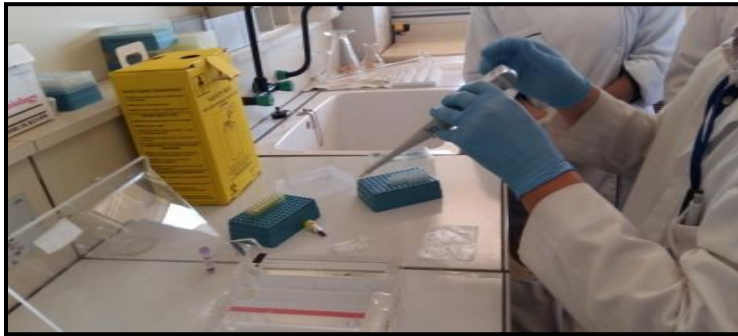


-Placer les joints avec la cuve pour fermer le support de gel et positionner le peigne à 1 mm du fond et à environ 1 cm de l'extrémité du support,
-Régler le niveau pour que le support de gel soit horizontal.

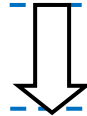


-Laisser refroidir, enlever le peigne et les joints.
-Le gel est prêt pour le dépôt des échantillons.

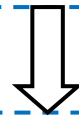
Préparation du matériel



-Placer les échantillons d'ADN pendant 3 min à 60-65°C, puis Les transférer sur de la glace pendant 2-3 min, mélanger le colorant de charge et l'ADN sur un morceau de parafilm et prélever le mélange avec une micropipette.



-Remplir les puits en faisant attention de ne pas déchirer le fond du gel avec la pointe de la pipette.



-Remplir la cuve de tampon TBE en versant délicatement et très lentement lorsque le gel commence à être recouvert pour éviter les fuites d'ADN vers le



-Fermer la cuve, brancher les fils et mettre sous tension.

-Laisser migrer jusqu'à ce que le colorant arrive à proximité du bord du gel

-Couper l'alimentation, débrancher les connexions et récupérer le gel dans son support.

Préparation et dépôt des échantillons



-Recouvrir le gel avec le colorant

-laisser agir 1h puis vider le colorant

-Les bandes d'ADN apparaissent en bleu



-Rincer dans l'eau distillée pendant quelques heures en changeant l'eau de temps en temps,

-Photographier le gel avec un appareil numérique ou le scanner

Révélation des bandes d'ADN

Figure18. Les principales étapes d'électrophorèse sur gel d'agarose.

I.3.4. Exploitation des résultats

I.3.4.1. les indices parasitaires

La prévalence ainsi que l'abondance et l'intensité moyenne des poux trouvés chez des élèves ont été calculés avec les indices parasitaires proposés par Margolis *et al.* (1982) par les formules suivantes:

La prévalence (P) :

C'est le rapport en pourcentage du nombre d'élèves infestés par les poux de tête (N) par le nombre d'élèves examinés (H).

$$P (\%) = N/H*100$$

L'abondance (A) :

Elle comprend le rapport du nombre total des espèces parasites (p) par le nombre total d'élèves examinés H

$$A = p/H$$

L'intensité parasitaire (I):

Elle correspond au rapport du nombre total des espèces parasites (p) par le nombre d'élèves infestés (N).

$$I = p/N$$

Troisième partie

Résultats

I. Indices parasitaires

Les résultats concernant les poux de tête collectés dans les 6 régions de l'Est de Tlemcen entre Mars et Mai 2015 ont été analysés à l'aide des indices parasitaires (**tableau 3**).

Tableau2. Résultats des indices parasitaires.

Lieux d'étude	Nombre total d'élèves (H)	Nombre d'élèves infestés (N)	Nombre d'espèces parasites (P)	Prévalence (P)	Abondance (A)	Intensité Parasitaire (I)
Hennaya	117	2	1	1,71	0,0085	0,5
Imama	120	2	1	1,67	0,0083	0,5
Mansourah	122	2	1	1,64	0,0081	0,5
Ain Youssef	102	2	1	1,96	0,0098	0,5
Fhoul	150	3	1	2	0,0067	0,33
Beni Mester	100	8	1	8	0,01	0,125
Total	711	19	1	16,98	0,0514	2,455

Le calcul des indices parasitaires montre que sur un total de 711 élèves examinés, 16,98% sont porteurs de poux sur leur tête. Le taux d'infestation le plus élevé est au niveau de Beni Mester avec un pourcentage de 8% par rapport aux autres sites.

La prévalence des élèves infestés de poux de tête est estimée et comparée en fonction du sexe des élèves (**Fig.19**). Parmi les 711 élèves examinés ; 14 sur les 409 (22%) des filles et 5 sur les 302 garçons (15,63%) sont positifs à la pédiculose capillaire.une forte prévalence de pédiculose capillaire chez le sexe féminin et cela dans toutes les régions de notre étude.

