

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Mouloud MAMMERI de Tizi Ouzou
Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques
Département de Biologie Animale et Végétale



Mémoire de Fin d'Etudes

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Spécialité : Entomologie appliquée à la Médecine, à l'Agriculture et à la Foresterie

Thème

**Détection moléculaire des *Acinetobacter* sp. dans les poux de tête
(*Pediculus humanus capitis* De Geer, 1778) dans la région de Tizi-
Ouzou**

Réalisé par:

M^{lle} HOUCHI Katia et M^{lle} KARA Sara

Soutenu le 0 -06-2016, Devant le jury composé de :

Président : M^{me} SADOUDI Djamila

Professeur à l'UMMTO

Promoteur : M^r KERNIF Tahar

Maître de recherche (Institut Pasteur d'Alger)

Co-promotrice : M^{me} BRAHMI Karima

Maître de Conférences (UMMTO)

Examineurs : M^{me} AOUAR Malika

Maître de Conférences (UMMTO)

Promotion 2015-2016

Remerciements

La réalisation de ce travail n'est rendue possible que grâce au soutien et à la bonne volonté de certaines personnes à qui nous jugeons nécessaire de témoigner notre gratitude.

*Les premiers remerciements vont tout naturellement à **M^r KERNIF T**, maître de recherche à l'Institut Pasteur d'Alger, qui a bien voulu encadrer ce mémoire; nous tenons tout particulièrement à exprimer notre reconnaissance pour la qualité de son encadrement, sa disponibilité et les conseils qu'il nous a prodigués tout le long de ce travail.*

*Nous présentons aussi nos remerciements à **M^{me} BRAHMI K**, maître de conférences à l'UMMTO, qui nous a guidé tout au long de ce travail. Qu'elle soit assurée de tout notre respect et de toute notre reconnaissance.*

*Nous adressons également, nos sincères remerciements à **M^r HARRAT Z**, pour nous avoir accueilli au sein de son service d'Eco-Epidémiologie Parasitaire et Génétique des Populations à l'Institut Pasteur d'Alger.*

*Nous exprimons nos profonds remerciements à **M^{me} SADOUDI D**, professeur à l'UMMTO, pour l'honneur qu'elle nous a fait de présider ce jury.*

Nos vifs remerciements vont à M^{me} AOULAR M d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous tenons à remercier D^r IRATNI; D^r MOUSSI; D^r MERRAD et D^r HADDAD, médecins de la santé scolaire de Tizi-Ouzou, sans oublier M^r BOUCHOUCHA, Directeur de l'Action Sociale (DAS) Tizi-Ouzou, de nous avoir facilité l'accès pour faire l'échantillonnage.

Nous remercions chaleureusement M^{elle} ALI-AHMED pour son aide à calculer les analyses statistiques.

Nos remerciements s'adressent aussi à tout nos enseignants qui nous ont assuré des études de haut niveau et qui nous ont permis d'acquérir des connaissances; et à tout ceux qui nous ont aidé de près ou de loin, par un geste, une parole, un conseil....



Dédicaces

*Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut...
Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le
respect, la reconnaissance...*

Je dédie ce mémoire...

*A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de
mon cœur, ma vie et mon bonheur, que dieu les garde pour moi ;*

Mes chers parents.

*A celle qui m'a toujours aidé, écouté, soutenu et encouragé tout
au long de mon parcours;*

Ma chère sœur.

*Aux personnes qui m'ont énormément aidé et Pour leur soutien
moral;*

Mes adorables frères & mon cher beau frère.

*A celui qui m'encourage toujours pour réussir, mon soutien
moral et source de joie et de bonheur;*

Mon très cher Rahim.

*A mon petit neveu **Ramdane**.*

A mes grands parents paternels et maternels.

*A tout mes oncles et tantes, cousins et cousines, et tout les
membres de ma famille **HOUCHI**.*

*A tout mes amis surtout **Syssy et Aldjia**.*

*A ma binôme **Sara** et toute sa famille.*

*A tout les camarades de la promotion Entomologie Appliquée à
la Médecine à l'Agriculture et à la Foresterie 2014/2016.*

Katia



Dédicaces

Je dédie ce travail à :

Mes très chers parents Rabah et Fazia

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être. Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitterai jamais assez. Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie.

A ma très chère grande mère Mamas que le bon dieu te garde pour nous.

A mes grands parents maternelles jedi et mani merci pour tout.

A mes chers frères Rezki et Moumouh qui ont toujours était la pour moi.

A ma petite sœur Lynda que j'aime je te souhaite la réussite.

A mes chers oncles et leurs femmes.

A toutes mes tantes .

A mon fiancé Toufik qui na jamais cessé de croire en moi, merci pour ton soutien.

A ma belle mère Zhira et mon beau père Aziz.

A mes beaux frères hassane et khaled.

A mes chères belles sœurs Hannane Hassina et Souhila.

A toutes mes copines : Fella, ma binôme Katia, Imene et Kaissa.

A toute la famille kara, khendek et Mouhoubi.

Et en fin à toute la promotion de l'entomologie appliquée à la médecine à l'agriculture et à la foresterie 2015/2016.

Sara

N°	Liste des figures	Page
Figure 1	Représentation d'un pou Mallophage (a- pou d'ovin); et de quelques espèces d'Anoploures (b, c et d).	4
Figure 2	Morphologie du pou de tête : adulte femelle (a), adulte mâle (b), lente (c) et larve (d).	5
Figure 3	Cycle de vie des poux de tête.	6
Figure 4	Représentation d'un prurit, symptôme principal de la pédiculose capillaire.	7
Figure 5	Modèle graphique de la PCR en temps réel où l'intensité de la fluorescence.	10
Figure 6	Principe de la technique PCR en temps réel.	11
Figure 7	Situation géographique de la région de Tizi-Ouzou.	13
Figure 8	Examens sur les cheveux.	14
Figure 9	Principales étapes d'extraction d'ADN.	17
Figure10	Protocole expérimental de la PCR en temps réel.	19
Figure 11	Etude morphologique du pou de tête.	22
Figure 12	Différents stades de développement du pou de tête.	23
Figure 13	Prévalence des patients infestés de poux de tête en fonction du sexe.	25
Figure 14	Résultats de la PCR en temps réel.	26

N°	Liste des tableaux	Page
Tableau 1	Classification systématique des poux.	3
Tableau 2	Composants du Mix.	18
Tableau 3	Sonde et amorces utilisées en PCR en temps réel.	20
Tableau 4	Résultats des indices parasitaires en fonction des écoles étudiées.	23
Tableau 5	Résultats du test de Khi-2 pour calculer la prévalence d'infestation par région	24
Tableau 6	Résultats du test de Khi-2 pour calculer la prévalence d'infestation en fonction du sexe	25
Tableau 7	Résultats de la RT-PCR.	26

Annexes	Liste des annexes
Annexe I	Autorisations pour la réalisation des investigations.
Annexe II	Appareillages
Annexe III	Légende des résultats de la RT-PCR.

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

PCR : Polymerase chain reaction.

RT-PCR : PCR en temps réel.

rpoB : gène codant pour la sous unité β du ribosome bacterien.

Sommaire

Introduction	1
---------------------------	----------

Chapitre I. Synthèse bibliographique

I.1. Généralités sur les poux.....	3
I.1.1. Systématique.....	3
I.1.2. Morphologie (<i>Pediculus humanus capitis</i>).....	4
I.1.2.1. L'adulte	4
I.1.2.2. L'œuf	5
I.1.2.3. La larve.....	5
I.1.3. Bio-écologie	5
I.1.4. Aspects cliniques et diagnostiques.....	6
I.1.5. Rôle infectieux des poux de tête.....	7
I.1.5.1. <i>Acinetobacter</i> sp.....	7
I.1.5.2. Autres agents infectieux pathogènes.....	8
I.1.6. Prévention et lutte anti poux.....	8
I.2. Technique de la détection moléculaire.....	9
I.2.1. La Polymerase Chain Reaction « PCR»	9
I.2.1.1. La PCR quantitative en temps réel.....	9
I.2.1.2. Principe.....	9
I.2.1.3. Etapes de la réalisation de la PCR	10
I.2.1.3.1. L'extraction d'ADN.....	10
I.2.1.3.2. L'amplification	10
I.2.1.3.2.1. Dénaturation d'ADN	11
I.2.1.3.2.2. Hybridation des amorces	11
I.2.1.3.2.3. Elongation des amorces.....	11
I.2.1.4 Les applications de la PCR	11
I.2.1.5 Avantages et inconvénients de la PCR	12

Chapitre II. Matériel et méthodes

II.1. Présentation de la région d'étude.....	13
II.1.1. Situation géographique de la région de Tizi-Ouzou.....	13
II.1.2. Choix des zones d'échantillonnages	13
II.2. Méthodologie de travail.....	13
II.2.1. Matériel biologique.....	13
II.2.2. Méthode de travail sur le terrain	14

II.2.3. Méthodes utilisées au laboratoire	14
II.2.3.1. Identification morphologique des spécimens.....	14
II.2.4. Diagnostic moléculaire d' <i>Acinetobacter</i> sp.....	15
II.2.4.1. Extraction de l'ADN génomique	15
II.2.4.2. La PCR en temps réel.....	18
II.2.4.2.1. Préparation du mix.....	18
II.2.4.2.2. Amplification par Smart Cyclor.....	20
II.3. Exploitation des résultats.....	21
II.3.1. Les indices parasitaires.....	21
II.3.2. Emploi du test du Khi-2 (X2)	21

Chapitre III. Résultats

III.1. Identification morphologique.....	22
III.2. Exploitation des résultats par les indices parasitaires.....	23
III.3. Test de Khi-2.....	24
III.4. Résultats de la PCR en temps réel.....	25

Chapitre IV. Discussion

IV.1. Discussion sur l'identification morphologique.....	28
IV.2. Discussion des résultats des indices parasitaires et du test de Khi-2.....	28
IV.3. Discussion sur les résultats de la PCR en temps réel.....	28

Conclusion et perspectives.....30

Références bibliographiques

Annexes

Introduction

Les poux (Insecta: Phthiraptera) sont des insectes dépourvus d'ailes, au corps aplati dorso-ventralement, de couleur terne, mesurant 1 à 5mm de longueur. Sont des ectoparasites obligatoires des oiseaux et des mammifères **(Franc, 1994)**. A ce jour, environ 4.900 espèces de poux ont été répertoriées et réparties dans quatre sous-ordres: d'une part les poux mâcheurs (chewing / biting lice) comprenant les Rhynchophthirina, les Ischnocera et les Amblycera et d'autre part les anoploures (Anoplura) suceurs de sang **(Drali, 2014)**.

Ces insectes ont été reconnus comme des parasites de l'Homme depuis des milliers d'années. Ils ont été identifiés sur plusieurs momies égyptiennes, péruviennes et récemment chez une momie du Chili **(Boutellis et al., 2013)**. On distingue trois espèces de poux qui peuvent parasiter l'Homme: le pou de tête (*Pediculus humanus capitis* **Geer, 1778**) responsable de la pédiculose du cuir chevelu, le pou de corps (*Pediculus humanus corporis* **Linné, 1758**) agent de la pédiculose humaine corporelle, et le pou du pubis (*Phthirus pubis* **Leach, 1815**) responsable de la phthiriose humaine transmise sexuellement **(Izri & Guiguen, 2013)**.

Le pou de tête et le pou de corps sont deux écotypes indiscernables occupant chacun une niche écologique spécifique: les cheveux et le cuir chevelu pour le pou de tête et les vêtements pour le pou de corps **(Durdin & Musser, 1994)**. La pédiculose due au pou de tête touche chaque année des centaines de millions d'enfants à travers le monde, nonobstant la classe sociale à laquelle ils appartiennent, alors que l'infestation par le pou de corps est associée au déclin des conditions sociales et hygiéniques provoqué par les guerres civiles et l'instabilité économique, est ré-émergente dans le monde entier **(Houhamdi et al., 2005)**. Le pou de corps est un vecteur de maladies, il peut transmettre trois bactéries pathogènes: *Rickettsia prowazekii*, l'agent du typhus épidémique dont l'épidémie la plus récente a été décrite lors de la guerre civile au Burundi; *Borrelia recurrentis*, l'agent de fièvre récurrente, historiquement responsable d'épidémies massives en Eurasie et en Afrique et qui sévit actuellement en Ethiopie et les pays avoisinants; *Bartonella quintana*, l'agent de la fièvre des tranchées, responsable de bactériémies chroniques, de l'angiomatose bacillaire, d'endocardites et de lymphadénopathies **(Desenclos et al., 2011)**. Un quatrième pathogène humain responsable de septicémies et des infections nosocomiales multi-résistantes, (*Acinetobacter* sp), a été associé aux poux de corps et aux poux de tête **(Kempf et al., 2012a)**.

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., 2015)**, 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 écoliers dans quelques établissements scolaires, les enfants assistés et les femmes hospitalisées au centre de psychiatrie, se trouvant dans certaines régions de Tizi-Ouzou.
- Faire une identification morphologique de l'espèce *pediculus humanus capitis*.
- Identification de l'agent pathogène *Acinetobacter* sp. dans nos échantillons de poux de tête en utilisant la méthode moléculaire de PCR en temps réel ou PCR quantitative (qPCR).

Dans la présente étude, le premier chapitre porte sur des données bibliographiques; premièrement nous présentons des généralités sur les poux (systématique, morphologie, bio-écologie, nuisance et rôle pathologique des poux de tête et la lutte anti-poux). Deuxièmement nous expliquons le principe de la technique de détection moléculaire des *Acinetobacter* sp.

