

## Evaluation de la sensibilité des puces pestigènes malgaches aux insecticides en milieu urbain. Résultats et analyse préliminaires

Ratovonjato J<sup>1</sup>, Duchemin JB<sup>1</sup>, Duplantier JM<sup>2</sup>, Laventure S<sup>1</sup>, Rabarison P<sup>1</sup>, Chanteau S<sup>1</sup>, Roux JF<sup>1</sup>

**RESUME:** Des tests d'efficacité de différents insecticides ont été effectués, de juillet 1997 à avril 1998, dans plusieurs quartiers d'Antananarivo par comparaison des index pulicidiens sur les rats capturés avant et après traitement. Ils ont permis d'établir, en conditions de terrain, d'une part, la résistance des puces à la deltaméthrine, jusqu' alors utilisée par les services de lutte antipesteuse et d'autre part, l'efficacité immédiate du bendiocarbe et du pyrimiphos-méthyl. Un effet rémanent a également été mis en évidence pour ces deux produits, mais plus important pour le bendiocarbe. Ces résultats ont un intérêt évident de santé publique. La comparaison de nos résultats de terrain avec de précédents tests *in vitro* nous conduit à l'hypothèse d'une réversibilité de la résistance aux carbamates et aux organophosphorés.

**Mots-clés:** Peste - Puces - *Xenopsylla cheopis* - Insecticides - (Test de terrain) - (Réversibilité de la résistance) - MADAGASCAR.

**ABSTRACT:** "The assessment of the sensitivity of flea rats to insecticides in urban area. Preliminary results" : Field tests about different insecticides efficiency were performed in urban areas in Antananarivo, Madagascar, by comparison of the flea index of captured rats before and after treatment. Presently used for vector control, deltamethrine has been found inefficient on flea index variation. Conversely, flea index immediately after treatment showed decreased values significantly with bendiocarbe and pyrimiphos-methyl. The persistence of the effect during six weeks was observed for the two compounds, specially with carbamate. These results are useful for the plague control program. Comparing present field data with previous laboratory tests make the reversibility of resistance with carbamate and organophosphate insecticides discussed.

**Key-words:** Plague - Fleas - *Xenopsylla cheopis* - Insecticides - (Field-test) - (Resistance, Reversibility) - MADAGASCAR.

### INTRODUCTION

La situation épidémiologique de la peste à Mahajanga et Antananarivo est inquiétante : épidémies annuelles de peste à Mahajanga [1] et forte prévalence de rats pesteux dans certains quartiers d'Antananarivo [2]. Un contrôle efficace des vecteurs est donc indispensable et urgent afin d'optimiser la stratégie actuelle de lutte contre la peste.

Les tests *in vitro* réalisés au laboratoire d'Entomologie médicale de l'Institut Pasteur de Madagascar depuis 1995 montrent, pour les puces recueillies à Mahajanga et Antananarivo [3] :

- une résistance au DDT
- une résistance à tous les pyréthri-noïdes testés (deltaméthrine, perméthrine, lambdacyhalothrine), et donc très probablement étendue à tous les membres de cette famille d'insecticides
- une sensibilité aux organophosphorés
- une sensibilité aux carbamates.

La vérification sur le terrain des données *in vitro* permet, dans un premier temps, d'apprécier l'effi-

cacité des campagnes d'épandage intradomiliaire de poudre de deltaméthrine, puis de tester d'autres insecticides issus de familles différentes, impliquant des modes d'actions différents. Une solution alternative pourra ainsi être proposée.

L'évaluation se fait en contexte de risque maximal, donc urbain et permet de dégager les méthodes d'échantillonnage et d'analyse les plus adaptées au contexte urbain malgache d'une part, et des renseignements d'ordre pratique permettant une meilleure efficacité de la lutte antivectorielle d'autre part.

### MATERIELS ET METHODES

Le principe est d'établir une comparaison de l'effet de désinsectisations réalisées avec des produits insecticides différents dans des groupes d'habitations comparables.