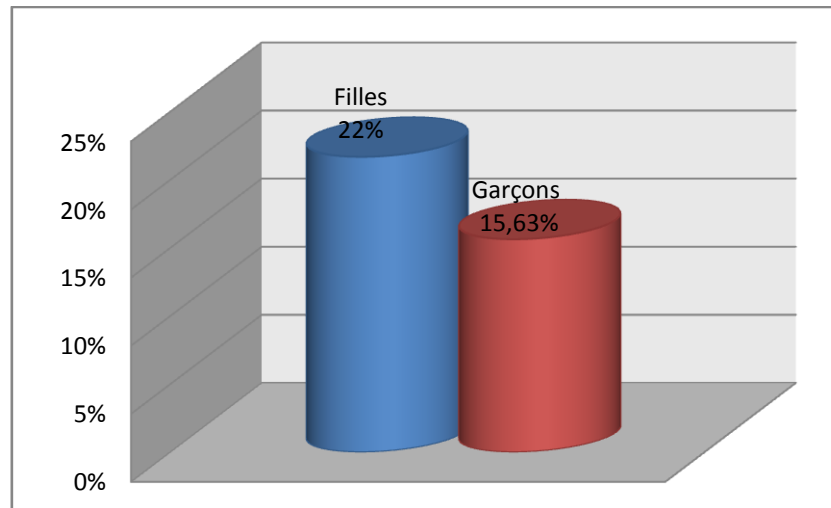


Figure 19. Prévalence des élèves infestés de poux de tête en fonction du sexe.

II. Identification des spécimens

II.1. Identification morphologique

Les poux sont distingués à partir de leur emplacement sur la tête. L'espèce *Pediculus humanus capitis* est confirmée selon la clé de Pajot (2000) en fonction des critères morphologiques (**Fig.20** et **Fig.21**). Les poux adultes ont une taille qui varie en moyenne entre 2 à 3 mm, de couleur brune à grise, la tête courte, les yeux sont sous forme d'une lentille simple, les antennes sont courtes formées de 5 articles, les segments abdominaux saillants sur les côtés avec des bandes chitineuses brunes.

Les proportions du fémur de la deuxième paire de pattes sont plus longues que larges. Les proportions du troisième segment antennaire sont à peu près aussi longues que larges.

L'extrémité abdominale est couverte de petites soies dans la région péripéniale pour les mâles et une paire de gonopodes pointues recouverts de soies plus épaisses chez les femelles.

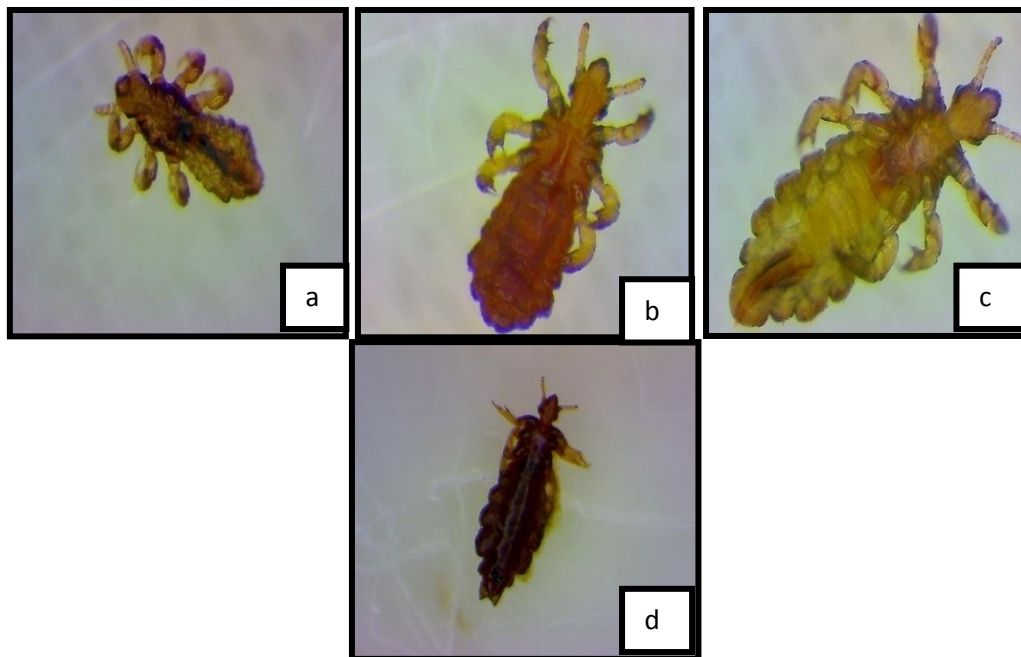


Figure 20. Morphologie du pou de tête larve L2 (a), larve L3 (b), adulte mâle (c), adulte femelle (d).

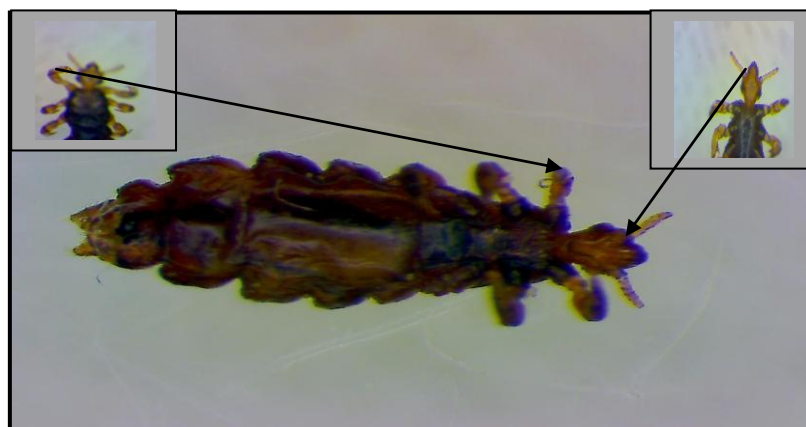


Figure 21. Etude morphologique du pou de tête.