Le chapitre deux explique les diverses méthodes de travail sur le terrain, et la partie expérimentale réalisée à l'institut Pasteur d'Alger portant sur l'identification de l'espèce et la recherche des *Acinetobacter* sp dans les poux de tête et les techniques utilisées pour exploiter les résultats.

Le troisième chapitre traite les résultats obtenus qui seront discutés dans le chapitre quatre. Enfin, ce mémoire sera conclu avec toutes les idées requises au cours de cette étude ainsi que les perspectives qui en découlent.

Chapitre I. Synthèse bibliographique

Dans ce chapitre nous donnons des généralités sur les poux et le principe de la technique de détection moléculaire.

I.1. Généralités sur les poux

Les caractéristiques bioécologiques des poux et les moyens de lutte contre ces espèces sont traités.

I.1.1. Systématique

Il existe deux groupes majeurs de poux: les Anoploures «les poux suceurs» et les Mallophages «les poux broyeurs » (**Fig. 1 a**). Le sous-ordre des Anoploures appartient au phylum des Arthropoda, la classe des Insecta et l'ordre des Phthiraptira (**Ko & Elston, 2004**). Les Anoploures se distinguent facilement par la tête allongée et étroite porte deux antennes bien visibles latéralement, composées habituellement de cinq segments. Les pièces buccales forment une trompe rétractile dans une capsule céphalique (**Franç, 1994**).

Les poux qui parasitent l'Homme sont hématophages « *sucking lice* » appartiennent à deux familles dans le sous-ordre des Anoploures. On distingue dans la famille Pediculidae, le pou de corps *Pediculus humanus humanus* (également appelé *Pediculus humanus corporis*) (**Fig. 1 b**) et le pou de tête *Pediculus humanus capitis* (**Fig. 1 c**); et dans la famille Phthiridae, le pou pubien *Phthirus pubis* (**Fig. 1 d**); communément appelé morpion (**Houhamdi et al., 2005**). La classification systématique des Anoploures.est présentée dans le Tableau 1

Tableau 1. Classification systématique des Anoploures (**Verax & Raoult, 2012**)

Embranchement	Arthropodes		
Sous-Embranchement	Antennates = Mandibulates		
Classe	Insectes = Hexapodes		
Sous-Classe	Ptérygotes		
Ordre	Phthiraptera		
Sous-Ordre	Anoploures		
Famille	Pediculidae		Phthiridae
Genre	<i>Pediculus</i>		<i>Phthirus</i>
Espèce	<i>Pediculus humanus</i>		<i>pubis</i> ou <i>inguinalis</i>
Variété	<i>P. humanus corporis</i>	<i>P. humanus capitis</i>	<i>Phthirus pubis</i>
Nom usuel	Pou de corps (Linné, 1758).	Pou de tête (Geer, 1778).	Pou de pubis ou morpion (Leach, 1815).

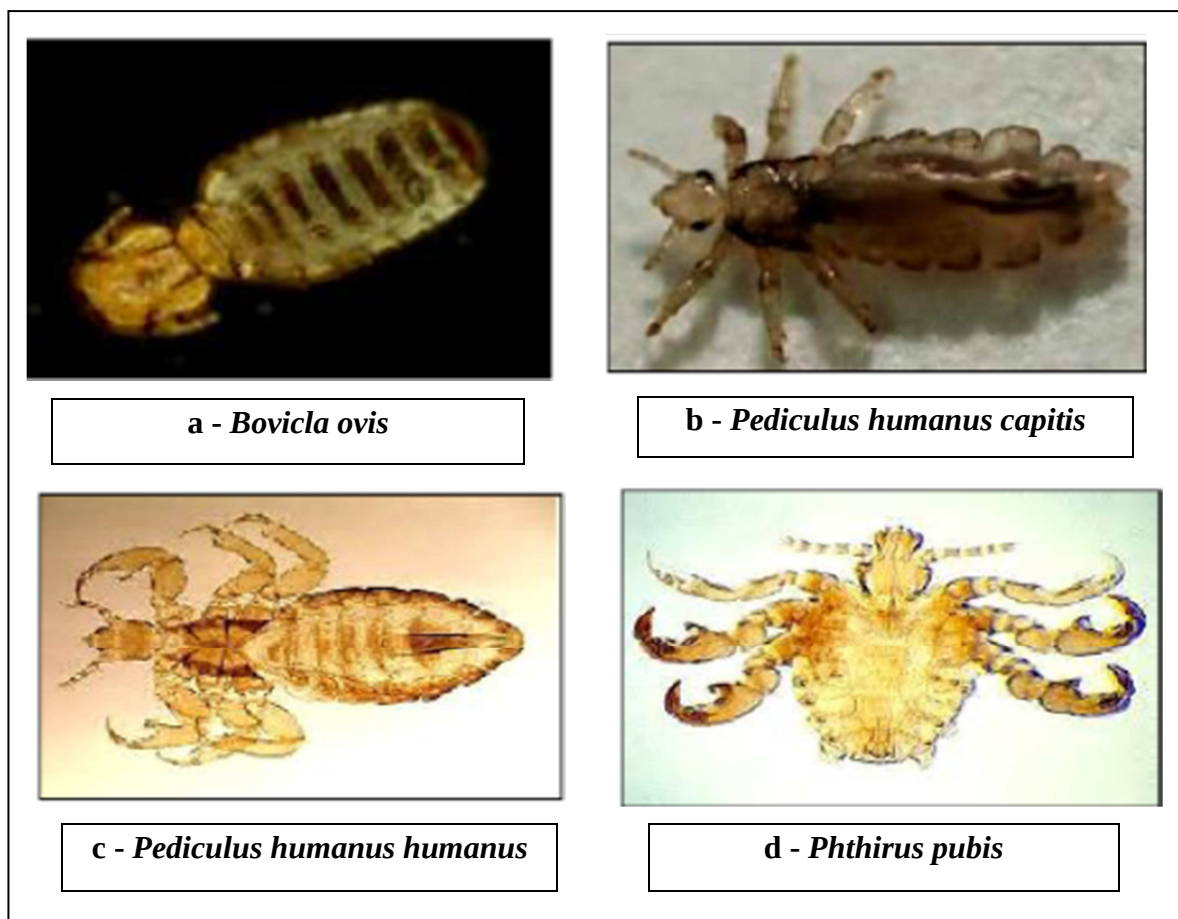


Figure 1 - Représentation d'un pou Mallophage (a- pou d'ovin); et de quelques espèces d'Anoploures (b, c et d) (**Boutellis et al., 2014**).

I.1.2. Morphologie (*Pediculus humanus capitis*)

I.1.2.1. L'adulte

Le mâle mesure 2,1 à 2,6 mm et la femelle 2,4 à 3,3mm. La tête a un prolongement rigide en forme de museau nommé rostre. Celui-ci porte les pièces buccales modifiées en stylets. Ces derniers percent la peau de leur hôte pour en sucer le sang. La pigmentation varie selon la couleur des cheveux de l'hôte (**Ripert, 2007**).

Le thorax est constitué de trois segments plus ou moins fusionnés. Il porte trois paires de pattes courtes portant un éperon sur le tibia. Le tarse est constitué d'un seul segment terminé à l'extrémité par une griffe. Celle-ci forme avec l'éperon tibial une pince pouvant entourer le poil ce qui permet à l'insecte de se fixer activement (**Franç, 1994**).

L'abdomen représente les deux tiers du corps en longueur et comporte quatre à six segments aplatis terminés par l'appareil génital mâle ou femelle. Il existe à ce niveau un dimorphisme sexuel.

Chez la femelle (**Fig. 2 a**), une échancrure avec deux appendices: les gonopodes qui servent à déposer et fixer les œufs au moment de la ponte, et chez le mâle (**Fig. 2 b**), on observe à l'extrémité postérieure, un pénis rétractile triangulaire (**Eric, 2000**).

I.1.2.2. L'œuf

Les lentes (œufs) sont de petits corps ovales, brillants, mesurant de 0,3 à 0,8 mm (**Fig. 2 c**). Elles sont collées aux cheveux de l'hôte, souvent à proximité du cuir chevelu, où elles trouvent le niveau d'humidité idéal pour leur développement et leur potentielle éclosion (**Soto et al., 2012**). L'éclosion survient au bout de 7 à 12 jours, donnant naissance à une larve. Cette dernière ressemble à l'adulte en plus petit, elle mesure environ 1 mm (**Ripert, 2007**).

I.1.2.3. La larve

Les jeunes possèdent le même aspect général que l'adulte avec une taille plus réduite (**Fig. 2 d**), car ils ont une métamorphose incomplète « hémimétaboles » et subissent trois mues (L1, L2, L3) avant de devenir adultes (**Gavinet, 2007**).

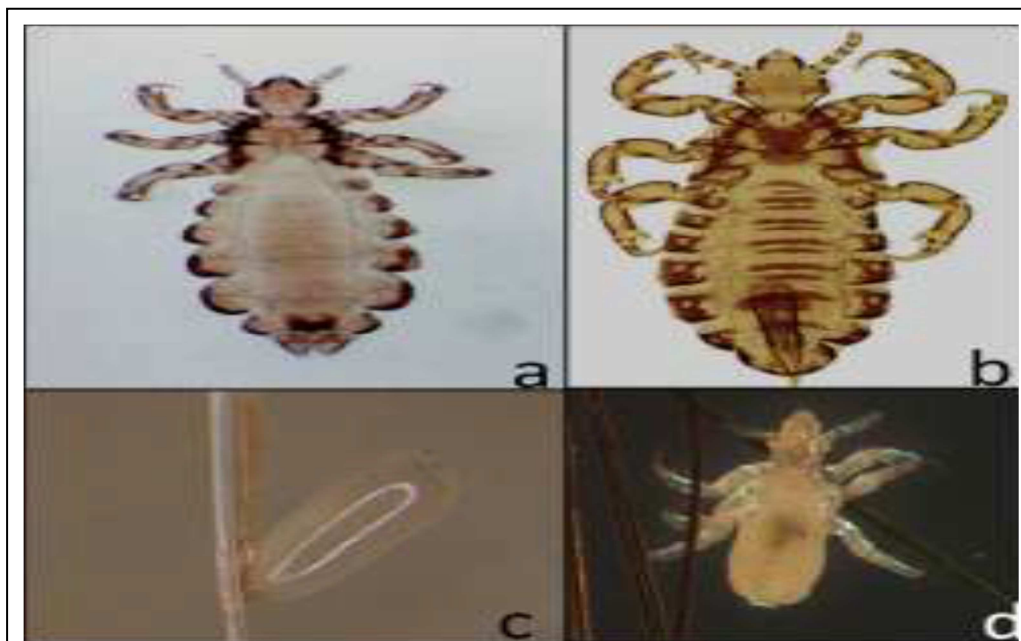


Figure 2- Morphologie du pou de tête; Adulte femelle (a); Adulte mâle (b); Lente (c); Larve (d) (**Drali et al., 2014**).

I.1.3. Bio-écologie

Les poux sont des ectoparasites obligatoires (**Veracx & Raoult, 2012**). Les poux de tête vivent trois à quatre semaines à proximité du cuir chevelu afin d'avoir la nourriture, la chaleur et l'humidité et subvenir à leur besoin. Toutes les trois à six heures ils sucent du sang

et injectent de la salive (**Grasse, 1951**). Le cycle de vie d'un pou est d'environ 20 à 30 jours au total (**Fig. 3**). Le pou femelle fécondé pond en moyenne cinq lentes par jour (une centaine au cours de sa vie). L'éclosion survient entre sept et douze jours après la ponte; plus la température et l'humidité du cuir chevelu sont élevées, plus vite les lentes pourront éclore (**Soto et al., 2012**). Après l'éclosion des lentes, les larves subissent trois (03) mues avant devenir un adulte mâle ou femelle en 12 à 15 jours (**Izri, 2014**).