#### Echantillonnage

Un quartier est divisé en groupes d'habitations de la manière la plus homogène possible (nombre, qualité). Chaque groupe d'habitations comprend environ 30 pièces. Les différents groupes sont séparés par une zone d'une dizaine d'habitations

<sup>1</sup> Institut Pasteur de Madagascar, BP 1274 - 101 Antananarivo - Madagascar.  
<sup>2</sup> ORSTOM, Programme RAMSE, BP 6090 - 101 Antananarivo - Madagascar.



afin de limiter les effets de diffusion d'un traitement d'un groupe à l'autre. Les quartiers d'Ambodirano, d'Andohatapenaka et d'Ampefiloha ont été choisis d'après des critères d'homogénéité des habitations et de prévalence pulicidienne.

Les différentes zones ont fait ensuite l'objet d'un traitement tiré au sort : contrôle négatif par poudre inerte, insecticide A, B.... Les épandages ont été pratiqués par l'équipe du laboratoire.

L'étude a été réalisée de juillet 1997 à avril 1998

- juillet 1997 : évaluation de la deltaméthrine et du pyrimiphos-méthyl (quartier Ambodirano)

- décembre 1997 : évaluation de la deltaméthrine (quartier Andohatapenaka)

- février 1998 : évaluation du bendiocarbe (quartier Andohatapenaka)

- avril 1998 : évaluation du pyrimiphos-méthyl (quartier Ampefiloha).

### Pulvérisation des insecticides

Selon les recommandations de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) [4], elle est strictement intradomiciliaire. Le poudrage est fait, à l'aide de boîtes poudreuses, le long des murs, sur une largeur d'une vingtaine de centimètres et d'une épaisseur de 3 à 5 mm. Cette opération permet une concentration du produit à la base des murs. On estime la surface à traiter à 10 m<sup>2</sup> par maison, soit 1 kg de poudre par maison.

### Insecticides testés

- deltaméthrine poudre pour poudrage à 0,2% : 2 g de matière active par kg, produit actuellement utilisé par le Programme National de Lutte contre la Peste.

L'OMS ne propose pas de standard de concentration d'application en tant que poudre de piste destinée à atteindre les puces de pelage des rats.

- pyrimiphos-méthyl poudre à poudrer à 2% : 20 g de matière active par kg. C'est un organophosphoré, proposé en alternative par l'OMS pour la lutte contre les puces. Ce produit est localement disponible sous forme de poudre à poudrer pour le traitement des stocks de céréales.

- bendiocarbe poudre à poudrer à 1% : 10 g de matière active par kg. C'est un carbamate qui présente une efficacité constante *in vitro* et est recommandé, parmi d'autres insecticides, par l'OMS en alternative en cas de résistance au DDT. Le propoxur, de la même famille d'insecticides, n'a pas été choisi du fait des antécédents de résistance *in vitro* notés en 1986 [5].

Pour ces trois produits, l'OMS ne préconise que la concentration des poudres et la modalité générale de poudrage.

- témoin sans traitement : poudre à poudrer sans principe actif.

### Capture des rats

Une capture préalable simultanée dans les différentes zones permet d'établir les données initiales. Une semaine après le traitement, des captures permettent de mesurer l'action du produit testé. Ce n'est que dans le cas d'une efficacité démontrée lors de cette phase qu'une troisième capture est prévue 4 à 6 semaines plus tard pour l'étude de la rémanence.

Le piégeage est réalisé au moyen de pièges grillagés type BTS (2 par foyer) pendant 3 nuits, portées à 4 nuits à partir de février 1998; cette prolongation a permis une augmentation du nombre de rongeurs capturés.

Les spécimens sont déterminés, sacrifiés, brossés, pesés et mesurés. Les prélèvements de rate et de sérum sont soumis à des analyses bactériologique et sérologique (IPM/ORSTOM/BMH/Service Central de la Peste).

Il importe de faire un tri des mammifères capturés. En toute logique, l'étude ne porte que sur les puces trouvées sur des mammifères susceptibles d'avoir un rôle dans l'épidémiologie de la peste. A cet effet, les souris (*Mus musculus*) sont éliminées, par contre les musaraignes sont conservées en plus des rats.

### Traitement des puces

Les puces récoltées par brossage des animaux sont déterminées à la loupe binoculaire. Les puces fixées (*Echidnophaga gallinacea*) ne sont pas comptées car elles n'interviennent pas dans le cycle épidémiologique de la peste.

### Analyse des résultats

Nous avons étudié la baisse de l'index pulicidien, par comparaison de moyennes (test-t de Student ou ANOVA), avant et après traitement. En première approximation, on pose l'hypothèse d'une distribution normale des puces sur les rats.