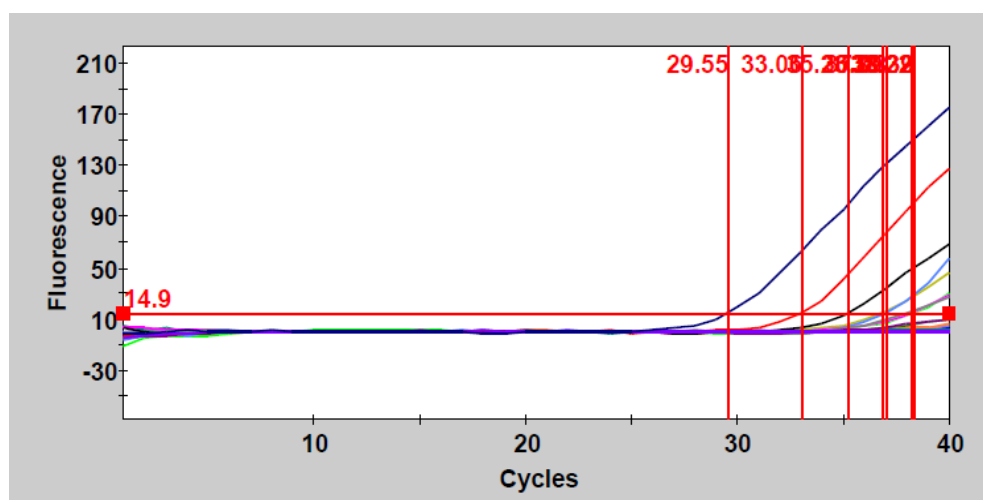
III. Résultats de la PCR en temps réel

La PCR en temps réel est un outil moléculaire pour l'identification des genres bactériens. Lors de l'analyse par qPCR, les résultats sont révélés positifs dont l'ADN est détecté directement grâce aux amorces utilisées (rpoBF et rpoBR) qui sont spécifiques pour *Acinetobacter*. Sur un total de 55 poux collectés, 20 ont été examinés. Les résultats sont regroupés dans le tableau 4 et représentés sous forme d'un graphique (**Fig.22**).

Tableau 3. Résultats de la PCR en temps réel.

Zones d'étude	Nombre d'élèves examinés	Nombre total de poux	Nombre total de poux examinés	Nombre de poux infectés (%)	Nombre d'élèves parasités par des poux infectés (%)
Hennaya	117	10	4	2	50%
Imama	120	6	4	4	100%
Mansourah	122	4	3	3	100%
Ain Youssef	102	11	3	2	66,66%
Fhoul	150	9	3	0	0%
Beni Mester	100	15	3	2	66,66%
Total	711	55	20	13	65%

Parmi les 20 poux examinés, 13 sont révélés positifs soit un pourcentage de 65%. Une forte prévalence d'infection des poux au niveau de Imama et Mansourah avec un pourcentage de (100%), suivie de Ain Youssef et Beni Mester (66,66%), puis Hennaya (50%). La commune d'Elfhoul présente la prévalence d'infections la plus faible avec (0%). La prévalence des personnes infestées par des poux infectés est de (65%) et les taux les plus élevés se présentent à Imama et Mansourah avec un pourcentage de 100%.

**Figure 22.** Résultats de la PCR en temps réel.

IV. Résultats de l'électrophorèse sur gel d'agarose

L'électrophorèse sur gel est une méthode de séparation des macromolécules en fonction de leur taille, de leur charge électrique et d'autres propriétés physiques. Le terme «électrophorèse» décrit la migration de particules chargées sous l'influence d'un champ électrique. Les résultats sont révélés positif dont les bandes d'ADN sont claires d'où la présence de l'ADN bactérien dans les poux examinés est confirmé (**Fig.23**).