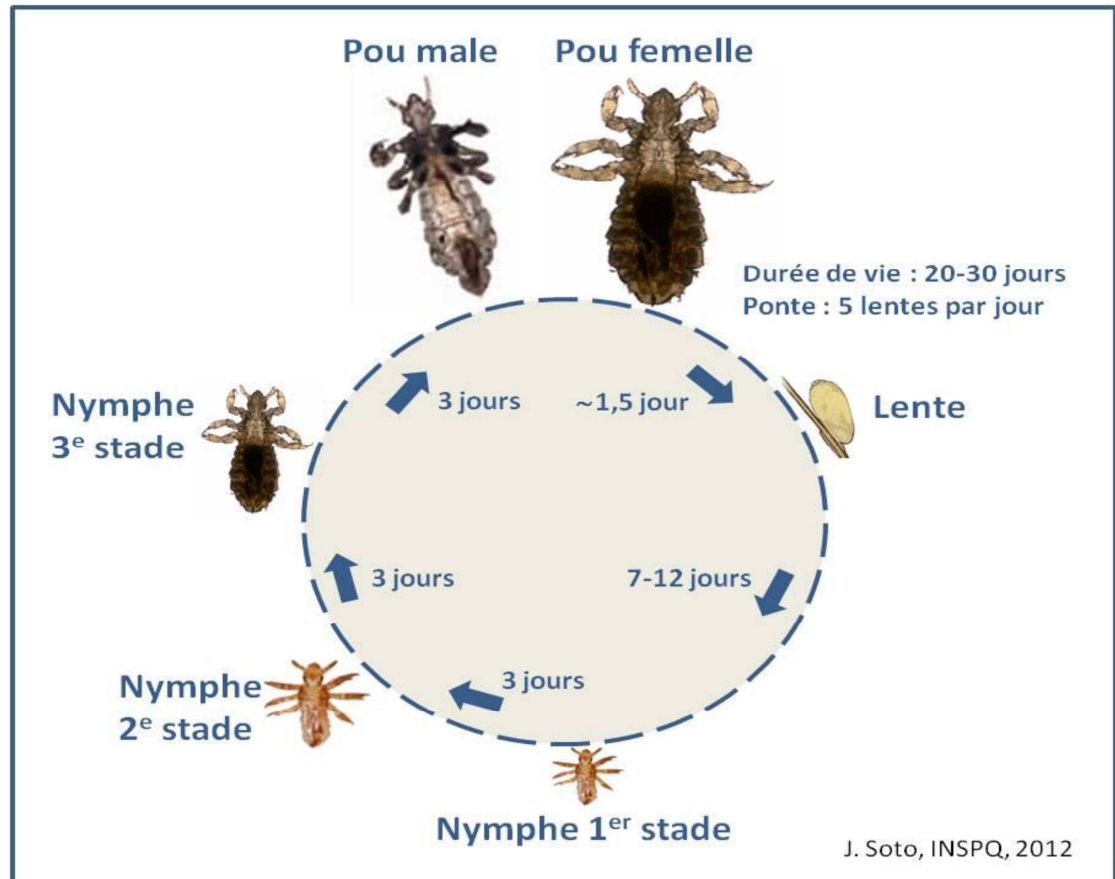


Figure 3 - Cycle de vie des poux de tête (Soto et al., 2012).

I.1.4. Aspects cliniques et diagnostiques

Le critère diagnostique d'une infestation active par les poux réside dans la détection de poux vivants et mobiles et/ou de lentes vivantes (**Gavinet, 2007**). En cas d'infestation discrète, rechercher des lentes dans les cheveux situés derrière les oreilles, c'est là que l'on a le plus de chances d'en trouver (**Ripert, 2007**). Les lentes vides s'observent plus facilement que les poux adultes elles sont blanchâtres, elles restent accrochées solidement aux cheveux par l'intermédiaire d'une substance adhésive appelée ciment produite par la femelle (**Izri, 2014**).

Les larves et les adultes piquent et la piqûre est prurigineuse (**Fig. 4**). Ce prurit, parfois plus accentué la nuit, peut perturber le sommeil de l'enfant qui peut alors être fatigué dans la journée et être moins attentif à l'école (**Badiaga & Brouqui, 2012**).

D'autres manifestations cliniques sont possibles, quoiqu'elles soient moins fréquentes, notamment des adénopathies locales ou cervicales, une conjonctivite ou un eczéma du cuir chevelu principalement localisé derrière les oreilles ou à l'occiput (**Soto et al., 2012**).



Figure 4 - Représentation d'un prurit, symptôme principale de la pédiculose capillaire. (**Izri & Guiguen, 2013**).

I.1.5. Rôle infectieux des poux de tête

I.1.5.1. *Acinetobacter* sp.

L'histoire du genre *Acinetobacter* a été commencée au début du XX^{ème} siècle avec la description par un microbiologiste Néerlandais Martinus Wiliem Beijerinck d'un microorganisme dénommé *Micrococcus calcoaceticus* isolé à partir de prélèvement de sol. C'est en 1954 que Brisou et Prévost proposent la désignation du genre *Acinetobacter* (du grec *akinetos* «Incapable de bouger»). Une avancée majeure dans l'histoire 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 ou genomic species. A ce jour, 35 espèces bactériennes d'*Acineibacter* ont été décrites, dont 26 espèces nommées et neuf espèces génomiques (**Camp et al., 2010., Howard et al., 2012**).

Certaines étant clairement dénommées comme *Acinetobacter calcoaceticus*, *Acinetobacter haemolyticus*, *Acinetohacter johnsonii*, *Acinetobacter junii*, *Acinetobacter iwoffli* et *Acinetobacter baumannii* qui représente l'espèce d'*Acinetobacter* de la plus grande importance clinique. Le genre *Acinetobacter* est actuellement défini comme appartenant à la

Famille des Moraxellaceae qui regroupe les genres *Moraxella*, *Acinetobacter* et *P.synchrobacter* (**Bergogne-Bérézin, Towner, 1996**).

Acinetobacter baumannii 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.

I.1.5.2. Autres agents infectieux pathogènes

En plus des désagréments cutanés qu'ils occasionnent, les poux peuvent être, dans certaines circonstances, vecteurs de graves infections potentiellement mortelles. Il s'agit de trois infections septicémiques (**Eric, 2000**), le typhus exanthématique (*Rickettsia prowazekii*), la fièvre des tranchées (*Bartonella quintana*) et la fièvre récurrente (*Borrelia recurrentis*) qui historiquement survenaient dans des populations en situations de grande précarité (guerres, camps de réfugiés, grande pauvreté, situations sanitaires dégradées...) (**Desenclos et al., 2011**).

L'ADN de *B. quintana* a été identifié dans les poux de tête en provenance de Sénégal et de France (**Angelakis et al., 2011; Boutellis et al., 2012a**). L'ADN de *B. recurrentis* a été détecté dans les poux de tête de la population d'Ethiopie (**Boutellis et al., 2013a**).

I.1.6. Prévention et lutte anti poux

La prévention de la pédiculose du cuir chevelu repose avant tout sur la surveillance et l'hygiène des enfants, et le traitement rapide en cas d'infestation de toute la famille ou la collectivité. Cette surveillance doit être continue toute l'année et peut faire appel à l'utilisation de peignes fins pour une meilleure efficacité (**Izri & Guiguen, 2013**). L'utilité du peigne fin (action mécanique) ne se limite pas à enlever les poux et les lentes. Celui-ci joue également un rôle de sensibilisation des parents, de sorte que ces derniers adopteront une attitude préventive en examinant régulièrement les cheveux de leurs enfants. Par ailleurs, le fait d'enlever les lentes visibles pourrait aider à contrôler le phénomène d'appréhension provoqué par la présence de poux dans un milieu donné (**Soto et al., 2012**).

Traitement à base des insecticides comme le Malathion à 1% ou la Permethrine à 1% mais les poux peuvent développer des résistances, comme avec la Permethrine qui se traduit par une mutation du gène (*KDR*) codant pour la sous unité α du canal sodium (**Drali et al., 2012**).

L'utilisation des huiles essentielles, leur mode d'action est mécanique, elles bouchent les pores des poux et des lentes empêchant ainsi l'insecte de respirer ; huile de coco ; huile d'anis; huile de lavande ; huile de romarin ; huile de citronnelle..... (**Gavinet, 2007**).

I.2. Technique de la détection moléculaire

La technique de détection moléculaire « PCR »; le principe de la PCR en temps réel et les avantages et les inconvénients de cette technique sont développés ci-dessous.

I.2.1. La Polymerase Chain Reaction «PCR»

La PCR (Polymerase Chain Reaction) fut inventée par K. Mullis en 1983 et brevetée en 1985 (**Nîmes, 2007**). La réaction en chaîne par polymérase est une méthode de biologie moléculaire d'amplification *in vitro* qui permet de copier en grand nombre une séquence d'ADN connue, présente dans l'échantillon même en très faible quantité (**Méric & Balaruc, 2008; Roux & Rolain, 2014**). Elle s'est diversifiée en nombreuses techniques «PCR multiplex, PCR en temps réel », mais toutes comprennent en général un canevas semblable. Tout d'abord, l'ADN doit être extrait, puis amplifié, parfois traité et enfin visualisé ou séquencé (**Huybens et al., 2009 ;Vassias, 2012**).

I.2.1.1. La PCR quantitative en temps réel

La PCR en temps réel a connu un essor considérable au cours de ces dernières années, sans doute en raison de sa simplicité de mise en œuvre, de son automatisation pour des applications d'analyses à grande échelle (**Espy et al., 2006., Pascal, 2007**).

I.2.1.2. Principe

La technologie de PCR en temps réel devient de plus en plus populaire dans différents secteurs d'activité. La PCR en temps réel est basée sur la détection et la quantification d'un reporter fluorescent dont l'émission est directement proportionnelle à la quantité d'amplicons générés pendant la réaction PCR. Des sondes fluorescentes se fixent soit sur l'ADN double brin (technologie SYBR) ou sur une séquence d'ADN précise (technologie Taqman et Beacon). Ce système en «temps réel» utilise un thermocycleur modifié pour stimuler l'émission des échantillons par rayonnement UV. 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 appelé « Ct pour Cycle Threshold en anglais » est à la base d'une quantification précise et reproductible pour les techniques fluorescentes en PCR. Les données de la fluorescence sont collectées à chaque cycle de la PCR et représentent la quantité de produit amplifié à cet instant (**Fig. 5**) (**Poitras & Houde, 2002**). La valeur de Ct est inversement proportionnelle au Log de la concentration initiale en molécules cibles.

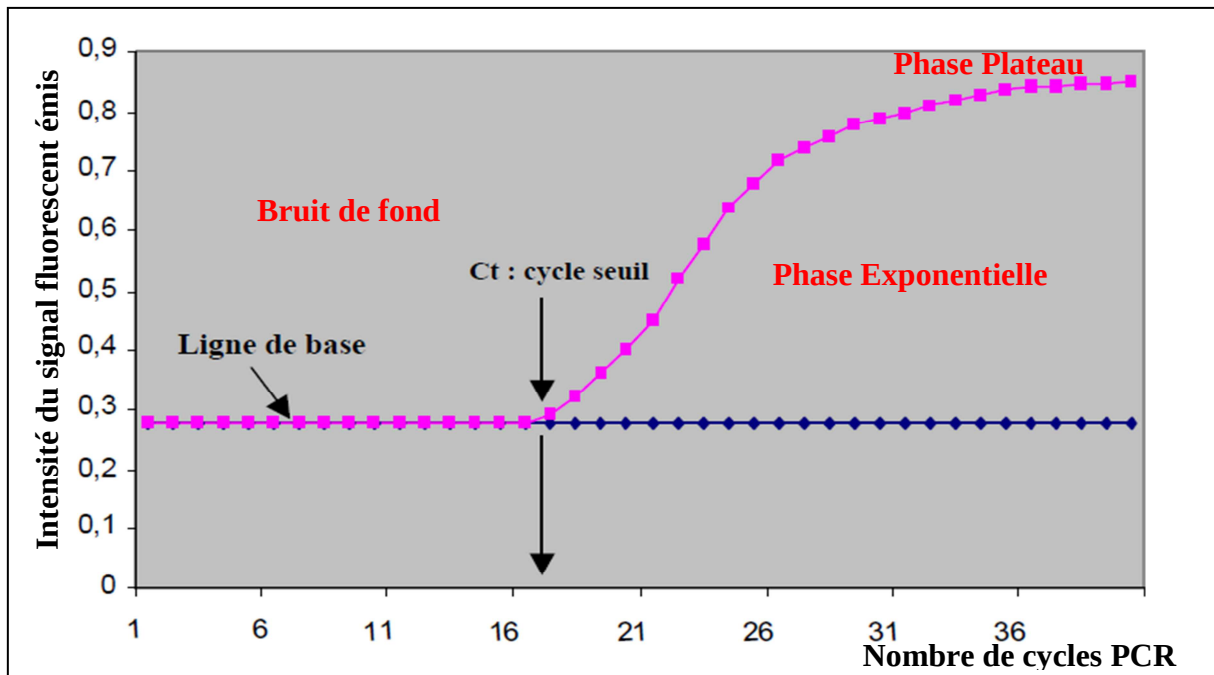


Figure 5 - Modèle graphique de la PCR en temps réel où l'intensité de la fluorescence est exprimée en fonction du nombre de cycle (**Poitras & Houde, 2002**).

I.2.1.3. Etapes de la réalisation de la PCR

La réalisation de la PCR dans son ensemble implique trois étapes: l'extraction de l'ADN et l'amplification.

I.2.1.3.1. L'extraction d'ADN

L'extraction de l'ADN est une technique permettant d'isoler l'ADN de cellules ou de tissus. La première étape, en général, est une lyse des cellules ou des tissus, consistant éventuellement en un broyage, suivi d'une extraction par détergents associé à de la protéinase k, qui vont disperser les bicouches lipidiques des membranes et dénaturer les protéines, en particulier celles qui sont associées à l'ADN (**Vassias, 2012**).

I.2.1.3.2. L'amplification

La technique PCR est constituée d'une trentaine de cycles, chacun d'eux comportant trois phases différentes à trois températures différentes (**Fig. 6**): la dénaturation, l'hybridation et l'élongation (ou extension des amorces) (**Vassias, 2012**).

I.2.1.3.2.1. Dénaturation d'ADN

Elle permet de séparer par la chaleur les deux brins d'ADN (**Fig. 6**). Le mélange réactionnel est amené à 94°C, température à laquelle les deux brins d'ADN se séparent (**Kuiken et al., 2003; Dennis et al., 2006**).

