

(3)
140

Techniques de récolte, de manipulation et d'élevage des puces de rongeurs

par M. BALTAZARD & M. EFTEKHARI,
Institut Pasteur de l'Iran, Téhéran

De nombreuses techniques ont été décrites pour la récolte, l'élevage et la manipulation des puces, techniques souvent très compliquées et propres à décourager les non-initiés. Les plus simples, telles que celles publiées par Smith & Eddy^a, restent longues et délicates et n'évitent pas le danger d'évasion, grave quand il s'agit, comme c'est le plus souvent le cas, d'expérimenter avec des puces infectées, de peste par exemple.

Aussi nous a-t-il paru intéressant de donner le détail des méthodes extrêmement simples que nous utilisons depuis quelque vingt ans pour l'expérimentation, méthodes dont l'essentiel a été publié sous la signature de Georges Blanc et de l'un de nous dès 1941^b, mais sous un titre (« Vaccination contre le typhus exanthématique par virus vivant de typhus murin ») qui a pu le soustraire à l'attention de la plupart des intéressés.

Ces méthodes, d'autre part, ne figurent pas dans les « Recommended laboratory methods for the diagnosis of plague »^c récemment publiées et à la rédaction desquelles nous avons collaboré. Ce sont elles qui nous ont permis de récolter, d'élever et d'utiliser pour l'expérimentation (typhus, peste, résistance aux insecticides, etc.) les puces suivantes: *Xenopsylla cheopis*, *X. astia* et plusieurs espèces très petites du groupe *conformis*; *Nosopsyllus fasciatus*; *Leptopsylla segnis*; *Stenoponia insperata*; *Ctenocephalides felis*.

^a Smith, C. N. & Eddy, G. W. (1934) *Bull. Wld Hlth Org.*, 10, 127.

^b Blanc, G. & Baltazard, M. (1941) *Arch. Inst. Pasteur, Maroc*, 2, 445.

^c Baltazard, M. et al. (1956) *Bull. Wld Hlth Org.* 14, 457.

Récolte. Les techniques décrites pour la récolte des puces sur les rongeurs^c consistent à tuer et le rongeur et ses puces, de préférence avec un gaz ou un produit volatil toxique, et seules les méthodes de piégeage des puces dans les maisons ou les terriers peuvent permettre de se procurer des puces vivantes. Or, il est indispensable dans l'expérimentation de pouvoir récolter vivantes les puces de la fourrure des rongeurs, ne serait-ce que pour en faire l'élevage, ou de pouvoir épucer un rongeur sans le tuer.

D'autre part, certains produits toxiques comme le chloroforme, le plus couramment utilisé, s'ils viennent à mouiller les puces, peuvent détruire partiellement ou totalement le virus ou les bacilles hébergés par l'insecte, ainsi que Blanc et l'un de nous ont pu le constater au Maroc au cours d'expériences sur l'évolution des rickettsies et de divers microbes chez la puce.

Toutes les espèces de puces de rongeurs peuvent être facilement chassées de la fourrure des animaux par un soufflage modéré à rebrousse-poil. Pratiquement, la technique est la suivante: nous capturons les rongeurs à la main ou à la pince^d lors du défonçage des terriers, ou bien nous utilisons des pièges du type « nasse ». Chaque fois que cela est possible, l'épucage est immédiatement effectué sur place, ce qui donne la seule garantie absolue contre l'échange de puces entre rongeurs capturés, les évasions et les risques de contamination. Les animaux sont attrapés à la pince dans le terrier ou la nasse par n'importe quel point du corps; avec une deuxième pince on saisit une oreille jusqu'à la base et avec une troisième l'autre oreille: la première pince est alors enlevée et le rongeur, pris par les pattes de derrière soit avec la même main qui tient les pinces, soit avec les deux mains, est mis en extension sur les branches de ces pinces.