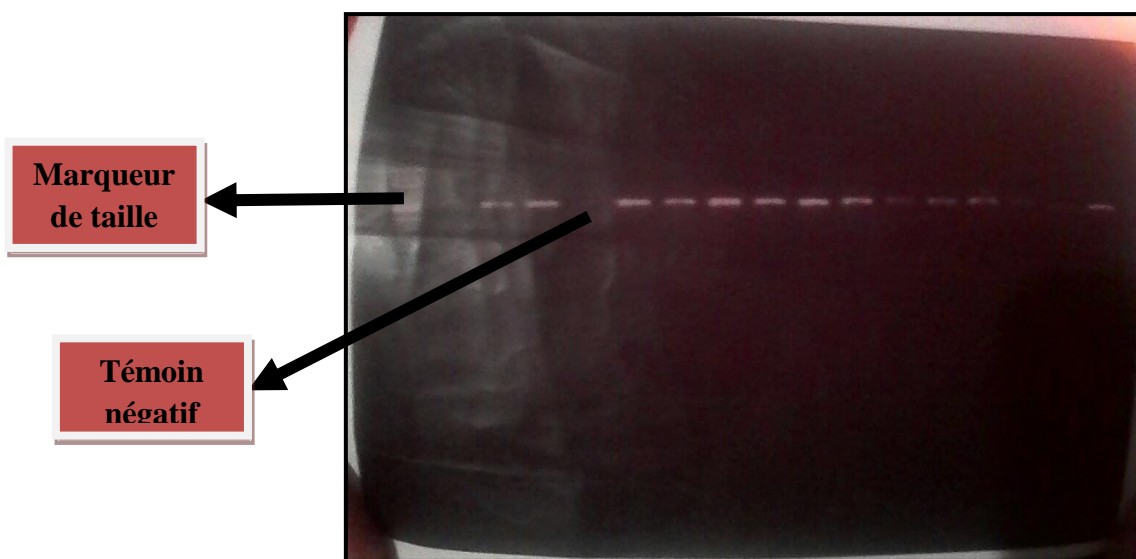


Figure 23. Résultats de l'électrophorèse sur gel d'agarose.

Quatrième partie

Discussion

Dans cette étude, 711 élèves dont 409 filles et 302 garçons, ont été examinés pour la recherche des poux de tête et ce, au niveau de 6 zones de la région Est de Tlemcen. Les résultats ont révélé 19 (16,98 %) élèves positifs avec un taux significativement plus élevé chez les filles 14 (22%), comparé à celui des garçons qui est de 5 (15, 63%). Ces résultats sont comparés à ceux trouvés dans une étude dans la région de Tlemcen-Ouest, avec un pourcentage de (26.96%) pour les filles et (7.69%) pour les garçons de **(Ouis., 2016)**. Dans une autre étude réalisée dans la région Est d'Alger, les résultats ont révélé 41 (15,07%) élèves positifs avec un taux élevé chez les filles 34 (23, 08%) par rapport à celui des garçons qui est de 7 (5, 85%) **(Guezi, 2015)**. Ces résultats rejoignent ceux de Boutellis et ses collaborateurs **(2011)** qui ont collecté 26 poux de tête de la région Ouest d'Alger à partir que de fillettes **(Boutellis et al., 2015)**. Une autre étude réalisée en Iran sur la prévalence de l'infestation par la pédiculose capillaire dans les milieux urbains d'Aran et Bidgol. Doroodgar et ses collaborateurs ont trouvé que la prévalence totale de l'infestation par les poux de tête était de 47% (42% chez les filles et 5% chez les garçons). Les résultats obtenus dans d'autres régions d'Iran ainsi que dans d'autres pays du monde ont aussi rapporté que l'infestation chez les filles est plus élevée que chez les garçons **(Doroodgar et al., 2014)**. Cela est dû au fait que les filles ont les cheveux plus longs, ce qui facilite le déplacement des poux et rend difficile le repérage des lentes et la procédure d'épouillage **(Badiaga & Brouqui, 2012)**.

Parmi les 20 poux testés par qPCR avec les amorces et la sonde spécifique au genre *Acinetobacter*, 13 poux se sont révélés positifs. Cependant, malgré plusieurs investigations de la transmissibilité de nombreux agents infectieux, aucune preuve concluante n'a démontré que les poux de tête peuvent contribuer à la transmission de maladies comme les poux de corps **(Bouvresse et al., 2011)**. Des recherches ont traduit cela par le fait que l'activité phagocytaire du système immunitaire chez les poux de tête est très élevée par rapport au pou de corps, ce qui explique la compétence vectorielle très élevée chez ce dernier comparé aux poux de tête **(Kim et al., 2011)**. Par ailleurs, la présence de l'ADN d'*Acinetobacter sp* dans nos poux suppose la transmission de cette bactérie et ceci a déjà été signalé par **Angelakis et al. (2011)**, lorsqu'il a trouvé l'ADN de *B. quintana* dans les de poux de tête.

Ce travail a été basé sur l'identification d'*Acinetobacter*, mais d'autres études ont confirmé en séquençant le gène *rpoB*, l'espèce *Acinetobacter baumannii* et ont montré que le taux d'infection des poux de tête par cette bactérie varie d'un pays à l'autre : 45,4% au Sénégal, 4,34% au Mali et 21,4% à la République Démocratique du Congo **(Sangaré et al., 2014)**. Cette bactérie a été également trouvée dans des poux de tête et des poux de corps

collectés en Ethiopie (7,1% et 69%) (**Kempf et al., 2012a**) et dans des poux de tête de collectés à partir des écoliers de Paris (47%) (**Bouveresse et al., 2012**).

