

## Sensibilité aux insecticides des vecteurs du paludisme sur les Hautes terres de Madagascar après cinq années de lutte antivectorielle

Rakotonirainy ME<sup>1</sup>, Le Goff G<sup>2</sup>, Rajaonarivelo E<sup>3</sup>, Romi R<sup>4</sup>, Raharimanga R<sup>1</sup>, Rajaonarivelo V<sup>2</sup>, Rabarison P<sup>3</sup>

**RESUME** En 1991, la sensibilité au DDT d'*Anopheles funestus* était totale tandis que celle d'*Anopheles gambiae* avait diminué par rapport aux tests effectués en 1962. Cinq cycles d'Opération de Pulvérisation Intra-Domiciliaire (OPID) ont été entrepris sur les Hautes Terres Centrales (HTC) de Madagascar de 1993 à 1997. 1 482 tonnes de DDT PM 75% ont été pulvérisées à l'intérieur des habitations humaines et dans les abris d'animaux à la dose de 2 g par mètre-carré. De 1996 à 1999, des tests de sensibilité réalisés selon le protocole standard de l'OMS ont été effectués dans 20 localités des HTC.

*An. funestus* reste sensible au DDT. La sensibilité d'*An. gambiae* ls continue à diminuer. Aux alentours de la ville d'Antananarivo, cette espèce est devenue résistante au DDT.

*An. funestus* et *An. gambiae* ls sont totalement sensibles aux pyréthrinoïdes de synthèse.

**Mots-clés** : *Anopheles funestus* - *Anopheles gambiae* - Chimiosensibilité - Insecticides - DDT - Deltaméthrine - Cyfluthrine - Lambdacyhalothrine - Perméthrine - MADAGASCAR.

**ABSTRACT** : "Susceptibility to insecticides of the vectors of malaria in the Highlands of Madagascar after a five-year control program" : In 1991, *Anopheles gambiae* and *Anopheles funestus*, the main malaria vectors in the Highlands of Madagascar, were reported to be fully susceptible to DDT; nevertheless a slight decrease in the susceptibility levels was recorded when compared with previous assays carried out in 1962. From 1993 to 1997, five cycles of indoor residual spraying have been carried out in the Highlands : a total of 1,482,000 kg of 70% wp DDT have been used for the treatment of houses and animal shelters. From 1996 to 1999, adult mosquito susceptibility tests to DDT and to some pyrethroids (lambdacyhalothrine, deltamethrine, permethrine and cyfluthrine) have been carried out on samples collected in 20 areas of the Highlands. Bioassays were carried out following the WHO standard method.

All tested populations of *An. funestus* showed a full susceptibility to DDT. *An. gambiae* showed a widespread decrease in the susceptibility to DDT, particularly marked in the region of the capital city Antananarivo. Both species were susceptible to pyrethroids.

**Key-words** : *Anopheles funestus* - *Anopheles gambiae* - Chimiosensibility - Insecticides - DDT - Deltamethrine - Cyfluthrine - Lambdacyhalothrine - Permethrine - MADAGASCAR.

### INTRODUCTION

La première campagne de contrôle du paludisme sur les Hautes Terres de Madagascar (HTC) a débuté en 1949. Dans ce cadre, le DDT a été employé intensivement pour la lutte antivectorielle jusqu'en 1960 [1]. En 1962, Chauvet rapportait la sensibilité totale à cet insecticide des populations d'*Anopheles gambiae* ls dans les environs d'Antananarivo [2]. Le programme de lutte antipaludique comprenait la chimioprophylaxie des enfants d'âge préscolaire et de tous les écoliers, le dépistage actif des cas ainsi que l'aspersion de DDT et d'autres insecticides à l'intérieur des habitations [3]. Ces aspersions, menées jusqu'à la fin des années 1970, conduirent à la disparition du principal vecteur, *Anopheles funestus* [4].

Suite à un relâchement des efforts de lutte, une recrudescence du paludisme sur les Hautes Terres est survenue à partir de 1985 parallèlement à la réapparition d'*An. funestus* [5]. Une nouvelle campagne de traitements intra-domiciliaires au DDT focalisée a été menée de 1988 à 1992 où 200 tonnes environ de cet insecticide ont été utilisées.

En 1991, dans le cadre du Programme de Lutte contre le Paludisme, une enquête financée par la Coopération italienne a montré qu'*An. gambiae* ls et *An. funestus* étaient encore sensibles au DDT [6], bien que les niveaux de sensibilité des populations d'*An. gambiae* ls aux alentours d'Antananarivo aient diminué par rapport aux tests effectués en 1962 par Chauvet.

De 1993 à 1997, une grande campagne de pulvérisation de DDT sur les Hautes Terres a été entreprise, grâce essentiellement à un crédit de la Banque Mondiale. L'OPID (Opération de Pulvérisation Intra-Domiciliaire) visait à couvrir les

<sup>1</sup> Service de Lutte contre le Paludisme, Ministère de la Santé de Madagascar, BP 460 - 101 Antananarivo - Madagascar.