I.2.1.3.2.2. Hybridation des amorces

La deuxième période s'effectue à une température généralement comprise entre 40 et 70°C, dite température d'hybridation des amorces. La diminution de la température permet aux liaisons hydrogène de se reformer et donc aux brins complémentaires de s'hybrider. Les amorces, courtes séquences monocaténaire complémentaires de régions qui flanquent l'ADN à amplifier, s'hybrident plus facilement que les longs brins d'ADN matriciel (**Fig. 6**). Plus la température d'hybridation est élevée, plus l'hybridation est sélective, plus elle est spécifique (Nîmes, 2007).

I.2.1.3.2.3. Elongation des amorces

La troisième période s'effectue à une température de 72°C, température optimal pour l'action de la Taq polymérase. Elle synthétise l'ADN de l'extrémité 5' vers l'extrémité 3' (**Fig. 6**).

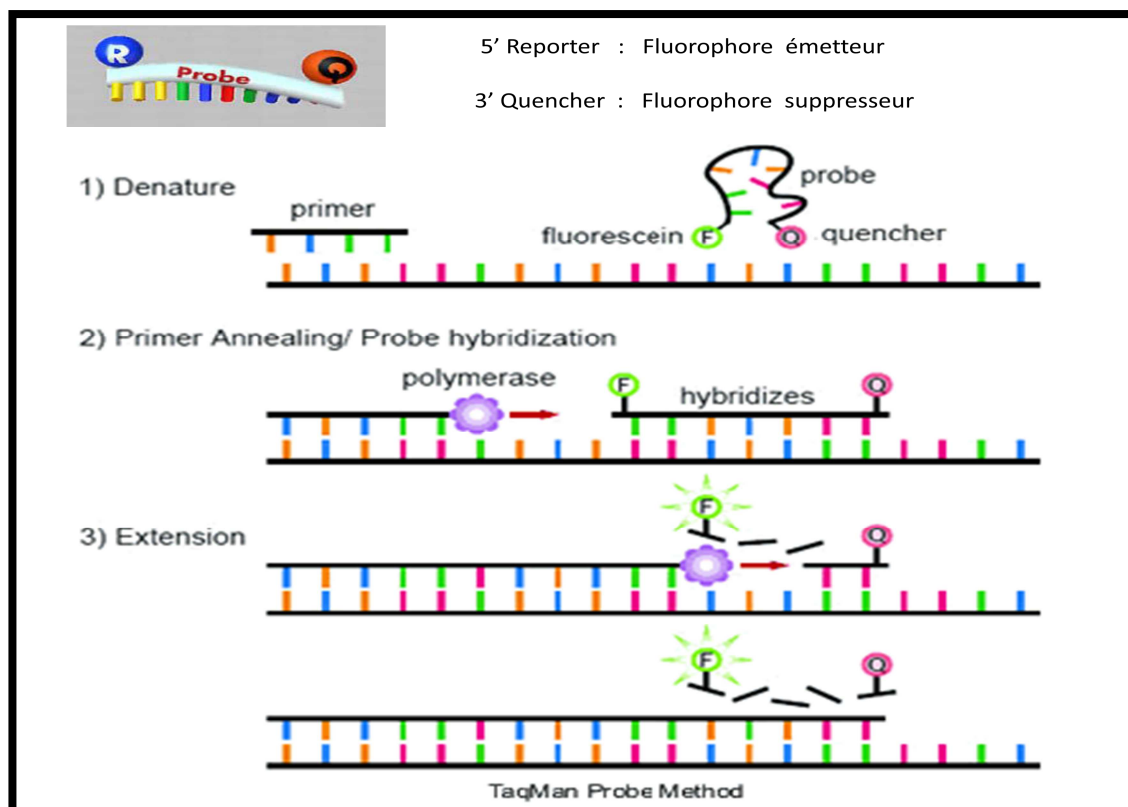


Figure 6 - Principe de la technique RT- PCR

I.2.1.4 Les applications de la PCR

La PCR est largement utilisée à des fins de diagnostic pour détecter la présence d'une séquence d'ADN spécifique de tel ou tel organisme dans un fluide biologique. Elle est aussi employée pour réaliser des empreintes génétiques, qu'ils s'agissent de l'identification

génétique d'une personne dans le cadre d'une enquête judiciaire, ou de l'identification de variétés animales, végétales ou microbiennes destinée à des tests de qualité alimentaire, de diagnostic ou de sélection variétale (Nîmes, 2007).

I.2.1.5 Avantages et inconvénients de la PCR

La PCR est une technique automatique à faible risque de contamination, rapide, très sensible et spécifique. Elle comporte cependant des inconvénients qui en font une méthodologie délicate à mettre en œuvre: l'optimisation de la PCR en vue d'une meilleure spécificité et sensibilité est une étape importante et très complexe.

Une bonne extraction éliminant les inhibiteurs de PCR est donc indispensable. Les étapes d'extraction, préparation de l'amplification et détection des amplicons doivent se faire dans des pièces séparées (DNA-ARN/Free) avec des matériels distincts (Vassias, 2012).

Chapitre II.

Matériel et méthodes

Après le choix des zones d'échantillonnages, les méthodes de travail sur le terrain et les méthodes utilisées au laboratoire telles que l'identification des poux, diagnostic moléculaire par la PCR, et les techniques employées pour l'exploitation des résultats sont traités et développées dans ce chapitre.

II.1. Présentation de la région d'étude

II.1.1. Situation géographique de la région de Tizi-Ouzou

La région de Tizi-Ouzou se situe à une distance de 100Km à l'Est d'Alger (capitale) et à l'Ouest de Bejaia (**Fig. 7**). Elle comprend une chaîne côtière composée des Daïras de Tigzirt, Azzeffoun, un massif central situé entre l'Oued Sebaou et la dépression de Drâa El Mizan, Ouadhias (**S.U.D.R, 2016**).

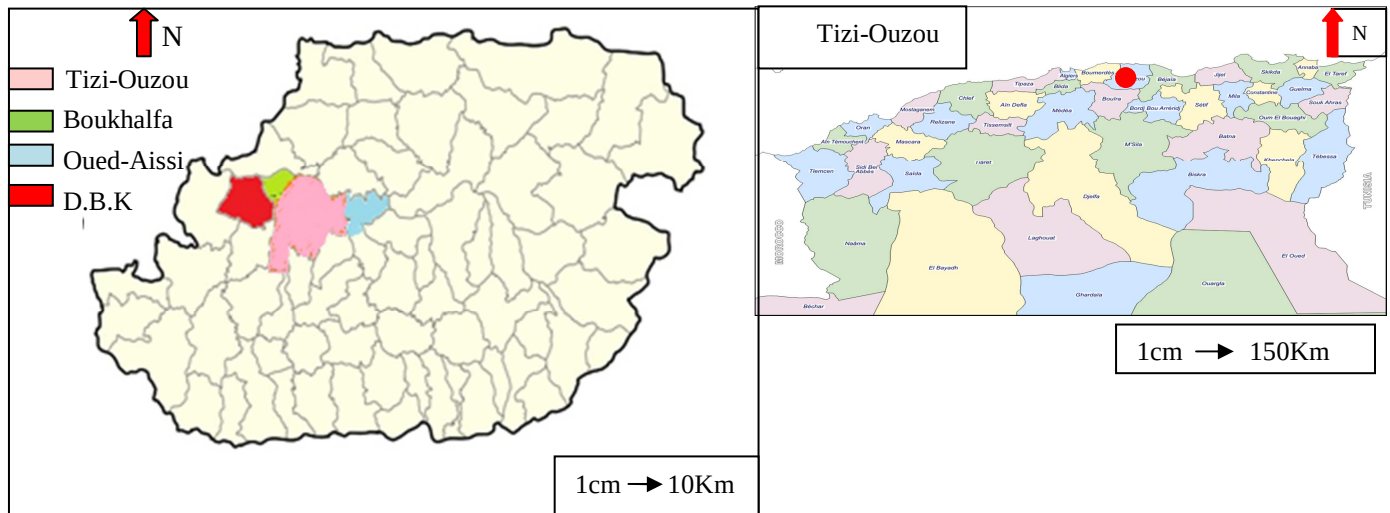


Figure 7 – Situation géographique de la région de Tizi-Ouzou (S.U.D.R, 2016).

II.1.2. Choix des zones d'échantillonnages

Notre zone d'étude est représentée par quatre régions de la zone centre Ouest de la wilaya de Tizi-Ouzou, à savoir: Boukhalfa, Draa Ben Khedda, Oued Aissi et Tizi-Ouzou. Neuf écoles primaires qui se situent dans les quatre régions ont été visitées, ainsi le centre des enfants assistés à Boukhalfa, et le centre de psychiatrie de Oued-Aissi.

II.2. Méthodologie de travail

II.2.1. Matériel biologique

Représenté par les ectoparasites collectés: poux de tête (adultes, larves et lentes).

II.2.2. Méthode de travail sur le terrain (Echantillonnage)

L'étude a été menée sur des poux de tête prélevés sur les écoliers, les enfants assistés et les femmes hospitalisées au centre de psychiatrie. La période de collecte s'est déroulée entre Janvier et Mars 2016 avec l'autorisation de la direction de la santé, et la DAS (**Annexe I**), ainsi que le consentement des directeurs des centres et des établissements primaires.

Avec des mains gantées, les cheveux de chaque écolier et patient ont été soigneusement examinés à l'œil nu. La pédiculose du cuir chevelu est confirmée dans le cas où nous observons des lentes, des larves ou des adultes qui sont collectés à la main (**Fig. 8**). Les échantillons collectés ont été conservés dans des tubes à essai étiquetés contenant de l'éthanol absolu. Les informations de chaque écolier et patient ont été bien notées à savoir: l'âge, le sexe ainsi que le nombre de poux prélevés.



Figure 8 - Examens sur les cheveux (Originale 2016).

II.2.3. Méthodes utilisées au laboratoire

Les échantillons recueillis, ont été acheminés au laboratoire du service Eco-Epidémiologie Parasitaire et Génétique des Populations à l'Institut Pasteur d'Alger (Dely Brahim, Algérie) pour l'identification morphologique des poux ainsi que l'identification de l'agent pathogène recherché.

II.2.3.1. Identification morphologique des spécimens

Au laboratoire, l'identification des poux a été réalisée sous loupe binoculaire (Loupe Gr x40). Pendant l'identification, l'affiliation au genre puis de l'espèce a été réalisée en se basant sur la clé dichotomique de **Pajot (2000)**.

L'identification de l'espèce est basée sur l'observation de certains caractères morphologiques sur le corps du pou:

- les proportions du fémur de la deuxième paire de patte,

- les proportions des segments antennaires,
- le nombre et la forme des soies des sternites abdominaux .

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, ainsi que la présence d'une griffe au niveau du tibia droit chez le mâle qui lui permet d'accrocher la femelle lors de l'accouplement.

II.2.4. Diagnostic moléculaire d'*Acinetobacter* sp

La PCR en temps réel a été utilisée pour la détection moléculaire de l'ADN d'*Acinetobacter* sp, les amorces utilisées sont spécifiques au gène amplifié.

II.2.4.1. Extraction de l'ADN génomique

La technique consiste à désorganiser les membranes cellulaires en émulsionnant leurs lipoprotéines à l'aide d'un détergent, ensuite faire précipiter l'ADN et enrouler les filaments, pour cela plusieurs appareillages sont utilisés.

L'extraction d'ADN est réalisée à l'aide d'un Kit spécial QIA amp (kit QIAGEN®, Hilden, Germany) selon le protocole ci-dessous (**Fig. 9**):

- Rincer chaque pou à l'eau distillée stérile afin d'éliminer toute trace d'alcool.
- Couper les poux longitudinalement et les introduire dans des tubes Eppendorfs préalablement numérotés et codés.
- Ajouter 180µl d'**ATL** (Broyage chimique), puis à l'aide des tiges broyer les échantillons mécaniquement.
- Ajouter 20µl de la **protéinase K** (déproteinisation), puis agiter rapidement à l'aide du vortex.
- Incuber les échantillons dans un bain à sec à 37°C pendant une nuit.
- Faire une centrifugation rapide à 5000 tr/min pendant 30 secondes.
- Ajouter 200µl d'**AL**, puis vortexer 15 secondes.
- Mettre les échantillons au bain sec à 70° C pendant 10 minutes.
- Centrifuger rapidement.
- Ajouter 200µl d'**éthanol** (purification d'ADN) et agiter pendant 15 secondes.
- Verser le mix dans les tubes collecteurs à filtre.
- Centrifuger les tubes pendant 1minute à 8.000 tr/min.
- Jeter l' éluât et placer le filtre dans un nouveau tube collecteur.

- Faire un premier lavage avec 500µl d'**AW1**.
- Centrifuger 1minute à 8.000 tr/min.
- Jeter l'éluât et placer le filtre dans un nouveau tube collecteur.
- Faire un deuxième lavage avec 500µl d'**AW2**.
- Centrifuger 3 minutes à 14.000 tr/min.
- Jeter l'éluât et placer le filtre dans un nouveau tube collecteur.
- Centrifuger une nouvelle fois 1 minute à 14.000 tr/min.
- Placer le filtre dans un nouveau tube à Eppendorf
- Ajouter 180µl de tampon **AE**
- Incuber 1 à 5 minutes à température ambiante.
- Centrifuger une dernière fois : 1minute à 8.000 tr/min.
- Récupérer l'éluât qui contient l'ADN.
- Conserver l'ADN extrait à + 4°C.