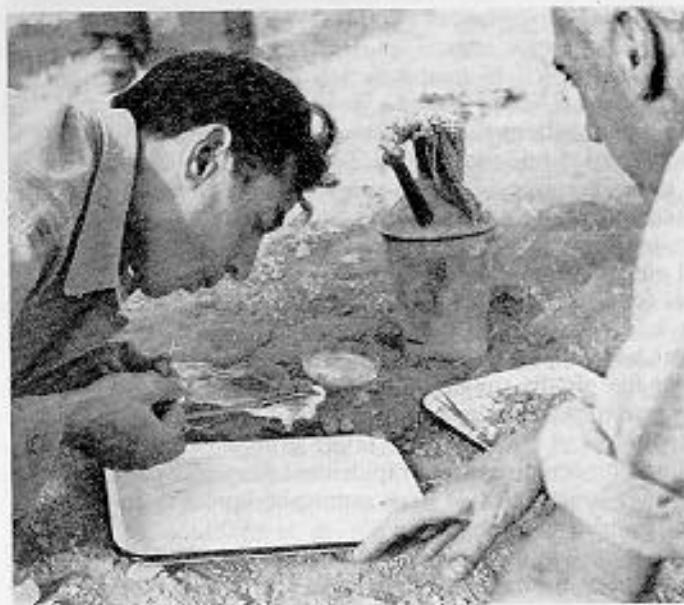
Le soufflage commence au-dessus d'un grand plateau blanc en tôle émaillée^e rempli d'eau, la bouche de l'opérateur rétrécie en O (voir figure) de façon à donner un souffle froid, localisé, doux, régulier et prolongé; ce souffle, promené à rebrousse-poil de bas en haut, écarte la fourrure en raies jusqu'à la peau. La base de la queue, le périnée et les cuisses d'une part, la tête et les épaules d'autre part doivent être « soufflés » avec un soin tout particulier. Si le soufflage ne peut être effectué sur place (mauvais temps, vent violent, etc.), les rongeurs sont rapportés au laboratoire dans des boîtes métalliques comportant le minimum d'orifices d'aération de façon que l'intérieur de la boîte reste aussi obscur que possible. La mise en boîtes des rongeurs pris à la pince dans le terrier ou la nasse doit être aussi rapide que possible, certaines espèces de puces abandonnant immédiatement l'animal en état de défense. Dans ces boîtes obscures, au fond desquelles est disposée de la paille hachée menu et bien sèche, les puces n'ont aucune tendance à abandonner leur hôte et il sera même inutile, comme nous le faisons au début, d'enfermer chaque boîte dans un sac de toile; bien entendu cependant l'épucage devra être pratiqué aussitôt que possible après l'arrivée au laboratoire.

^c Baltazard, M. et al. (1956) *Rail. Wild. Hh. Org.* 14, 457

^d Nous nous servons de pinces dites « pinces à pansement » de 25 cm de longueur à cran d'arrêt réglable (voir figure 1).

^e Nous utilisons des plateaux plats pour la commodité du transport par les équipes, mais il est plus sûr d'utiliser des cuvettes profondes.

RÉCOLTE DES PUCES DE RONGEURS PAR « SOUFFLAGE »



Bien exécuté, à raison de deux minutes au moins par animal, ce soufflage doit le débarrasser complètement de ses puces; après quoi les rongeurs sont ou bien sacrifiés par étranglement et plongés dans le pétrole avant autopsie pour sécurité supplémentaire ou bien conservés en observation. Dans ce dernier cas, les rongeurs sont roulés dans du DDT à 5% en poudre, qui non seulement tuera les puces qui auraient pu échapper au soufflage mais empêchera, au cours de l'observation, que ces animaux ne puissent héberger de nouveaux ectoparasites. Si l'on destine ces rongeurs gardés en observation à une expérimentation ultérieure par piqûres de puces, il est nécessaire de ne pas utiliser le DDT, dont l'action, comme nous avons pu l'éprouver à nos dépens, se prolonge au-delà de trois mois (fait sur lequel d'ailleurs se basent les méthodes nouvelles de prophylaxie des infections transmises par les ectoparasites de rongeurs). Le plus simple consiste alors à mouiller les poils du rongeur avec un tampon imbibé de chloroforme en veillant à ce que la mouillure ne soit pas trop forte pour que le refroidissement causé par l'évaporation rapide ne tue pas l'animal. On pourra également rouler les rongeurs dans la poudre de pyrèthre, qui n'a pas d'effet rémanent et permettra de remettre des puces sur les animaux après quinze jours au maximum. Mais, dans ces deux cas, il sera prudent de ranger les boîtes où sont conservés les rongeurs en observation à 20 cm au moins les unes des autres sur un lit de DDT à 5% tapissant tout le sol de l'écurie.

Manipulation. Autant la manipulation, sous la loupe binoculaire, des larves, voire des œufs et plus encore des cocons, est facile, autant celle des

adultes, surtout pour les espèces grandes sauteuses, est difficile, rendant les opérations de comptage, d'identification, de triage, etc., presque impossibles et toujours dangereuses.

Nous nous sommes aperçu que le froid paralysait complètement les puces, sans danger (si le temps de refroidissement n'était pas prolongé au-delà d'une demi-heure) pour la vie de l'insecte ni pour l'évolution des germes qu'il peut héberger. Pratiquement, nos techniques sont les suivantes: l'eau du plateau au-dessus duquel est fait le soufflage est refroidie par quelques cubes de glace, les puces tombant de la fourrure de l'animal sont immédiatement immobilisées. Cette immobilisation a comme premier avantage que les puces restent à la surface, alors que les puces qui se débattent en eau à température normale ont une tendance à « couler » rapidement au fond et à y mourir immédiatement. Les puces peuvent donc être prélevées à la surface avec une pince à mors très fins, du type de celles qu'utilisent les entomologistes ou les chirurgiens ophtalmologistes, et sont rangées par files de dix sur des lames de verre posées sur le bac à cubes de glace que possèdent tous les réfrigérateurs. Elles peuvent être alors tout à loisir déterminées et triées sous le faible grossissement du microscope ou sous la loupe binoculaire, assez rapidement toutefois pour que la condensation en fines gouttelettes de l'eau atmosphérique à la surface de l'insecte ne vienne pas gêner l'examen.