<sup>2</sup> Institut de Recherche pour le Développement - 101 Antananarivo - Madagascar.

<sup>3</sup> Institut Pasteur de Madagascar, BP 1274 - 101 Antananarivo - Madagascar.

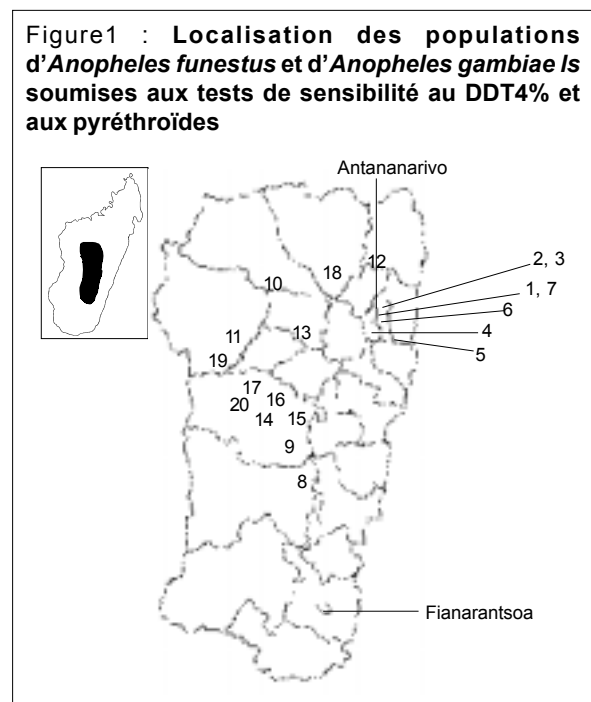
<sup>4</sup> Istituto Superiore di Sanità, V.le Regina Elena, 229-00161 Roma - Italie.

zones à haut risque épidémique en appliquant 2 g/m<sup>2</sup> de matière active dans les habitations humaines et les abris pour animaux. Au total, 1 482 tonnes de DDT sous la formulation de poudre mouillable à 75% ont été pulvérisées.

Après les 5 cycles d'OPID, une évaluation de la sensibilité des vecteurs au DDT et aux pyréthrinoïdes a été effectuée afin de détecter une résistance éventuelle et orienter le choix des insecticides à employer dans les futures campagnes. Les essais biologiques présentés dans cette étude ont été réalisés entre 1996 et 1999 par le Service de Lutte contre le Paludisme (SLP) du Ministère de la Santé de Madagascar, en collaboration avec la Coopération Italienne, par l'Institut Pasteur de Madagascar (IPM) et par l'Institut de Recherche pour le Développement (IRD/RAMSE), dans le cadre d'un appui technique au Programme National de Lutte contre le Paludisme.

## MATERIEL ET METHODES

La figure montre la localisation des 20 sites d'étude sur les HTC de Madagascar; les chiffres de 1 à 20 se réfèrent à la liste des localités présentées dans les tableaux de I à IV. Ces localités se situent à des altitudes comprises entre 900 et 1 500 mètres. La saison chaude et pluvieuse s'étend d'octobre à avril et la pluviosité annuelle moyenne dépasse 1 300 mm.



Les vecteurs du paludisme présents sur les Hautes Terres sont *An. funestus* et *An. gambiae* ls.

*An. funestus*, espèce très endophile et

anthropophile, est le plus important vecteur du paludisme sur les Hautes Terres et a été la première cible visée par les pulvérisations intra-domiciliaires de DDT. Dans les zones traitées dans le cadre de l'OPID, la densité de cette espèce est devenue très faible et lors des enquêtes de surveillance, seuls quelques spécimens ont pu être récoltés, surtout à l'extérieur des habitations (données non présentées). Par conséquent, les populations testées ont été recueillies dans des zones situées en marge des zones OPID qui n'ont jamais été traitées ou traitées seulement une fois (Tsiroanomandidy), à l'exception du village de Manarimofo, traité 5 fois par l'OPID, où 138 spécimens ont été capturés en juin 1999 (Tableau I).

Tableau I : Résultats des tests de susceptibilité de *Anopheles funestus* au DDT 4% sur les Hautes Terres de Madagascar 1997-1999

Zone	Localités	Dates	Nb témoins (% mortalité)	Nb testés	Mortalité corrigée (%)	Nb cycles d'OPID	Institution
Tsiroanomandidy	11) Ambohimiarintsoa	12/98	78 (11,5)	141	(100)	1	SLP
	19) Manarimofo	06/99	47 (0)	90	(98,8)	5	IRD
Mandoto	17) Ambohimena	06/96	43 (7)	105	(97,9)	0	IRD/IPM
		03/98	24 (0)	49	(100)	0	IRD
		06/98	44 (4,5)	46	(100)	0	IRD
Ankazobe	18) Ankazobe	04/97	17 (5,9)	33	(100)	0	IPM

*An. gambiae* ls, sur les plateaux, est essentiellement représenté par *An. arabiensis* [7]. L'espèce, très zoophile et exophile, joue un rôle secondaire dans la transmission du paludisme. Cet anophèle ayant été encore trouvé en grand nombre dans les zones intéressées par l'OPID, les populations testées ont été recueillies dans des localités dont la plupart ont été traitées plusieurs fois avec le DDT (Tableau II).