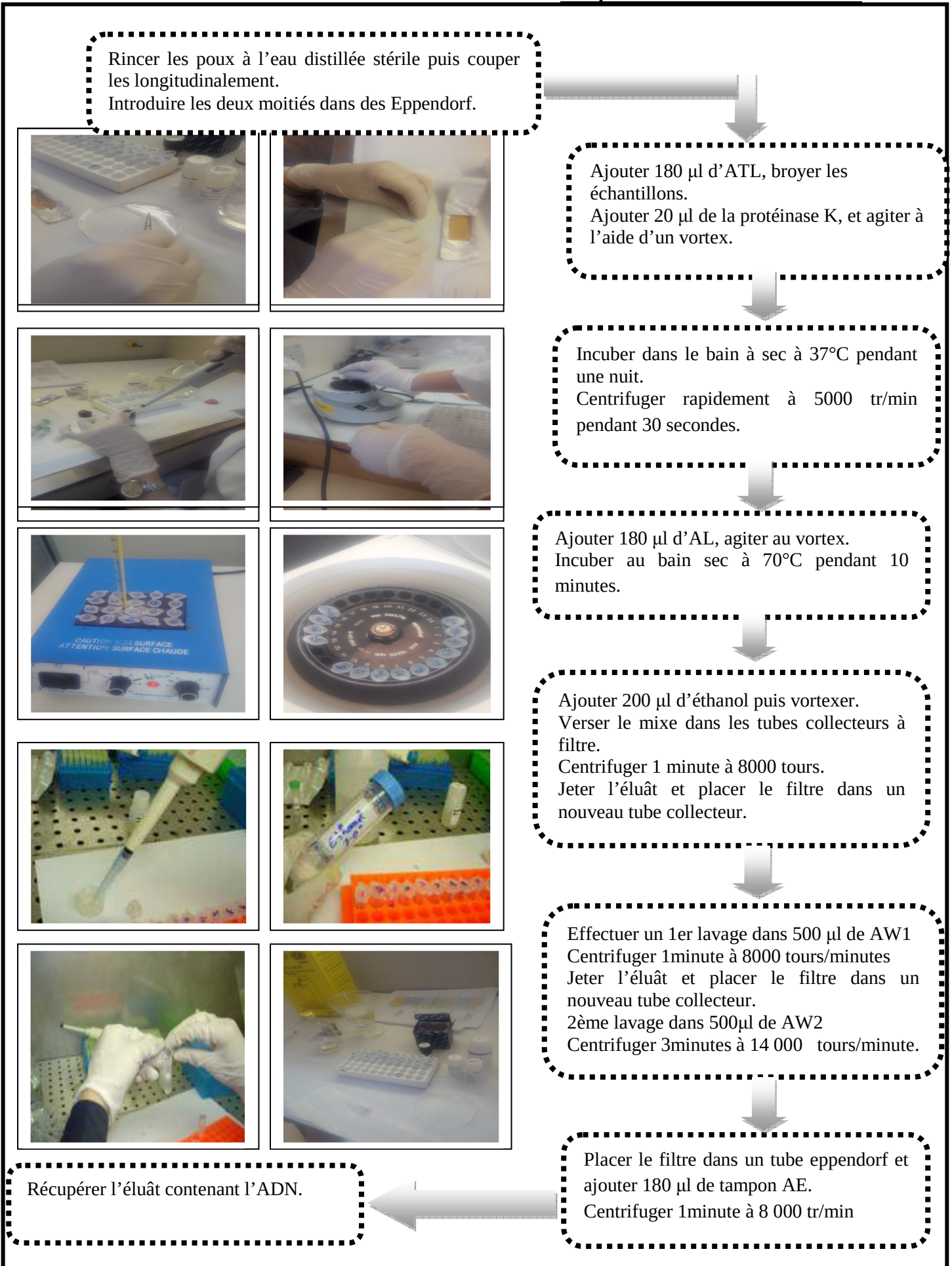


Figure 9- Principales étapes d'extraction d'ADN (Originale 2016).

II.2.4.2. La PCR en temps réel**II.2.4.2.1. 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. 10**). Le mix devra comprendre les réactifs cités dans le Tableau 2.

Tableau 2. Composants du mix (Mix Quantitect) de la PCR en temps réel.

Réactif	Volume	Volume d'un seul échantillon (µl)	Concentration finale
Master mix (2X)		10	1X
Sonde (2µM)		2	0,2Mm
Amorce F forward (20µM)		0.5	0,5µM
Amorce R reverse (20µM)		0.5	0,5µM
H2O		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:** 5µl d'ADN négatif plus 15µl de mix dans un tube.
- **Témoin positif:** 5µl d'ADN positif plus 15µl de mix dans un tube.
- **Echantillons:** 5µl d'ADN extrait ajouté à 15µl du mix dans chaque tube.
- **Volume total:** 20µl par échantillon (les témoins ou les échantillons à analyser).

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

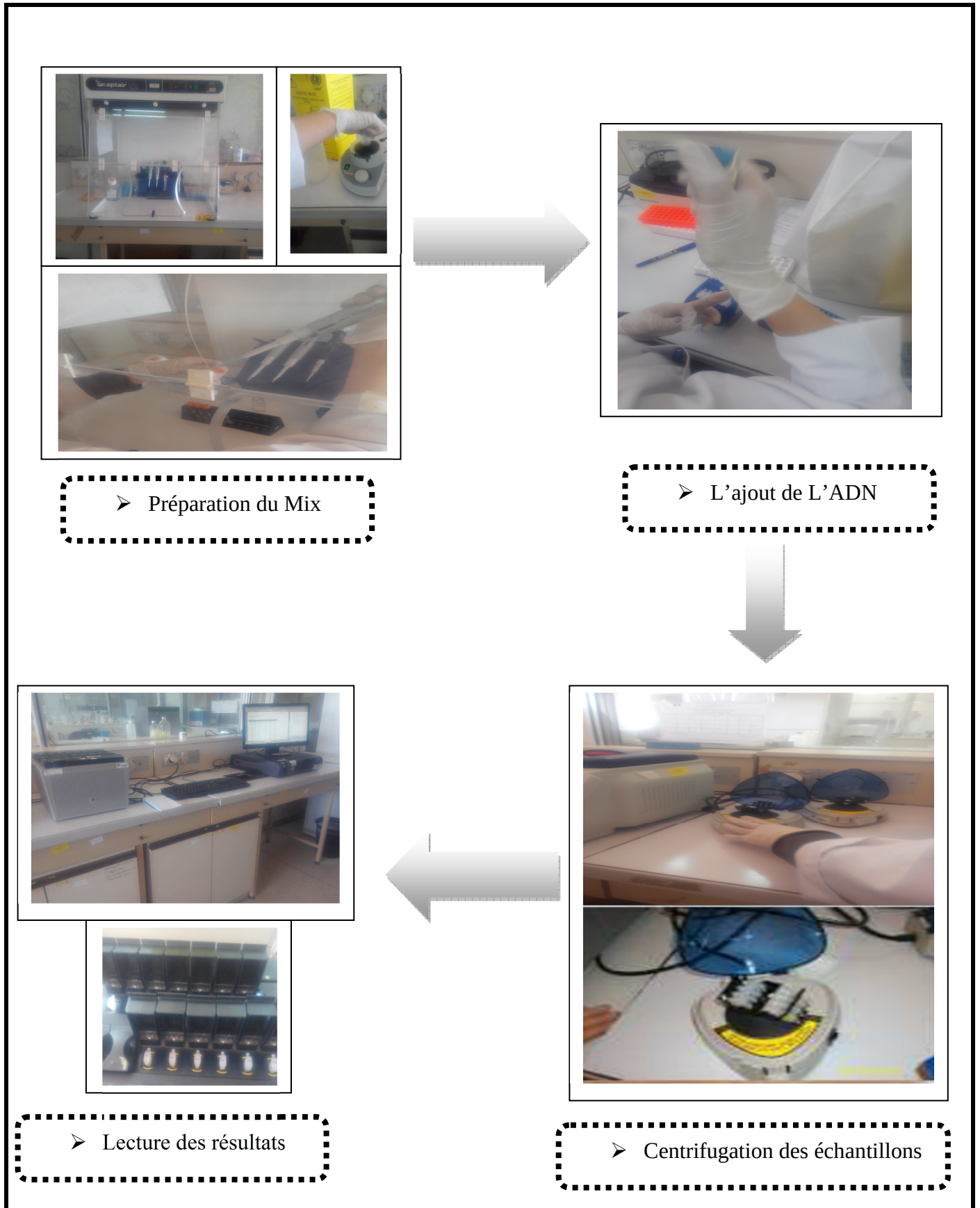


Figure 10 - Protocole expérimental de la PCR en temps réel (Originale 2016).

II.2.4.2.2. Amplification par Smart Cycler

La PCR en temps réel utilisée est basée sur la technologie TaqMan mise en œuvre sur des prélèvements biologiques, elle utilise les sondes et amorces citées dans le Tableau 3.

Tableau 3 - Sonde et amorces utilisées en PCR en temps réel.

Organisme ciblé	Séquence ciblée	Amorces et Sonde	Séquence (5'-3')
<i>Acinetobacter</i> sp	<i>rpoB</i>	<i>Acineto-rpoBF</i>	5'-TAC-TCA-TAT-ACC-GAA-AAG-AAA-CGG-3'
		<i>Acineto-rpoBR</i>	5'-GGY-TTA-CCA-AGR-CTA-TAC-TCA-AC-3'
		<i>Acineto-rpoBS</i>	FAM-CGC-GAA-GAT-ATC-GGT-CTS-CAA-GC-TAMRA

Après avoir préparé le mélange réactionnel en additionnant la sonde et les amorces (**Tableau 3**), 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 (**Fig. 10**) 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 puis activation pendant 15 minutes.
2. Suivie de 40 cycles d'amplification de 75 secondes chacun :

Dénaturation de l'ADN : 15 secondes à 95° C.

Hybridation : 30 secondes à 60° C.

Extension : 30 secondes 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.

II.3. Exploitation des résultats

Pour l'exploitation des résultats nous avons calculé les indices parasitaires, et le Khi-2.

II.3.1. 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 **(Marjoli 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).

$$I = p/N$$

II.3.2. Emploi du test du Khi-2 (X2)

Selon **Snedecor & Cochran, (1971)**, le test du Khi-2 (X2) est l'une des distributions théoriques les plus utilisées. Le Khi-2 est calculé par le logiciel «**R**». Dans notre étude, le calcul du Khi-2 est utilisé pour comparer les prévalences d'infestation et d'infection selon différentes catégories.

Chapitre III.

Résultats

Dans ce chapitre nous traitons l'identification morphologique et les résultats des poux de tête collectés à l'aide des indices parasites et le test du Khi-2 (X2).

III.1. Identification morphologique

Les poux sont préalablement distingués à partir de leur emplacement, la tête dans notre cas. Les critères morphologiques détaillés ci-dessous confirment l'espèce *Pediculus humanus capitis* selon la clé de **Pajot (2000) (Fig. 11)**.

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 soies « paratergites » sont sous forme de cupule sans bord distal, nombreuses et disposées en plus de 2 rangées, 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 pointus recouverts de soies plus épaisses chez les femelles (**Fig. 11**).

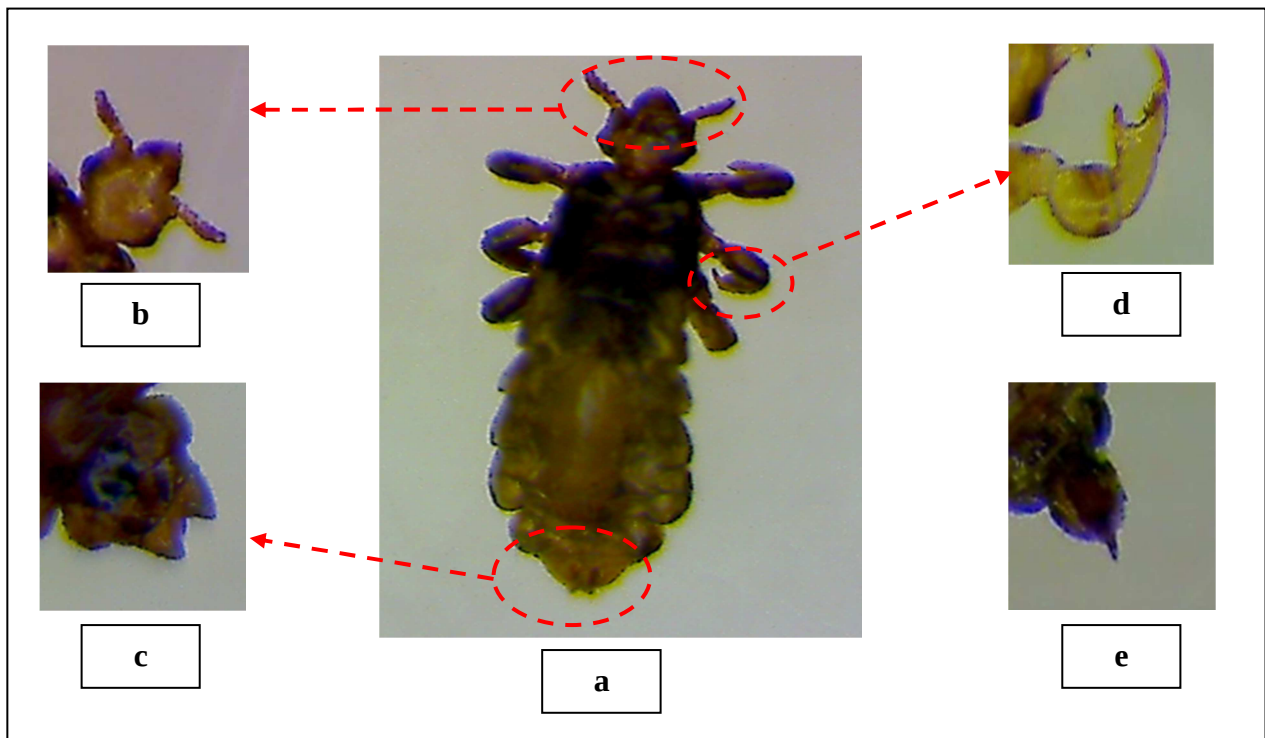


Figure 11 - Etude morphologique du pou de tête, vu sous une loupe binoculaire Gr×40
(Originale, 2016).