Les puces qui sont conservées pour montage et collection sont mises dans l'alcool, les autres sont déposées à sec dans un broyeur également refroidi et écrasées vivantes dans une goutte d'eau physiologique pour inoculation à l'animal sensible. Enfin celles qui sont conservées pour élevage ou expérimentation, triées et comptées par sexe, espèce, etc., sont mises dans les bacs où elles reprennent immédiatement leur activité de saut.

Élevage. L'élevage est fait dans des bacs en verre ou en tôle émaillée blanche assez hauts pour que le rongeur qui va être laissé en liberté dans le bac ne puisse pas sauter jusqu'au couvercle grillagé de fermeture et s'y accrocher. Au fond des bacs est un lit de son et de paille hachée de 10cm d'épaisseur au maximum, la paille servant à empêcher le son de se tasser trop fortement sous le poids de l'animal. Les bacs eux-mêmes sont rangés sur de grands plateaux remplis d'eau qui servent en même temps de moyen de protection contre les évasions et de sécurité lors des manipulations ou transferts de rongeurs de bac à bac et d'autre part à l'équilibrage de l'hygrométrie à 80% dans la chambre d'élevage. La farine de son et les déjections des adultes suffisent à la nourriture des larves; la litière de son et de paille hachée a été préalablement stérilisée au four pour éviter le développement de parasites comme les tyroglyphes. La cadence de développement des puces étant fonction de la température, la pièce d'élevage est maintenue à 27°C pour obtenir le maximum de reproduction (alors que l'expérimentation, qui peut demander des températures variant de + 5°C à + 25°C, est faite dans une autre pièce). L'obscurité nous a paru une condition importante pour l'élevage; aussi la pièce est-elle sans fenêtres et éclairée artificiellement seulement au moment des manipulations.

Dans ces conditions, l'évolution des élevages, à peu près identique pour toutes les espèces, est la suivante. Des puces adultes (mâles et femelles en nombre égal), récoltées par exemple sur des rongeurs sauvages dans la nature selon les méthodes décrites aux paragraphes précédents, sont mises dans un bac contenant la litière de son et de paille; dans ce bac est mis soit un rongeur sauvage, hôte naturel de l'espèce, soit plus volontiers un rat blanc, qui reste passif dans le bac et ne cherche pas à sauter vers le grillage; les incisives inférieures de l'animal sont coupées au ras du maxillaire pour l'empêcher de détruire trop de puces et recoupées tous les dix jours car elles repoussent avec une grande rapidité. Après quinze jours, l'animal est retiré du bac et mis dans un bac neuf. Il emporte avec lui la majorité des puces adultes; celles qui sont restées dans le son montent à la surface après deux à trois jours; on passe un rat blanc pendant quelques minutes dans le bac, qui récolte immédiatement toutes ces puces affamées et va rejoindre le précédent dans le nouveau bac. Après une période de silence de quelques jours, les éclosions commencent dans le premier bac, et à la surface du son apparaissent les puces adultes nouvelles écloses, reconnaissables à leur couleur jaune clair. Après une quinzaine de jours, les éclosions sont terminées et le bac est supprimé.

Le prélèvement des puces adultes dans les bacs est rendu très aisé par les techniques de soufflage et de refroidissement dont nous avons parlé aux paragraphes précédents, la seule précaution à prendre lorsqu'on veut prélever dans un bac « d'éclosions » des puces neuves, jamais gorgées, étant de « souffler » immédiatement le rat blanc qu'on vient d'y laisser quelques secondes seulement, pour que ces puces n'aient pas le temps de le piquer.

L'expérimentation est faite dans les mêmes bacs: il est bon de se souvenir de l'extrême danger présenté par les déjections des puces infectées, quelle que soit pratiquement l'infection (typhus, peste, etc.), déjections dont la fine poussière n'est à vrai dire redoutable qu'en atmosphère sèche, où sa dispersion est inévitable. En atmosphère humide, ces déjections restent collées aux poils des rongeurs ou tombent dans la litière, mais l'opération du soufflage devra être faite avec de très grandes précautions: aspiration uniquement par le nez couvert d'un masque d'une vingtaine de couches de gaze, souffle très doux. L'utilisation d'une petite soufflerie du type séchoir à cheveux ou de l'air comprimé n'est pas à recommander, parce que difficilement réglable et risquant plus que le souffle de l'opérateur de faire voler la poussière des déjections; de plus, les puces y sont nettement moins sensibles qu'au souffle humide de la bouche. La longue conservation du pouvoir infectant des déjections des puces obligera également à prendre des précautions dans les manipulations des bacs et litières, qui seront soigneusement désinfectés.

L'expérimentation avec les insecticides est également très aisée dans ces bacs, où peuvent être réalisées facilement des conditions très proches de celles de la nature.