Dernièrement, *A. baumannii* a été détecté dans des poux de tête (20%) en Thaïlande (**Sunantarapom et al. 2015**).

l'ADN d'*A. baumannii* a été aussi retrouvé dans différentes espèces de mouches (*Melophagus ovinus*) collectées sur des animaux domestiques en Ethiopie (**Kumsa et al. 2012**), dans les phlébotomes (*Lutzomyia longipalpis*) au Brésil (**Gouveia et al. 2008**) et la psylle de la pomme de terre (*Bactericera cockerelli*) aux Etats-Unis (**Nachappa et al. 2011**). La présence d'*A. baumannii* dans un large spectre d'arthropodes laisse supposer que c'est une bactérie endosymbionte, cependant, une étude réalisée sur des poux de tête provenant d'une région très isolée d'Amazonie n'a révélé aucune trace du genre *Acinetobacter* (**Boutellis et al., 2012b**).

Cinquième partie
Conclusion et perspectives

La réalisation de cette étude sur les poux de tête collectés à partir des écoliers de la région de Tlemcen-Est a permis de mettre en avant plusieurs observations dans le domaine entomologique et épidémiologique. Cette étude a débuté par une collecte de poux de tête entre Mars et Mai 2016. Ces poux ont été identifiés morphologiquement.

Par ailleurs, une forte prévalence de pédiculose capillaire est enregistrée chez les filles avec un pourcentage de 22 %. Après l'analyse des ADN des poux de tête collectés pour la détection des *Acinetobacter* par qPCR, la présence d'*Acinetobacter sp* est confirmée dans 13 poux, soit un pourcentage de 65. Cette détection démontre la transmission de cette bactérie chez les poux de tête ainsi que le risque de transmission de ces agents pathogènes à l'Homme. Suite à cette étude, plusieurs perspectives peuvent être envisagées. D'abord, il serait intéressant d'élargir l'étude vers d'autres sites de notre région. Il serait aussi intéressant de confirmer l'espèce *A. baumannii* dans les poux de tête et à l'aide d'outils moléculaires.

L'émergence préjudiciable des bactéries pathogènes transmises par des vecteurs comme les poux est un défi mondial de sécurité sanitaire qui peut être minimisé à condition qu'un certain nombre de mesures soient respectées.

Enfin, peuvent être envisagées des méthodes rapides et efficaces de détection des pathogènes dans les poux comme le Maldi-tof et l'amélioration des mesures de protection contre les risques d'infestation par les poux de tête.

Sixième partie
Références bibliographiques

1. **Alain, F.**, 2011. Le pou de corps. *Grande histoire, petit génome. Insect* n°158.
2. **Angelakis, E.**, J. M. Rolain, D. Raoult, and P. Brouqui. 2011. *Bartonella quintana* in head louse nits. *FEMS Immunol.Med.Microbiol.* 62:244-6.
3. **Badiaga, S. & Brooqui, P.**, 2012. Human louse-transmitted infectious diseases. *Clinical Microbiology and Infection.* 18: 332-337.
4. **Badiga, S.**, D. Raoult., 2008. Preventing and controlling emerging and reemerging transmissible diseases in homeless. *Edi*: 14.
5. **Barrau.**, Brouqui, P. et al., 2000. Poux de corps, patients sans domicile fixe : les risques infectieux actuels. *Bull Epidemiol Hebd.*
6. **Bauman, P.**, M. Doudoroff, R. Y. Stanier., 1968. A study of the Moraxella group II. *Oxidative-negative species (genus Acinetobacter).* *J. Bacterial.* 95: 1520-1541.
7. **Beijerinck.**, 1911. Über pigmentbildungbei Essgbakterien. *Center Bakteriol Parasutenk Abt II* 29.169-176.
8. **Berlau, J.**, H. Aucken, E. Houang, and T. L. Pitt., 1999b. Isolation of Acinetobacter spp. Including *A. bomannii* from vegetables: implications for hospital-acquired infection. *J Hosp Infect* 42:201-4.
9. **Berlau, J.**, H. Aucken, H. Malnick, and T. Pitt., 1999a. Distribution of Acinetobacter sepecies on skin of healthy humans. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 18:179-83.
10. **Bouvet, E.**, Choin, Bourdais. M., 1995a. Lutte contre la pediculose dans les écoles de Paris. *Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire* 14 .61-62.
11. **Bouvet, E.**, Choin, Bourdais. M.1995b. Efficacité de deux lotions pédiculicides. *Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire* 14 .62-63.
12. **Boutellis, A.** , Bitam, I., Fekir, K., Mana, N. et Raoult, D., 2015. Evidence that clade A and clade B head lice live in sympatry and recombine in Algeria . *Medical and Veterinary Entomology.* 29(1):94-8.
13. **Boutellis, A.**, Abi-Rached, L. et Raoult, D., 2014. The origin and distribution of human lice in the world. *Infect Genet Evol.* 23:209-17.
14. **Boutellis, A.**, Veracx, A., Abrahao, J. et Raoult, D ., 2012b. Amazonian head lice-specific genotypes are putatively pre-Colombian. *Am J Trop Med Huy.* 88: 1180-1184.
15. **Bouvresse, S.**, Socholovshi, C., Bredjane, Z., Durand, R., Izri, A., Raoult, D., Chosidow, O. et Brooqui, P., 2011. No evidence of *Bartonella quintana* but detection of *Acinetobacetr baumannii* in head lce from elementary school children in Paris. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 34:475-7.