- Morphologie générale d'une femelle avec segments abdominaux saillants sur les côté.
- Tête avec des antennes courtes comportant 5 articles.
- Détail de l'extrémité abdominale échancrée d'une femelle.
- Détail d'une patte avec griffe.
- Extrémité abdominale d'un mâle avec un pénis.

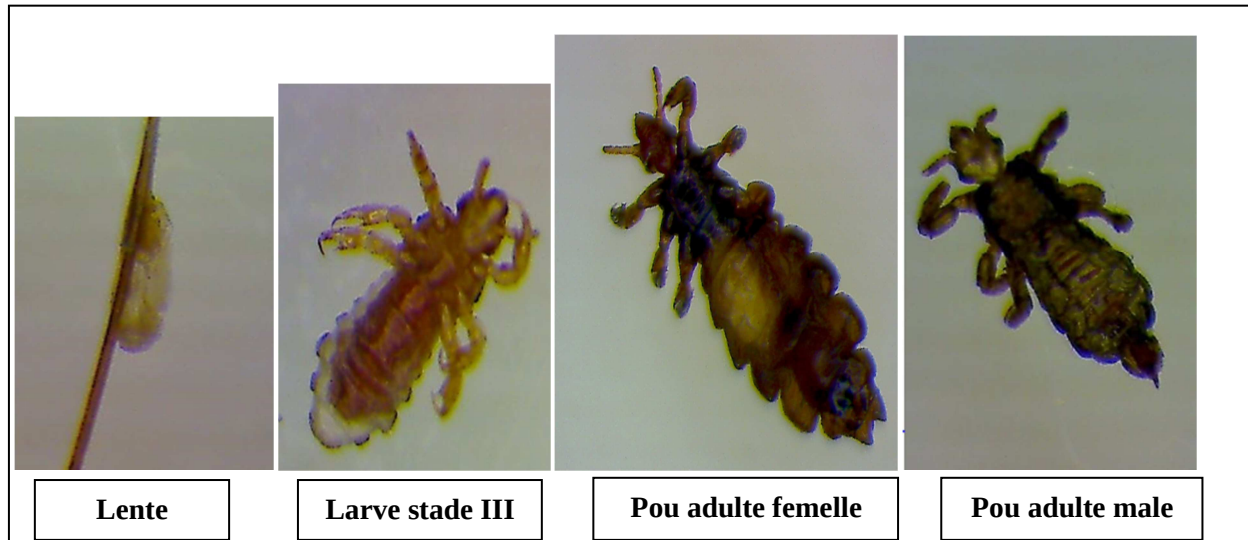


Figure 12 - Différents stades de développement du pou de tête, vu sous une loupe binoculaire Gr×40 (Originale, 2016).

III.2. Exploitation des résultats par les indices parasitaires

Les résultats concernant les poux de tête échantillonnés dans la région centre de Tizi-Ouzou entre Janvier et Mars 2016 ont été exploités en calculant les indices parasitaires. Les résultats sont mentionnés dans le Tableau 4.

Tableau 4. Résultats des indices parasitaires de la région de Tizi-Ouzou

	H Nombre total des patients	N Nombre de patients infestés	P Nombre d'espèces parasites	P Prévalence%	A Abondance	I Intensité
Ecole 1	177	3	1	1,7	0,010	0,33
Ecole 2	168	3	1	1,8	0,011	0,33
Ecole 3	203	3	1	1,5	0,007	0,33
Ecole 4	169	3	1	1,8	0,011	0,33
Ecole 5	118	2	1	1,7	0,014	0,50
Ecole 6	168	0	1	0	0	0
Ecole 7	138	0	1	0	0	0
Ecole 8	127	2	1	1,6	0,012	0,5
Ecole 9	172	2	1	1,2	0,007	0,5
Pouponnière	27	3	1	11,1	0,412	0,33
Centre de psychiatrie	65	5	1	7,7	0,118	0,2
Total	1532	26	1	1,7	0,001	0,04

Sur un total de 1532 écoliers et patients examinés (864 filles et 668 garçons), 1,7% sont porteurs de poux sur leurs têtes. Le taux d'infestation le plus élevé est enregistré dans la pouponnière avec un taux de 11,1%, suivi par le centre de psychiatrie (P= 7,7%), puis l'école 2 (Tizi-Ouzou) et l'école 4 (Boukhalfa) avec un taux de 1,8% ; dans les autres écoles nous notons une prévalence moins importante.

III.3. Test de Khi-2

Nous avons appliqué test de Khi-2 pour calculer la prévalence d'infestation par région, et la prévalence d'infestation en comparant entre les garçons et les filles. Les résultats sont présentés dans le Tableau 5 et le Tableau 6 respectivement.

Tableau 5. Résultats du test de Khi-2 pour comparer la prévalence d'infestation par région

Régions		Prévalence (%)
Oued-aissi	Centre de psychiatrie	7.7
	École 5	1.7
	École 6	0
Boukhalfa	Pouponnière	11.1
	Ecole 3	1.5
	Ecole 4	1.8
Draa ben khedda	Ecole7	0
	Ecole8	1.6
	Ecole 9	1.2
Tizi-Ouzou	Ecole 1	1.7
	Ecole2	1.8

Paramètres	Khi2	DDL	P- value
Totaux	3,56	3	0,3126

La $p > 0,05$ qui signifie que la différence entre les quatre régions n'est pas statistiquement significative.

La prévalence des élèves infestés par les poux de tête est estimée et comparée en fonction du sexe. Parmi les 1532 patients examinés, 24 sur les 864 filles (2,77%), et 2 sur les 668 garçons (0,30%) sont positifs à la pédiculose capillaire. Nous notons une forte prévalence de pédiculose chez le sexe féminin, et cela dans toutes les régions de notre étude (**Fig. 13**).

Tableau 6. Résultats du test de Khi-2 pour la prévalence d'infestation en fonction du sexe

Régions		Garçons	Filles
Oued-aissi	Centre de psychiatrie	0	5
	Ecole 5	0	2
	Ecole 6	0	0
Boukhalfa	pouponnière	0	3
	Ecole 3	1	2
	Ecole 4	0	3
Draa ben khedda	Ecole7	0	0
	Ecole8	1	1
	Ecole 9	0	2
Tizi-Ouzou	Ecole 1	0	3
	Ecole2	0	3

Paramètres	Khi2	DDL	P- value
Totaux	4,3481	11,504	0,001045

La $p < 0.05$ donc la différence entre les garçons et les filles est statistiquement significative.

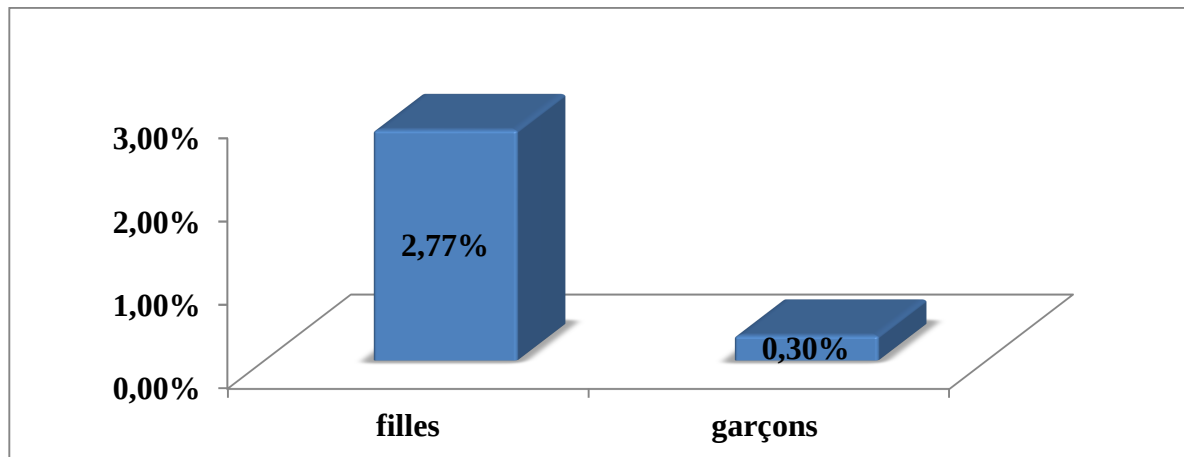


Figure 13- Prévalence des patients infestés de poux de tête en fonction du sexe

III. 4. Résultats de la PCR en temps réel

La PCR en temps réel est un bon outil moléculaire pour l'identification des genres bactériens. Lors de l'analyse par RT-PCR, les résultats se sont révélés positifs, c'est-à-dire l'ADN est détecté directement grâce aux amorces utilisées (*rpoBF* et *rpoBR*) qui sont spécifiques pour la bactérie (*Acinetobacter*). Sur un total de 169 poux collectés nous avons examiné 40 poux. Les résultats sont regroupés dans le Tableau 7 et représentés sous forme d'un graphe (**Fig. 14**) légendés (**Annexe III**).

Tableau 7. Résultats de la RT- PCR

	Nombre de patients infestés	Nombre total des poux	Nombre total de poux examinés	Nombre de poux infectés	Nombre de patients parasités par des poux infectés(%)
Ecole 1	3	16	5	5 (100%)	3 (100%)
Ecole 2	3	12	6	4 (66,66%)	3 (100%)
Ecole 3	3	2	2	1 (50%)	1 (33,33%)
Ecole 4	3	14	5	3 (60%)	1 (33,33%)
Ecole 5	2	6	5	4 (80%)	1(50%)
Ecole 6	0	0	0	0	0
Ecole 7	0	0	0	0	0
Ecole 8	2	3	2	2 (100%)	2 (100%)
Ecole 9	2	4	4	1 (25%)	1 (50%)
Pouponnière	3	65	4	4 (100%)	2 (66,66%)
Centre de psychiatrie	5	47	7	6 (85,71%)	4 (80%)
Total	26	169	40	30 (75%)	18 (69,23%)

Parmi les 40 poux examinés, 30 sont révélés positifs soit un pourcentage de 75%. Nous notons une forte prévalence d'infection des poux dans la région de Tizi-Ouzou ville (83,33 %), suivie de Oued Aissi (82,85%), Boukhalfa et Draa Ben Khedda présentent les prévalences d'infections les plus faibles avec 70% et 62,5% respectivement. La prévalence des personnes infestées par des poux infectés est de 69,23% et le taux le plus élevé se présente à la région de Tizi-ouzou ville avec un pourcentage de 100%.

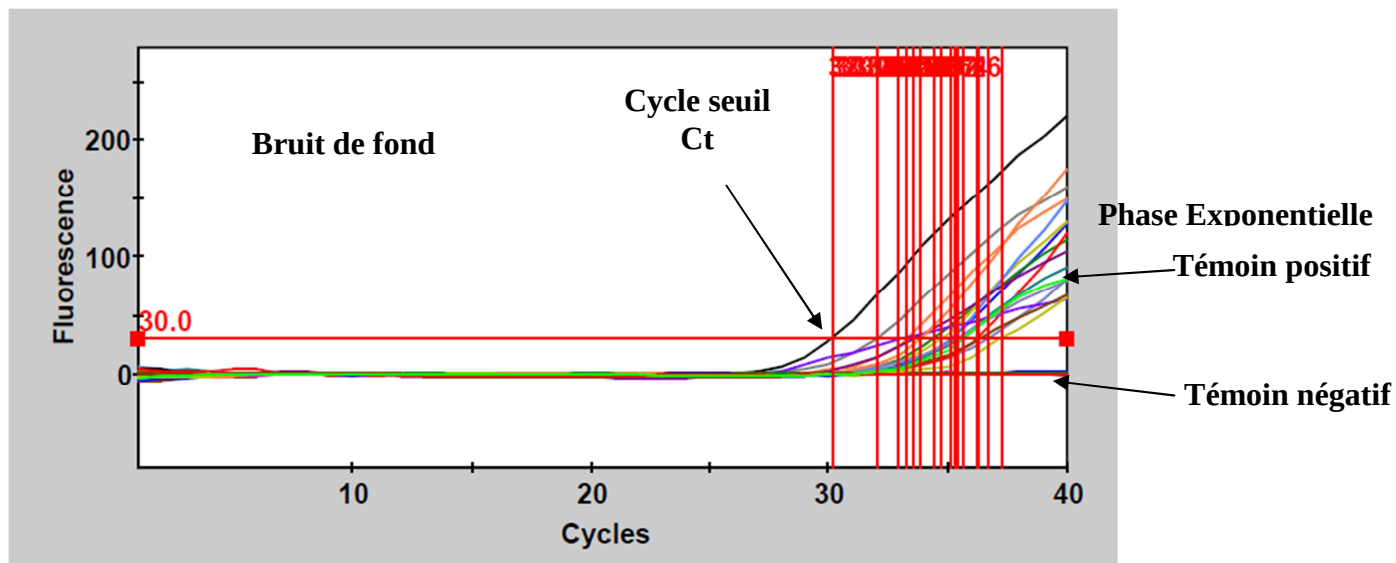


Figure 14 - Résultats de la PCR en temps réel (Originale, 2016).