## RESULTATS

### Mammifères (Tableau I)

La première étude, en juillet 1997 à Ambodirano, souffrait d'un manque de rats lors de l'étape initiale (J0), étape cruciale car elle sert de ligne de base pour l'étude de la variation.

Tableau I : Nombre de rats et musaraignes capturés par étude (entre parenthèses l'effectif des rats et musaraignes capturés dans la zone contrôle)

	J0	J7	J30
Juillet 1997 deltaméthrine	3 (2)	8 (3)	9 (4)
Juillet 1997 pyrimiphos-méthyl	1 (2)	5 (3)	5 (4)
Décembre 1997 deltaméthrine	7 (7)	13 (6)	*
Février 1998 bendiocarbe	11 (7)	9 (10)	12 (14)
Avril 1998 pyrimiphos-méthyl	22 (16)	14 (16)	13 (8)

\* pas d'étude de la rémanence du fait du défaut d'efficacité immédiate de la deltaméthrine

## Puces

A l'exception des *Echidnophaga gallinacea*, la seule espèce de puces trouvée est *Xenopsylla cheopis* (100%).

### Effet Immédiat

Les index des zones traitées par le bendiocarbe ou le pyrimiphos-méthyl baissent de manière significative au test-t de Student. Cependant, seule une analyse ANOVA, du fait de la baisse importante des index des zones contrôles (respectivement  $p = 0,042$  et  $0,018$  au test-t de Student) permet de dégager un effet significatif du bendiocarbe ( $p = 0,0005$ ) et du pyrimiphos-méthyl ( $p = 0,0004$ ).

A l'opposé, la diminution immédiate de l'index pulicidien avec la deltaméthrine n'apparaît pas significative ni au test-t de Student ni à l'ANOVA. (Tableau II).

Tableau II : Index pulicidiens - Effet Immédiat

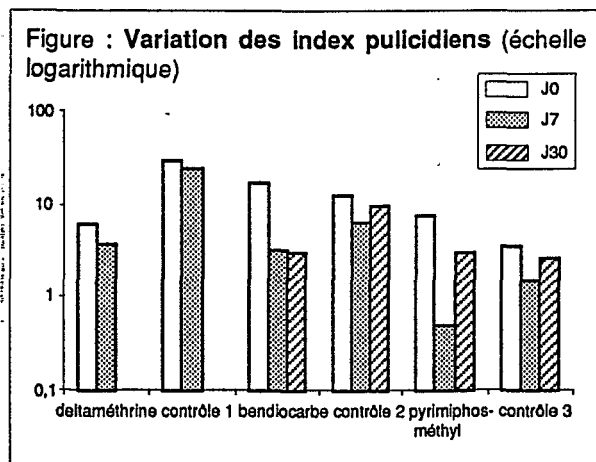
Produits testés	Index pulicidiens à J0	Index pulicidiens à J7	% de variation J0-J7* (significativité t Student)
Deltaméthrine	6,14	3,84	37 (NS)
Contrôle 1	29,14	24,68	15 (NS)
Bendiocarbe	17,27	3,22	8 ( $p = 0,0016$ )
Contrôle 2	12,57	6,60	48 ( $p = 0,042$ )
Pyrimiphos-méthyl	7,50	0,5	93 ( $p = 0,003$ )
Contrôle 3	3,62	1,56	57 ( $p = 0,018$ )

\* Le pourcentage de variation correspond au rapport de la différence des index pulicidiens sur l'index initial ramené au pourcentage

### Etude de la rémanence (Figure)

Elle n'a pu porter que sur le bendiocarbe et le pyrimiphos-méthyl du fait des résultats de leur action immédiate.

Cet effet de rémanence est retrouvé avec le pyrimiphos-méthyl et le bendiocarbe en comparant les index de J0 et J30.



Néanmoins, si l'on compare les index pulicidiens entre J7 et J30, ceux-ci ne varient pas avec le bendiocarbe, montrant une persistance de l'effet insecticide immédiat, alors qu'ils augmentent de manière significative avec le pyrimiphos-méthyl (multiplié par 6,  $p = 0,0009$ ) (Tableau III).