16. **Bukhart, CN.**, 2003. Fomite transmission with head lice. *A continuing controversy*. 361: 99-100.
17. **Bustin, S. A.**, 2000. Absolute quantification of mRNA using real time reverse transcription polymerase chain reaction assays. *Journal of Molecular Endocrinology* . 25: 169-193.
18. **Brooqui, P.**, La Scola, B., Roux, V. et Raoult, D., 1999. Chronic *Bartonella quintana* bacteremia in homeless patients. *New Engl J Med*.340 :184-9.
19. **Clark, J. M.**, K. S. Yoon, S. H. Lee, and B.R. Pittendrigh., 2013. Human lice: Past, present and future control. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, v. 106, p. 162- 171.
20. **Crawshaw, J.G.**, Millership, S., 2003. Incidence and prevalence of head lice in a district health authority area commun public health. *Dis* 6:246-9.
21. **Didier, F.**, Christophe, Lagneau, Sylvie, Lecollinet. et al., 2009. Les infections humaines transmises par les poux. *La lutte antivectoriel en France*.80-91.
22. **Dijkshoorn, L.**, E. Van Aken, L. Shunburne, T. J. Van der Reijden, A .T. Bernards, A. Nemeč, and K. J. Towner., 2005. Prévalence of *Acinetobacter bomannii* and other *Acinetobacter spp.* in fecal samples from non-hospitalised individuals.*Clin Microbiol Infect* 11: 329-32.
23. **Doroodgar, A.**, Sadr., Sadr, F., Paksa, A.,Mahbobe, S., Doroodrar, M., Sayyah, M., Tashakkor, Z. et Doroodgar, M., 2014. The prevalence of pediculosis capitis and relevant factors in primary school student of Kashan Central Irn ., *Asian Pac J Trop Dis*. 4(6): 500-504.
24. **Doby, J.M.**, 1995. Le pou dans l’histoire et dans l’art. *Actualités pharmaceutiques*. 217. 35-39.
25. **Drali, R.**, Benquiten, S., Badiaga, S., Bitam, I., Rolain, JM . Et Brouqui, P., 2012. Detection of a knockdown resistance mutation associated with permethrin resistance in the body louse *Pediculus humanus corporis* by use of melting curve analysis genotyping. *J Clin Microbiol*.50: 2229-2233.
26. **Drali, D.**, Boutellis, A., Raoult, D., Rolain, J.M. et Brooqui, P., 2013. Distinguishing Body Lice from Head Lice by Multiplex Real Time PCR Analysis of the phum – PHUM540560. *Plose one*. 8(2) : 6p.
27. **Drali, R.**, 2014. Poux humains : Différenciation, distribution phylogéographique, Host Switching et contrôle. 17p.

28. **Fankowski, BL.**, 2002. Committe on infectious Diseases, Head lice, Pediatrics. *American Academy of Pediatrics, Committee on School Health*. 110: 638-43.
29. **Fournier, P.E.**, D. Vallenet. V. Barbe, S. Audic, H. Ogata, L. Poirel, H. Richet, C. Robert, S. Mangenot, C. bergel, P. Nordman, J. Weissenbach, D. Raoult, J.M. Claverie., 2006. Compararative genomics of multidrug resistance in *Acinetobacter bomannii*. *Plos Genet*. 2E7.
30. **Gerald, L.**, Mandell. et al., 2010. Principles and practices of infectious disease. 7th Edition.
31. **Geer, C.**, 1778. Mémoires pour server à l’histoire des insectes. 62-68.
32. **Gouveia, C.**, M. D. Asensi, V. Zahner, E. F. Rangel, and S. M. Oliveira. 2008. Study on the bacterial midgut microbiota associated to different Brazilian populations of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva) (Diptera: Psychodidae). *Neotrop.Entomol* 37.597-601.
33. **Guezi, L.**, 2015. Détection moléculaire des *Acinetobacter* sp dans les poux de tête chez les écoliers. Mémoire de Master en biologie : Parasitologie. Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene Alger. Faculté des Sciences Biologiques 6p.
34. **Gravinet, F.**, 2007. Pédiculose du cuir chevelu: Traitement et conseil à l’officine. Thèse de Docteur d’Etat: Pharmacie. Université de LIMOGES. Faculté de Pharmacie, 116p.
35. **Gratz, NG.**, 1997. Human lice: Their prevalence, control and resistance to insecticides. Ed. Who, Genève.
36. **Grasse, PP.**, Poisson, RA. et Tuzet, O., 1970. Présis de Sciences Biologiques. Zoologie I, Invertébrés. 2^{ème} édition. Paris : Masson. 927.
37. **Harris, J.**, Crawshaw, J.G, Millership, S., 2003. Incidence and prevalence of head lice in a district health authority area comun public health. *Dis* 6:246-9.
38. **Izri, A.** et Guiguen, C., 2013. La pédiculose et le rôle du laboratoire. *Revue Francophone Des Laboratoires*. 454 : 33- 39 .
39. **Izri, A.**, 2001. Les poux : diagnostic, nuisance et rôle vectoriel. *Revue Française des laboratoires*. 338 :37-40.
40. **Jans, B.**, Y. Glupezynski, C. Suetens. et Van Cleenput Els., 2004. Enquête épidémiologique relative à *Acinetobacter bomannii* producteur de BLSE .type VEB- *Ien Belgique*.