Les données de fluorescence sont collectées à chaque cycle de la PCR et représentent la quantité de l'ADN des poux de tête amplifiés à cet instant. Plus l'échantillon est concentré en *Acinetobacter* sp, moins il faudra de cycles pour atteindre le cycle seuil «Ct», qui apparaît au cycle n° 30 en début de phase exponentielle.

Si l'on suit la fluorescence au cours du temps d'une PCR en temps réel, on observe une augmentation de cette fluorescence en 3 phases distinctes :

- **Phase bruit de fond (cycles 0 à 30):** La quantité de fragment amplifié est insuffisante pour générer un signal fluorescent supérieur au bruit de fond.
- **Phase exponentielle (cycles 30 à 40):** La quantité de fragment amplifié génère un signal fluorescent supérieur au seuil de détection de l'appareil.
- **Phase de plateau (cycle n° 40) :** le nombre de molécules de Taqman deviennent limitant. Le système ne permet plus une amplification exponentielle.

Chapitre IV.

Discussion

IV.1. Discussion sur l'identification morphologique

Les 169 poux collectés ont été tout d'abord identifiés morphologiquement selon la clé d'identification des poux de **Pajot (2000)** qui se base sur les proportions du fémur de la deuxième paire de patte, les proportions des segments antennaires et le nombre et la forme des soies des sternites abdominaux. La détermination du sexe se fait sur la base de la taille des individus, l'extrémité abdominale, ainsi que la présence d'une griffe au niveau du tibia droit chez le mâle qui lui permet d'accrocher la femelle lors de l'accouplement.

IV.2. Discussion des résultats des indices parasitaires et du test de Khi-2

Sur un total de 1532 écoliers et patients examinés (864 filles et 668 garçons), 1,7% sont porteurs de poux sur leur tête. Le taux d'infestation le plus élevé est enregistré dans la pouponnière avec un taux de 11,1%, suivi du centre de psychiatrie, avec un taux de 7,7%, et les écoles ; cela explique les grandes infestations et transmission dans des milieux à grande collectivités comme les écoles primaires, écoles maternelles et les familles nombreuses (**Eric, 2000**).

Les résultats ont révélé que 1.7% (26) des patients sont positifs à la pédiculose capillaire, avec un taux d'infestation nettement plus élevé en faveur des filles 2.77% (24) par rapport à celui des garçons qui est de 0,30% (2). Nos résultats sont comparables à ceux obtenus dans une étude réalisée dans 4 régions situées à l'Est d'Alger. En effet, sur 1096 élèves examinés, dont 592 filles et 504 garçons, le taux d'infestation était respectivement de 23,08% et 5,85% (**Guezi, 2015**). Ces résultats rejoignent aussi les travaux réalisés par Boutellis et ses collaborateurs en 2011, qui ont collecté 26 poux de tête uniquement sur des fillettes provenant de la région Ouest d'Alger (**Boutellis et al., 2015**). Une majorité d'auteurs souligne que les filles sont plus souvent infestées que les garçons: 60 % contre 40 %. Mis à part le rôle controversé de la longueur des cheveux des filles, on incrimine aussi les contacts plus fréquents qu'elles ont entre elles, directement ou indirectement (**Eric, 2000**).

IV.3. Discussion des résultats de la PCR en temps réel

Sur 169 poux collectés, 40 ont été testés par RT-PCR avec les amorces et la sonde spécifique au genre *Acinetobacter*, et 30 poux se sont révélés positifs. Les poux de tête ne sont pas considérés comme des vecteurs dans la transmission d'infections, contrairement aux poux du corps (**Soto et al., 2012**). 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 aux

poux de corps, ce qui explique la compétence vectorielle très élevée chez ces derniers comparé aux poux de tête (**Kim et al., 2011**).

Dans notre travail nous n'avons identifié que le genre *Acinetobacter*. Cette bactérie est déterminée dans les poux de tête par les jeux d'amorces ciblant le gène *rpoB* et le gène de *gltA* d'*Acinetobacter* sp (**Sunantaraporn et al., 2015**). Le taux d'infection des poux de tête par *Acinetobacter* sp 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**). Et 47% à Paris (France) (**Bouveresse et al., 2012**).

Dernièrement, *Acinetobacter baumannii* a été détecté dans des poux de tête (20%) en Thaïlande (**Sunantarapom et al., 2015**). Cette bactérie a été également trouvée dans des poux de corps (**Kempf et al., 2012a**). La présence de *Acinetobacter baumannii* dans les poux du corps est probablement un phénomène mondial, comme le montre sa détection dans 21% des poux de corps recueillis dans le monde entier (**La Scola & Raoult, 2004**). Ces dernières années, l'ADN d'*Acinetobacter 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 le 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**).

Conclusion et perspectives

Au terme de ce travail qui a pour but détection moléculaire des *Acinetobacter* sp. dans les poux de tête (*Pediculus humanus capitis* De Geer, 1778) dans la région de Tizi-Ouzou. La réalisation de l'étude a été faite à partir d'une méthode d'échantillonnage qui est la capture directe, la collecte des poux de tête s'est déroulée entre Janvier et Mars 2016 à raison de trois sorties par semaine.

Cette étude nous a permis de mettre en avant plusieurs observations pertinentes dans le domaine entomologique et épidémiologique. 169 individus de poux de tête sont collectés sur 1440 écoliers, 27 enfants assistés et 65 femmes hospitalisées au centre de psychiatrie dans quelques régions de Tizi-Ouzou. Ces poux ont été identifiés morphologiquement comme étant des *Pediculus humanus capitis*. Il est à noter que la prévalence de l'infestation par la pédiculose capillaire était nettement présente dans la plupart des centres et établissements visités avec un taux plus élevé chez les filles (2,77%) par rapport aux garçons (0,30%), le test de Khi-2 a montré que la différence entre les garçons et les filles est statistiquement significative ($p < 0.05$).

Après analyse des ADN des poux de tête collectés pour la détection des *Acinetobacter* avec le gène *rpoB* par RT-PCR, nous avons confirmé la présence d'*Acinetobacter* sp. Parmi ce genre d'*Acinetobacter* il y a l'espèce *Acinetobacter baumannii* qui a marqué une évolution impressionnante à la résistance aux antibiotiques en raison de sa capacité à se disséminer dans l'environnement hospitalier et à acquérir rapidement des mécanismes de résistance à de nombreuses classes d'antibiotiques.

La contamination par les poux de tête n'a aucune relation avec la classe sociale de l'enfant, par contre la contagion est favorisée en collectivité: école primaire, maternelle, colonie de vacances, jardin d'enfants etc. Pour cela il est intéressant de développer des mesures de prévention et lutte anti poux, cependant l'examen des cheveux des enfants doit être fait par les parents idéalement une fois par semaine, surtout pendant les périodes critiques, soit à l'automne et à l'hiver, ou pendant l'été si l'enfant fréquente un camp de vacances ou une piscine.

Notre travail reporte une première étude sur les poux de tête dans la région de Tizi-Ouzou, dans ce contexte, il serait intéressant d'envisager les perspectives suivantes:

- Il serait intéressant d'augmenter la taille de l'échantillonnage, pour renforcer nos connaissances sur la relation entre l'agent parasitaire (le pou de tête), l'agent infectieux (*Acinetobacter*) et l'hôte (l'Homme).

- Exploiter d'autres écoles avoisinantes dans différentes périodes de l'année pour recenser la période qui présente une forte infestation.
- Il serait important de confirmer la présence de différentes espèces *d'Acinetobacter* en utilisant des gènes spécifiques.

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: le développement 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.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

1. **Angelakis E., Rolain J-M., Raoult D., & Brouqui P., 2011** - *Bartonella quintana* in head louse nits. *FEMS Immunol. Med. Microbiol. Vol.*, 62: 244-6.
2. **Badiaga S., Brooqui P., 2012** - Human louse-transmitted infectious diseases. *Clinical Microbiology and Infection. Vol.*, 18: 332-337.
3. **Bergogne-Bérézin E., Towner K.J, 1996** - *Acinetobacter* spp. as Nosocomial Pathogens: Microbiological, Clinical, and Epidemiological Features. *Rev. Clin. Microbiol. Vol.*, 9: (2) 148-165.
4. **Boutellis A., Veracx A., Angelakis E., Diatta G., Mediannikov O., Trape F., & Raoult D., 2012a** - *Bartonella quintana* in head lice from Senegal. *Vector borne Zoonotic. Vol.*, 12: 1165- 1168.
5. **Boutellis A., Veracx A., Abrahao J., & Raoult D., 2012b** - Amazonian head lice-specific genotypes are putatively pre-Colombian. *Am J Trop Med Hyg. Vol.*, 88: 1180-1184.
6. **Boutellis A., Mediannikov O., Bilcha K-D., Ali J., Campelo D., Barker S-C., & Raoult D., 2013** - *Borrelia recurrentis* in head lice Ethiopia. *Emerg Infect Dis. Vol.*, 19: 796-798.
7. **Boutellis A., Abi-Rached L., & Raoult D., 2014** - The origin and distribution of human lice in the world. *Infect Genet Evol. Vol.*, 23:209-217.
8. **Boutellis A., Bitam I., Fekir K., Mana N., & Raoult D., 2015** - Evidence that clade A and clade B head lice live in sympatry and recombine in Algeria. *Medical and Veterinary Entomology. Vol.*, 29(1): 94-98.
9. **Bouvresse S., Socholovshi C., Bredjane Z., Durand R., Izri A., Raoult D., Chosidow O., & Brooqui P., 2011** - No evidence of *Bartonella quintana* but detection of *Acinetobacter baumannii* in head lice from elementary school children in Paris. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases. Vol.*, 34: 475-477.
10. **Camp C., Tatum O-L., 2010** - A Review of *Acinetobacter baumannii* as a Highly Successful Pathogen in Times of War. *Journal Laboratory Medicine.*, Vol. 41(11): 649–657.
11. **Christian R., 2007** - Épidémiologie des maladies parasitaires Tome 4 : affections provoquées ou transmises par les arthropodes, Lavoisier, Paris, 580 p
12. **Desenclos J-C., Laporte A., Brouqui P., 2011** - Les infections humaines transmises par les poux. *Louse-borne infections in humans. Médecine et maladies infectieuses. Journal Elsevier Masson, France. Vol.*, 41: 295–300.

Références bibliographiques

13. **Drali R., 2014** - *Poux humains: Différenciation, distribution phylogéographique, Host Switching et contrôle*. Thèse Doc., Pathologie Humaine. Éco., docto., des scie., de la vie et de la santé; Faculté de médecine, Marseille, 219p.
14. **Drali R., Benquiten S., Badiaga S., Bitam I., Rolain JM., & 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. Vol.*, 50: 2229-2233.
15. **Durden L-A., Musser G., 1994** - The sucking lice (Insecta, Anoplura) of the world: a taxonomic checklist with records of mammalian hosts and geographical distributions, *Bulletin of the American Museum of Natural History. Vol.*, (218) 1-90.
16. **Eric A., 2000** - *Péculoses humaines : historique et actualités officinales*. Thèse Doc. d'Etat; Pharmacie, Univers., Limoges; France; 116p.
17. **Espy M-J., Salon L-M., Buckwalter S-P., Jones M-F., Vvetter E-A., Yao J-D., Wengenack N-L., Rosenblatt J-E., Cockeril F-R., & Smith T-F., 2006** - Real-time PCR in clinical microbiology: applications for routine laboratory. *Rev., Clinical Microbiology. Vol.*, 19(1):165-256.
18. **Franc M., 1994** - Poux et méthodes de lutte. *Rev. Sci. Tech. Off Int. Epiz. Vol.*, 13(4): 1039-1051.
19. **Gavinet F., 2007** - *Péculose du cuir chevelu: Traitement et conseil à l'officine*. Thèse Doc.; en Pharmacie. Univers. Limoges France; Faculté de Pharmacie, 116p.
20. **Grasse P., 1951** - *Traité de Zoologie - Anatomie, systématique, biologie – Insectes supérieurs et hémiptéroïdes*. Tome X, Fascicule II, Hyménoptéroïdes (aculéates), psocoptéroïdes, hémiptéroïdes, thysanoptéroïdes / (par Badonnel A., Berland L., Bernard F., et al), Masson, Paris. *Vol.*, 2 :1341-1384
21. **Guezi L., 2015** - *Détection moléculaire des Acinetobacter sp dans les poux de tête (Pediculus humanus capitis De Geer, 1778) chez les écoliers d'Alger-Est*. Mém., Master: Parasitologie, Biologie, Ecologie Et Environnement. Université U.S.T.H.B. Faculté des sciences biologiques, 38p.
22. **Gouveia C., Asensi M-D., Zahner V., Rangel E-F., & Oliveira S-M., 2008** - Study on the bacterial midgut microbiota associated to different Brazilian populations of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva) (Diptera: Psychodidae). *Neotrop. Entomol. Vol.*, 37(5):597-601
23. **Houhamdi L., Parola P., Raoult D., 2005** - Les poux et les maladies transmises à l'homme. *Medecine tropicale. Vol.*, 65(1) : 13- 23.