Tableau III : Variation des index pulicidiens - Effet rémanent

Produits testés	Index pulicidiens à J0	Index pulicidiens à J30	% de variation J0-J30* (significativité t Student)
Bendiocarbe	17,27	3,16	82 ( $p = 0,0005$ )
Contrôle 2	12,57	9,71	25 (NS)
Pyrimiphos-méthyl	7,50	3,07	59 ( $p = 0,046$ )
Contrôle 3	3,62	2,62	28 (NS)

\* Le pourcentage de variation correspond au rapport de la différence des index pulicidiens sur l'index initial ramené au pourcentage

## DISCUSSION

### Efficacité Immédiate et rémanence

Le bendiocarbe et le pyrimiphos-méthyl entraînent des baisses immédiates et significatives de l'index pulicidien des rats et musaraignes des zones traitées.

La deltaméthrine entraîne une baisse immédiate non significative de l'index pulicidien.

Le bendiocarbe agit de façon durable, puisqu'à 6 semaines du traitement, l'index pulicidien est toujours significativement plus bas qu'avant le traitement et pas significativement différent de la valeur enregistrée une semaine après le traitement.

Le pyrimiphos-méthyl possède également une action durable, mais paraît incapable d'empêcher une augmentation de l'index pulicidien de J7 à J30.

### Validation par les zones contrôles

Les zones contrôles permettent d'estimer la variation spontanée de l'effectif de puces. Néanmoins, nous avons posé l'hypothèse que la zone tampon entre les groupes d'habitations suffit à limiter les phénomènes de biais par migration de mammifères d'une zone à l'autre. L'hypothèse contraire aurait pour effet de sous-estimer l'effet de l'insecticide par migration croisée de rats entre les zones traitées et témoins, diminuant ainsi l'effet réellement dû à l'insecticide.

*A posteriori*, l'évolution de l'index pulicidien des zones contrôles des essais du bendiocarbe et du pyrimiphos-méthyl renforce l'intérêt d'une méthodologie rigoureuse permettant de réduire les biais liés aux variations spontanées des index pulicidiens des rats et musaraignes d'Antananarivo.

### Comparaison avec les données antérieures

La plupart des données de la littérature concernant la sensibilité des puces pestigènes malgaches aux insecticides concernent des tests *in vitro* : dès 1966, Brygoo [6] conclut, après une série de tests standardisés OMS à "une résistance manifeste des puces des rats de Tananarive au DDT". Les données suivantes datent de 1982 et confirment toujours par des tests *in vitro* standardisés OMS la résistance de *X. cheopis* d'Antananarivo aux DDT, dieldrine et malathion, puis en 1984 aux carbamates dont le

représentant testé est le propoxur [7]. Cette résistance au propoxur a été confirmée pour une souche de *X. cheopis* d'Anananarivo en 1987, alors que la sensibilité à la deltaméthrine est établie, toujours par la méthode standardisée OMS *in vitro* [5]. Les résultats des épreuves *in vitro* réalisées en 1995-1997 par notre laboratoire [3] sont rappelés en introduction.

Les seules données de terrain viennent d'une étude de Brygoo [8] qui concluait à l'efficacité de la dieldrine et du malathion dans un village de zone rurale. Une autre évaluation indirecte, cette fois-ci à Tananarive, est rapportée par la baisse importante des index pulicidiens entre 1949 et 1951 suite aux traitements par DDT ou HCH [9]. Depuis, seules des épreuves de laboratoire ont été réalisées.

En admettant que l'on puisse comparer des données de laboratoire et de terrain, il semble qu'on assiste, pour les organophosphorés et les carbamates et en référence aux tests *in vitro* du début des années 1980, à un retour de la sensibilité des puces pestigènes malgaches d'Antananarivo à ces produits.

Plusieurs hypothèses peuvent être évoquées :

- une réversibilité de la résistance à ces produits.

Nous n'avons pas trouvé de description de ce phénomène pour les insecticides. On peut en rapprocher la description d'"instabilité de la résistance", décrite chez les larves de simules de savane pour le téméphos, avec une réapparition de la sensibilité [10]. En effet, une mise en place de mécanismes biochimiques, enzymatiques, de détoxification par exemple, nécessite une dépense énergétique qui n'est alors justifiée que si la pression toxique est forte. Une balance énergétique défavorable pourrait alors favoriser une population "sauvage", sensible.