41. **Jon, KN.**, 2003. Treatment of pediculosis capitis. English JC III. Review of common therapeutic options in United States for the treatment of pediculosis capitis. *Clin Infect Dis.* 36:1355-61.
42. **Julie, H.**, 2013. La pédiculose: Les différent poux et traitements.
43. **Kempf, M.**, Abdissa, A .,Diatta, G., Trape, J .F ., Angelakis, E ., Medianicov, O., Lascola, B. et Raoult,D ., 2012. Détection of *Acinetobacterbaumanii* in human and body lice from Ethiopia and identification of new genotypes. *International Journal of Infectious Diseases.*16 (9): 680- 683.
44. **Kempf, M. &** Rolain, J.M ., 2012. Emergence of resistance to carbapenems in *Acinetobacterbaumanii* in Europe: clinical impact and therapeutic options. *Inernational Journal of Antimicrobial Agents* .39 (2): 105 – 119.
45. **Kempf, M.**, J. M. Rolain, G. Diatta, S. Azza, B. Samb, O. Mediannikov, Sow A. Gassama, S. M. Diene, F. Fenollar, and D. Raoult., 2012. Carbapenem Resistance and *Acinetobacter baumannii* in Senegal: The Paradigm of a Common Phenomenon in Natural Reservoirs. *PloS ONE* 7.e39495.
46. **Kim, JH.**, Min, JS, Kown ,DH., Yoon, KS., Strycharz, J., Koh, YH, Pittendrigh, BR., Clark, JM., Lee, SH., 2011. Comparaison of the humoral and cellular immune responses between body and head lice following bacterial challenge. *Insect Biochem Mol Biol.* 41:332-339.
47. **Kirkness, E. F.** et al., 2010. Genome sequences of the human body louse and its 619 primary endosymbiont provide insights into the permanent parasitic lifestyle: 620 *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A*, v. 107, no. 27, p. 12168-12173.
48. **Kittler, R.**, M. Kayser, and 621 M. Stoneking., 2003. Molecular evolution of *Pediculus* 622 *humanus* and the origin of clothing: *Curr.Biol.*, v. 13, no. 16, p. 1414-1417.
49. **Kumsa, B.**, Socolovschi,C., Parola, P. and Raoult, D., 2012. Molecular Detection of *Acinetobacter baumannii* in the Lice and Keds of Domestic Animals in Oromia Regional State, Ethiopia. *PLoS.ONE*. Submitted . Ref Type: Journal (Full).
50. **Nachappa, P.**, Levy, J., Pierson, E. and Tamborindeguy, C. 2011. Diversity of endosymbionts in the potato psyllid, *Bactericera cockerelli* (Triozidae), vector of zebra chip disease of potato. *Curr.Microbiol.* 62:1510-20.
51. **Ouis.**, 2016. Détection moléculaire des *Acinetobacter* sp dans les poux de tête (*Pediculus humanus capitis*) chez les écoliers de Tlemcen-Ouest. Mémoire de Master

- en biologie : Microbiologie appliquée. Université de Tlemcen. Faculté des Sciences Biologiques 35 p.
52. **Olds, BP.**, Coates BS, Steele, LD., Sun, W., Agunbiade, TA., Yoon, KS., Strycharz JP, Lee SH, Paige KN, Clark JM, Pittendrigh BR ., 2012. Comparison of the transcriptional profiles of head and body lice. *Insect Mol Biol* 21: 257-268.
53. **Patton, WS.** et Ewansam., 1931-Insects, Ticks, Mites and venomous animals of medical and veterinary importance. Part.II. Public health. 740.
54. **Pajot, X.**, 2000. Les poux (Insecta, Anoploura) de la région afrotropicale, Editions de l'IRD, Paris, 294p.
55. **Peleg, A. Y.**, H. Seifert, and D.L. Paterson., 2008. *Acinetobacter bomannii*: Emergence of successful pathogen. *Clin Microbiol Revue.* 21:538-82.
56. **Pittendrigh, BR.**, Olds, BP., Yoon, KS., Lee, SH ., Sun, W. et Clark, JM ., 2013. The genomics of human lice: From the genom to potential for future control strategies. *Pesticide Biochemistry and Physiology.*106: 172 – 176.
57. **Poitras, E.** & Houde, A., 2002. La PCR en temps réel : principes et applications. *Reviews in Biology and Biotechnology.*2(2). P: 2-11.
58. **Québec.**, 2012. Maladies infectieuses - Pédiculose (poux). *Prévention et contrôle des infections dans les services de garde et écoles du Québec - Guide d'intervention* édition 2015, Chapitre 7 : 289-296 .
59. **Raoult, D .**, Reed, DL ., Dittmar, K., Kirchman, JJ., Rolain ,JM., Guillen, S. et Light, JE., 2008. Molecular identification of lice from pre-Columbian mummies . *Journal of Investigative Dermatology.*197 : 535-543.
60. **Raoult, D.**, Ndiokubwayo, JB., Tissot-Dupont, H ., Roux, V., Faugere, B., Abegbinni, R. and Birtles, RJ.,1998. Outbreak of epidemic typhus associated with trench fever in Burundi. *Lancet* 352.353-8.
61. **Roberts, RJ.**, 2002. Clinical practice, Head lice. *N Engl J Med.* 346: 1645-50.
62. **Rodhain, F.** et Perez, C., 1948. Précis d'entomologie médical et vétérinaire. Notion d'épidémiologie des maladies à vecteurs, Paris : Maloine. 458.
63. **Sangare, AK.**, Boutellis, A., Drali, R., Audoly, G.,Weber, G., Rolain, JM. et Raoult,D., 2015. Doxycycline kills human lice through its activity on their bacterial symbiont. *International Journal of Antimicrobial Agents.* 45 (6): 675-676.
64. **Sambrook, J.**, Fritsch, E.F. and Maniatis, T. (1989). Gel electrophoresis of DNA. In:

Sambrook, J., Fritsch, E.F. and Maniatis, T. (Eds.) *Molecular Cloning: a Laboratory Manual*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, USA, chapter 6.

65. **Shaub, I.G.** et Hauber, F.D., 1948. Biochemical and serological study of group of identical Gram-negative Bacilli from human sources. *J Bacteriol* . 56: 379-385.
66. **Taleb, C.**, 2013. Etude de la résistance aux antibiotiques d'*Acinetobacterbaumani* au niveau des services de traumatologie et de médecine interne du CHU de Tlemcen. Mémoire de Master en Biologie : Contrôle du Développement Microbien. Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, 43p .
67. **Veracx, A.** & Raoult, D., 2012. Biology and genetics of human head lice in. *Trends Parasitology*. 28(12): 563-571.
68. **Villecourt, P.** et Jacobelli, G ., 1954. Pathogenic or Saprophytic bacteria transforming glucose to gluconic acid. *Bacterium anitratum*, B5W, *Moraxella lowoffivar*. *An Ins Pasteur, Paris*.86: 494-502.
69. **Westermeier, R.**, 1997. Electrophoresis in Practice: a Guide to Methods and applications of DNA and Protein Separation, VCH, Weinheim.

Références électroniques

1. **Combes, C.**, 2003. La coévolution de l'homme et du pou (en ligne). Le palais-de couverte disponible sur : [http://www. Palais de couverte.fr/actu/évolution/index.htm](http://www.Palais de couverte.fr/actu/évolution/index.htm).
2. **Esculape.**, 1997. Les poux. Pédiculose(en ligne). Disponible sur : <http://www.esculape.com/fmc2/ pédiculose.html>.

Annexe

Annexe 1.

Matériel non biologique.



Loupe binoculaire



Bain a sec



Vortex



Mini centrifugeuse



Smartcycler



Hotte Biocap



Centrifugeuse



Tubes Eppendorfs



Tubes Smart Cycler

تلخيص

القملة هي حشرة عديمة الأجنحة، طفيلي الثدييات الإلزامية و الطيور وهو من السائد في جميع البلدان وفي جميع مستويات المجتمع. وهو مسؤول عن *Pédiculose*. تم جمع ما مجموعه 55 قمل الرأس في المدرسة من المنطقة الشرقية لتلمسان (حناية ، بني مستار ، الإمامة ، المنصورة، عين يوسف والفحول) . وقد تم تحديد هذه القملة من حيث الشكل على أنها *Pediculus humanus capitis*. تم الكشف عن الحمض النووي الخاص ب *Acinetobacter sp* و تحليلها من قبل QPCR، بما في ذلك ارتفاع معدل انتشار العدوى بين الفتيات (22%).

كلمات البحث: قمل الرأس , *Acinetobacter sp* , prevalence,

Résumé

Le pou est un insecte aptère, ectoparasite obligatoire de mammifères et d'oiseaux. Il est prévalent dans tous les pays et dans tous les niveaux de la société. Il est responsable de la pédiculose du cuir chevelu.

Un total de 55 poux de tête a été collecté au niveau des écoliers de la région de Tlemcen- Est (Hennaya, Beni Mester ,Imama, Mansourah, Ain Youssef et El fhou).

Ces poux ont été identifiés morphologiquement comme *Pediculus humanus capitis*. L'ADN d'*Acinetobacter sp* a été détecté dans 13 poux analysés par qPCR, dont une forte prévalence d'infestation a été détectée chez les filles (22%).

Mots clés : pou de tête ; *Pediculus humanus capitis*; Prévalence ; *Acinetobacter sp*.

Abstract

The louse is a wingless insect, ectoparasite mandatory mammals and birds. It is prevalent in all countries and in all levels of society. He is responsible for the pédiculose disease.

A total of 55 head lice were collected at the schools of Tlemcen- Eastern Region (Hennaya, BeniMester , Imama , Mansoura , El Ain Youssef and fhou) .

These lice were morphologically identified as *Pediculus humanus capitis*. The *Acinetobacter sp* DNA was detected dans 13 lice analyzed by qPCR, including a high prevalence of infection was detected among girls (22%).

Keywords: head louse; *Pediculus humanus capitis* ; prevalence ; *Acinetobacter sp*