24. **Huybens N., Mainil J., Marlier D., 2009** - Les techniques de biologie moléculaire d'analyse des populations bactériennes complexes. *Ann., Méd., Vet.*, 112-128.
25. **Izri A., Guiguen C., 2013** - La pédiculose et le rôle du laboratoire. *Rev., Francophone Des Laboratoires. Vol.*, 454 : 33- 39.
26. **Izri A., 2014** - Les ectoparasites, **3ème Journée Régionale: Hygiène et Prévention du risque infectieux en Etablissements Médico-sociaux. CHU Avicenne. Paris**
27. **Kempf M., Abdissa A., Diatta G., Trape J-F., Angelakis E., Medianicov O., La Scola B., & Raoult D., 2012** - Detection of *Acinetobacter baumannii* in human and body lice from Ethiopia and identification of new genotypes. *International Journal of Infectious Diseases. Vol.*, 16 (9): 680- 683.
28. **Kim J-H., Min J-S., Kown D-H., Yoon K-S., Strycharz J., Koh Y-H., Pittendrigh B-R., Clark J-M., & Lee S-H., 2011-** Comparaison of the humoral and cellular immune responses between body and head lice following bacterial challenge. *Insect Biochem., Mol., Biol. Vol.*, 41:332-339.
29. **Ko C-J., Elston D-M., 2004** - Pediculosis. *Journal of the American Academy of Dermatology. Vol.*, 50 (1):1 -12.
30. **Kuiken T., Fouchier R-A-M., Schutten M., Rimmelzwaan G., Amerongen G., Riel D., & Osterhaus A-D., 2003** - Newly discovered coronavirus as the primary cause of severe acute respiratory syndrome, *National Library of Medicine, USA. Vol.*, 326(9380):263-270.
31. **Kumsa B., Socolovsky C., Parola P., & Raoult D., 2012-** Molecular Detection of *Acinetobacter baumannii* in the Lice and Keds of Domestic Animals in Oromia Regional State, Ethiopia. *Journal PLOS.ONE. Vol.*, 7(12): 52377.
32. **La Scola B., Raoult D., Fournier B., Brouqui P., 2001** - Detection and Culture of *Bartonella quintana*, *Serratia marcescens*, and *Acinetobacter* spp. from Decontaminated Human Body Lice. *Journal Of Clinical Microbiology. Vol.*, 39(5): 1707–1709.
33. **Marjoli L., Esch G-W., Holmes J-C., Kuris A-M., & Shad G-A., 1982-** The use ecological termes in parasitology (Report of an ad hoc committee of the American Society of Parasitologists). *Journal of Parasitology. Vol.*, 68: 131-133.
34. **Meric J-B., Balaruc L-B., 2008** - la PCR Usage et intérêt de la technique PCR pour un établissement thermal, Bulletin d'information, *AFTH Bagnères de Bigorre.*, (20) 6-7.

Références bibliographiques

35. **Nachappa P., Levy J., Pierson E., & Tamborindeguy C., 2011** - Diversity of endosymbionts in the potato psyllid, *Bactericera cockerelli* (Triozidae), vector of zebra chip disease of potato. *Curr., Microbiol.* Vol., 62:1510-1520.
36. **Nîmes M., 2007** - la réaction de polymérisation en chaîne (PCR): principe et application, *Ecole de l'ADN, Nîmes cedex 1, France.* Vol., 30015: 21-23
37. **Pajot X., 2000** - Les poux (Insecta, Anoploura) de la région afrotropicale. *Ed., IRD, Paris,* 294p.
38. **Pascal M., 2007**- Principales techniques de mesure de l'expression des gènes, Laboratoire de Pharmacologie et Toxicologie, *Journal INRA*,11-27.
39. **Poitras E., Houde A., 2002** - La PCR en temps réel : principes et applications. *Rev. in Biology and Biotechnology.* Vol., 2(2): 2-11.
40. **Roux V., Rolain J-M., 2014** - Identification de bactéries par biologie moléculaire. EMC-maladies infectieuses. *Journal Elsevier Masson, France.* Vol. 11(1): 1-11
41. **Sangare A-K., Boutellis A., Drali R., Socolovscky C., Barker S-C., Diatta G., Rogier C., Olive M-M., Doumbo O-K., & Raoult D., 2014** - Detection of Bartonella quintana in African Body and Head Lice. *Am J Trop Med Hyg.* Vol., 91(2):294-301.
42. **Soto J-C., Dube S., Fortier N., Hartner R., Marceau N., & Trudelle A., 2012** - Lignes directrices pour le contrôle de la pédiculose du cuir chevelu dans les écoles et les services de garde éducatifs à l'enfance. Guide d'intervention, Québec. (4) 1-76.
43. **Sunantaraporn S., Sanprasert V., Pengsakul T., Phumee A., Boonserm R., Tawatsin A., Thavara U., & Siriyasatien P., 2015** - Molecular survey of the head louse *Pediculus humanus capitis* in Thailand and its potential role for transmitting *Acinetobacter spp.* *Parasit Vectors.* Vol., 8:127p.
44. **S.U.D.R., 2016** - Service urbanisme et développement rural de la commune de Tizi-Ouzou. *Monographie de la commune de Tizi-ouzou.* Ed. Centre Rech. Econ. Dév., Rural. Tizi Ouzou, 92 p.
45. **Snedecor G-W., & Cochran W-G., 1971** – *Methodes statistiques.* Ed. Association coord. tech. agri. (A.C.T.A.), Paris, 649 p.
46. **Vassias, I, 2012** - Principe de l'amplification en chaîne polymérase. *EMC-Biologie Médical.* Vol., 7(1):1-5.
47. **Veracx, A., Raoult, D, 2012** - Biology and genetics of human head lice in. *Trends Parasitology.* Vol., 28(12): 563-571.

Annexes

Annexe I.

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ « MOULOUD MAMMERI » DE TIZI OUZOU
FACULTÉ DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES AGRONOMIQUES

A
Monsieur le Responsable
de Centre S.D.F. de Tizi
Ouzou

OBJET : Demande d'accès

Monsieur ;

Dans le cadre de la préparation du mémoire de fin d'études, nous avons l'honneur de vous demander de bien vouloir faciliter l'accès à votre Bibliothèque, service, Labo pour : un echantillonnage

M^{lle}, M^r, M^{me} : Houchi KATIA, KARA SARA :

Etudiant en : Entomologie appliquée

Filière : Biologie

Le motif de la présente demande est : la récolte des insectes

Confiant quant à votre disponibilité à servir la pédagogie, nous vous prions de bien vouloir accepter l'expression de notre profond respect.

Fait à Tizi-Ouzou, le 16/12/2015

Mme. Brahim Kara P / Le Chef du département :

2

Chief de Département Adjoint
Biologie Animale et Végétale
MALLIL.K

N.B./ Cette demande n'est valable que pour une recherche documentaire

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE « MOULOUD MAMMERI » DE TIZI OUZOU
FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES AGRONOMIQUES

A

Monsieur le... médecin coordonnateur
de la santé scolaire
EPSP D.R.K.

OBJET : Demande d'accès

Monsieur ;

Dans le cadre de la préparation du mémoire de fin d'études, nous avons l'honneur de vous demander de bien vouloir faciliter l'accès à votre Bibliothèque, service, Labo pour :

M^{lle}, M^r, M^{me} : HOUCHE Katia ; KARA Sara

Etudiant en : Entomologie appliquée à la médecine

Filière : biologie

Le motif de la présente demande est : la recolle des insectes

Confiant quant à votre disponibilité à servir la pédagogie, nous vous prions de bien vouloir accepter l'expression de notre profond respect.

Fait à Tizi-Ouzou, le 04/02/2016

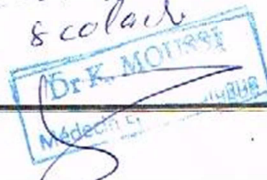
Le Chef du département Département



Le Médecin coordonnateur
santé scolaire

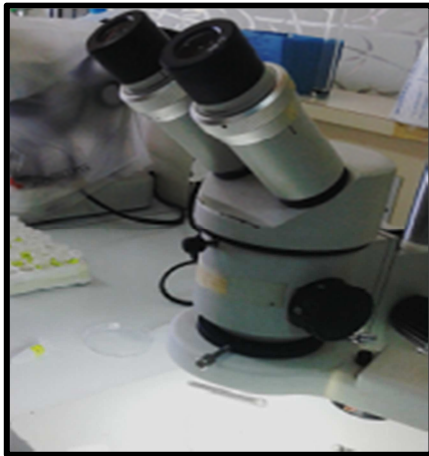
N.B. / Cette demande n'est valable que pour une recherche documentaire

ans favorable



Annexe II.

1. Appareillages



Loupe binoculaire



Vortex



Bain à sec



Centrifugeuse



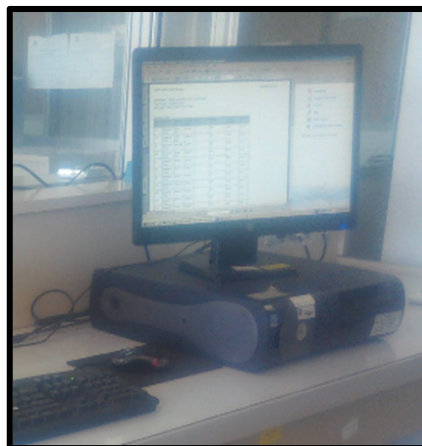
Mini centrifugeuses



Hotte Biocap



Appareil Smart Cycler



Ordinateur

2. Petit matériel



Embouts bleu



Embouts jaune



Eppendorfs



Tubes Smart Cycler

Annexes III. Légende des résultats de la RT-PCR.

Site Legend

Site ID	Sample ID	FAM Ct	Protocol
A3 	SK 10	35.12	Quantitec-FAM
A4 	SK 11	36.64	Quantitec-FAM
A5 	SK 12	33.27	Quantitec-FAM
A6 	SK 13	34.41	Quantitec-FAM
A7 	SK 14	34.70	Quantitec-FAM
A8 	SK 15	0.00	Quantitec-FAM
A9 	SK 16	36.17	Quantitec-FAM
A10 	SK 17	0.00	Quantitec-FAM
A11 	SK 18	35.14	Quantitec-FAM
A12 	SK 19	35.42	Quantitec-FAM
A13 	SK 20	0.00	Quantitec-FAM
A14 	SK 21	30.13	Quantitec-FAM
A15 	SK 22	31.96	Quantitec-FAM
A16 	SK 23	33.59	Quantitec-FAM
B3 	SK 24	32.88	Quantitec-FAM
B4 	SK 25	0.00	Quantitec-FAM
B5 	SK 26	0.00	Quantitec-FAM
B6 	SK 27	35.31	Quantitec-FAM
B7 	SK 28	33.87	Quantitec-FAM
B8 	SK 29	0.00	Quantitec-FAM
B9 	SK 30	37.26	Quantitec-FAM
B10 	SK 31	36.32	Quantitec-FAM
B11 	T NEG	0.00	Quantitec-FAM
B12 	T POS	35.60	Quantitec-FAM

Résumé

La détection moléculaire des *Acinetobacter* sp. dans les poux de tête (*Pediculus humanus capitis* De Geer, 1778) a été réalisée dans quatre zones de la région de Tizi-Ouzou. La technique d'échantillonnage utilisée pour cet inventaire est la capture directe à la main. Cette technique nous a révélé un total de 169 poux de tête à partir de 26 écoliers provenant des quatre zones (Oued Aissi, Boukhalfa, la ville de Tizi-Ouzou et Draa Ben Khedda). Nos résultats montrent une prévalence d'infestation dans la plupart des centres visités avec un taux plus élevé chez les filles (2,77%). Le test du khi-2 montre qu'il n'y a pas une différence significative entre les zones d'étude, mais il y a une différence très hautement significative par rapport aux sexes garçons /filles. Les indices parasitaires nous renseignent sur le taux d'infestation et les charges parasitaires des poux de tête qui est très intense chez les filles. La détection de *Acinetobacter* sp. a été effectuée par la PCR sur les poux, confirme l'existence de germe pathogène *Acinetobacter* sp. dans la région de la région de Tizi-ouzou.

Mots clés: *Pediculus humanus capitis*; Indices Parasitaires; Agent pathogène; *Acinetobacter* sp; Région de Tizi-Ouzou

Abstract

Molecular detection of *Acinetobacter* sp. in head lice (*Pediculus humanus capitis* De Geer 1778) was achieved in four areas of the Tizi Ouzou. A technical sampling used for this inventory is the direct capture by hand. This technical we not total 169 revealed head lice from school 26 Coming from four areas (Oued Aissi, Boukhalfa, the city of Tizi-Ouzou and Draâ Ben Khedda). Our results show june prevalence of infection in the Most centers VISITS rate with no more girls High (2.77%). From the Khi-2 test shows that is not June significant difference between the four study areas, but in June there very significant difference from the Highly sexes Boys / Girls. The parasite rates we learn about the infestation rate and the parasite loads of head lice which are very intense in girls. Detecting *Acinetobacter* sp. was effectue by PCR on lice, CONFIRMS the existence of pathogenic germ *Acinetobacter* sp. in the region of Tizi-Ouzou.

Keywords: *Pediculus humanus capitis*; Parasitic Indices; Pathogen; *Acinetobacter* sp. Region of Tizi-Ouzou