- un changement de population, avec remplacement d'une population de puces résistantes par une population de puces sensibles, soit par les mécanismes de sélection (décrits ci-dessus), soit par flux migratoires.

Quant à l'apparition de la résistance des puces pestigènes d'Antananarivo à la deltaméthrine et probablement aux autres pyréthriinoïdes, on peut supposer que la résistance initialement décrite au DDT a joué un rôle. On considère qu'il existe des mécanismes communs dans la réponse aux carbamates et organophosphorés [10], alors que la résistance aux pyréthriinoïdes peut être liée à celle des organochlorés (DDT).

L'utilisation de la deltaméthrine a pu permettre, dans une population de puces dont le fonds génétique a été fortement sélectionné par le DDT, l'émergence rapide d'une population résistante à la

deltaméthrine (ainsi qu'au DDT). Ceci fait évoquer l'implication du gène *kdr* dans le mécanisme de résistance, décrit déjà chez la mouche, la blatte [11] et les moustiques [10].

Enfin, cette étude a montré une hétérogénéité certaine du portage des puces par les rats au sein des quartiers testés, pourtant choisis sur des critères d'homogénéité d'environnement humain. Cette hétérogénéité spatiale au sein d'un même quartier, mais aussi temporelle entre deux périodes d'évaluation proches rend difficile la réalisation et l'interprétation des tests. Une amélioration probable des résultats pourrait être effectuée en augmentant l'effectif de rats capturés soit par une augmentation de la surface étudiée, ce qui alourdit la logistique du test, soit par un allongement de la durée de capture, ce qui pourrait biaiser la dynamique de population de rongeurs (épuisement, migration?). Enfin, une étude fine de la distribution des puces sur les rongeurs permettra d'améliorer les techniques d'analyses statistiques.

## CONCLUSION

Au total, dans cette première estimation de l'efficacité des insecticides sur le terrain, nous avons pu montrer :

- l'efficacité du bendiocarbe concernant la baisse de l'index pulicidien et une rémanence notable puisque, après 6 semaines, l'index pulicidien est resté à la valeur mesurée immédiatement après traitement

- l'efficacité immédiate du pyrimiphos-méthyl avec une rémanence imparfaite puisque l'index pulicidien augmente significativement 4 semaines après le traitement

- l'inefficacité de la deltaméthrine.

Les résultats présentés ici permettent, dans un premier temps, de conseiller la constitution d'un stock de sécurité avec un insecticide différent de la deltaméthrine, toujours dans le cadre strictement défini de la lutte contre la peste, c'est-à-dire dans un but de prévention secondaire de survenue de cas humains buboniques.

Le bendiocarbe et le pyrimiphos-méthyl, tous deux efficaces, peuvent prétendre répondre à cet impératif. La différence d'effet de rémanence n'est pas pour l'instant primordiale car le programme s'appuie sur des opérations ponctuelles destinées à limiter les cas secondaires de peste bubonique. Les impératifs techniques seraient différents s'il s'agissait d'opérations préventives primaires dont il n'est pas question dans le programme actuel de lutte contre la peste à Madagascar.

Afin de limiter les apparitions de résistance des

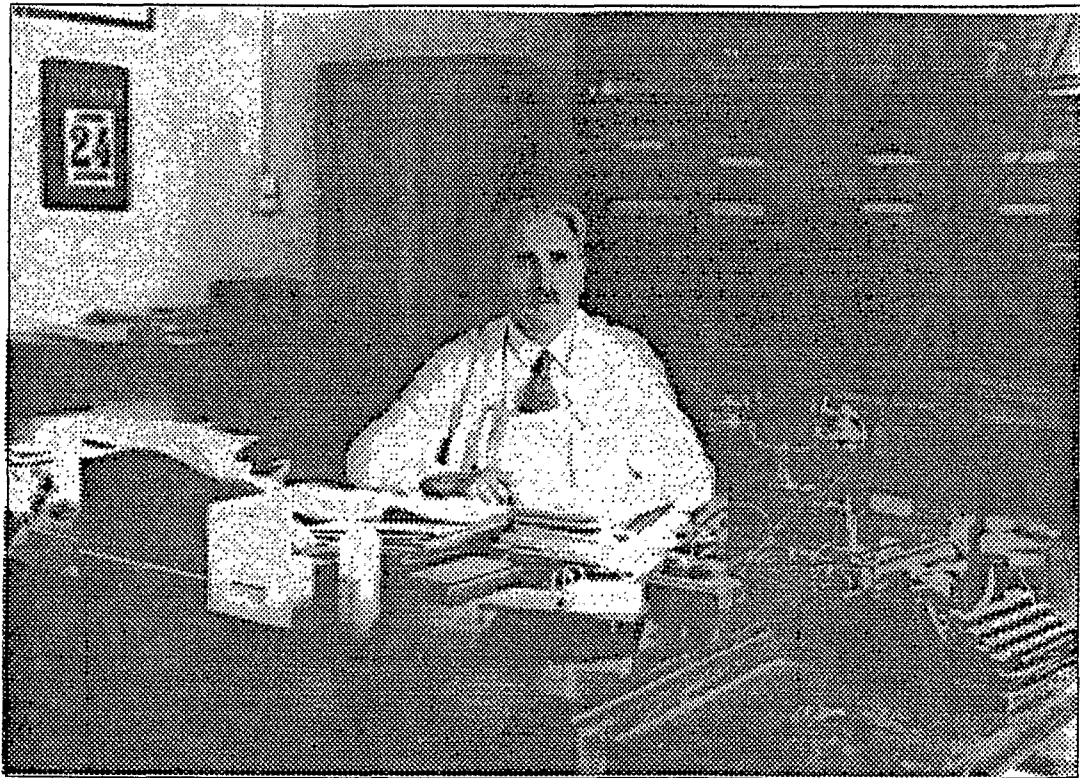
puces aux insecticides, une politique d'alternance d'utilisation de produits serait à définir, orientée par une connaissance précise de la sensibilité des puces selon les localités.

#### REMERCIEMENTS

Ces études ont bénéficié de financements provenant du Ministère de la Santé Malgache (CRESAN 2251MAG) et des sociétés Hoescht et Agriculture Chimie Madagascar (ACM).

#### REFERENCES

- 1- Boislier P, Rasolomaharo M, Ranalvoson G, Rasoamanana B, Rakoto L, Andrianirina Z, Andriamahefazafy B, Chanteau S. Urban epidemic of bubonic plague in Majunga, Madagascar : epidemiological aspects. *Trop Med Intern Health* 1997; 2 : 422-427.
- 2- Chanteau S, Ratsifasoamanana L, Rasoamanana B, Rahallison L, Randriambeloso J, Roux J, Rabeson D. Plague, a reemerging disease in Madagascar. *Emerg Infect Dis* 1998; 4 : 101-104.
- 3- Ratovonjato J. Sensibilité de *Xenopsylla cheopis* aux insecticides, en milieu urbain, à Madagascar. *Arch Inst Pasteur Madagascar* 1997; 64 : 25-28.
- 4- Gratz NG, Brown WA. Fleas - Biology and Control. Genève: OMS, 1983 (WHO/VBC/83.874).
- 5- Fontenille D, Coulanges P. Note sur la sensibilité de puces *Xenopsylla cheopis* de la région de Tananarive à la deltaméthrine et au propoxur. *Arch Inst Pasteur Madagascar* 1987; 53 : 209-213.
- 6- Brygoo ER. Epidémiologie de la peste à Madagascar. *Arch Inst Pasteur Madagascar* 1965; 35 : 9-147.
- 7- Coulanges P, Randrianantoanina E. Résistance des puces pestigènes malgaches aux insecticides organochlorés, organophosphorés et aux carbamates. *Arch Inst Pasteur Madagascar* 1983; 51: 253-260.
- 8- Brygoo ER, Rajenison S. Puces et rats d'un village de l'Itasy en zone d'endémie pesteuse. *Arch Inst Pasteur Madagascar* 1959; 28 : 109-124.
- 9- Robic J, Courdurier J. Les puces et la désinsectisation à Tananarive - Extrait du Rapport annuel. *Arch Inst Pasteur Madagascar* 1951 : 58-63.
- 10- OMS. Résistance des vecteurs aux pesticides. *Sér Rap Techn OMS* 1992; 818 : 68p.
- 11- Scott JG, Dong K. *kdr*- type résistance in insects with special reference to the German cockroach, *Blattella germanica*. *Comp Biochem Physiol* 1994; 109B : 191-198.



G GIRARD : le bâtisseur doublé du scientifique