Tableau II : Résultats des tests de susceptibilité de *Anopheles gambiae* ls au DDT 4% sur les Hautes Terres de Madagascar 1997-1999

Zone	Localités	Dates	Nb témoins (% mortalité)	Nb testés	Mortalité corrigée (%)	Nb cycles d'OPID	Institution	
Antananarivo	1) Alasora (Mahitsy)	05/98	60 (15)	155	76,5	5	SLP	
		01/99	42 (0)	86	51,2	5	IPM	
	2) Merimandroso	02/99	82 (1,2)	220	48,9	5	SLP	
		01/99	22 (0)	44	52,3	5	IPM	
	3) Lazaina	02/99	02/99	85 (0)	205	85,4	5	SLP
			02/99	96 (3,1)	239	80,6	5	SLP
			03/99	98 (8)	218	56,4	5	IPM
4) Fenoarivo	03/99	03/99	64 (6,3)	167	80,8	3	SLP	
		03/99	104 (5,8)	255	83,3	4	SLP	
6) Ambolokandrina Ankatso	02/99	02/99	24 (0)	24	50	0	IRD	
		01/99	21 (0)	63	12,7	5	IPM	
Ambatomifanongoa	8) Ambohipaly	09/98	26 (3,9)	86	95,2	5	SLP	
Ambatofinandrahana	9) Ambondromisotra	03/97	21 (0)	116	74,1	5	SLP	
		09/98	36 (14)	119	90,2	5	SLP	
Fenoarivo Centre	10) Miadapahonina	11/98	73 (2,7)	278	94,4	5	SLP	
Tsiroanomandidy	11) Ambohimiarintsoa	12/98	23 (4,4)	41	100	1	SLP	
Anjozorobe	12) Ambohibarikely	03/97	11 (18,2)	123	93	5	SLP	
		05/98	30 (10)	70	91,7	5	SLP	
		12/98	83 (7,2)	211	91,8	5	SLP	
Arivorimamo II	13) Vatolaiivy	02/99	13 (7,7)	46	90,6	0	SLP	
Betafo	14) Antsongondrano	01/97	15 (7)	52	98	3	IRD/IPM	
		02/99	23 (0)	99	27,3	4	IRD	
	15) Soavina	01/99	22 (0)	23	82,6	4	IRD	
		02/99	23 (4,3)	44	79,5	4	IRD	
	16) Fenoarivo	01/99	22 (0)	45	91,1	4	IRD	

Les tests ont été conduits entre les mois de juin 1996 et mars 1999. Ils ont été effectués selon le protocole standard de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) [8] : utilisation des papiers imprégnés d'insecticides fournis par cette organisation. Les insecticides suivants (dose discriminante) ont été utilisés : DDT 4%, lambda cyhalothrine 0,05% et 0,1%, deltaméthrine 0,025%, perméthrine 0,25% et cyfluthrine 0,15%.

Les anophèles testés sont issus de la faune résiduelle matinale. Ces vecteurs potentiels du paludisme ont été récoltés dans tous les types de gîtes et plus particulièrement dans les étables en ce qui concerne *An. arabiensis*. Ces spécimens ont été conservés en observation dans une cage recouverte d'un tissu humidifié.

Les tests ont été réalisés directement sur le terrain ou, lorsque cela a été possible, au laboratoire des différents services, à température ambiante, comprise entre 21°C et 29°C, et à une humidité relative entre 50% et 85%.

6 470 femelles, gorgées ou semi-gravides, ont été testées. Des lots composés de 15 à 25 femelles ont été introduites dans les tubes d'observation pendant une heure avant d'être transférées dans les tubes d'exposition tapissés de papiers imprégnés d'insecticide. Après une heure d'exposition, les moustiques ont été retransférés dans les tubes d'observation et la lecture a été faite après 24 heures.

Seuls les tests dont la mortalité des témoins ne dépassait pas 20% ont été pris en compte; lorsque celle-ci était comprise entre 5% et 20%, la mortalité brute a été corrigée selon la formule d'Abbott.

## RESULTATS

Les résultats des enquêtes sont présentés dans les tableaux I à IV.

Pour *An. funestus* (Tableaux I et III), un total de 717 femelles ont été testées au DDT 4% au cours de 6 différents essais conduits respectivement dans les villages d'Ambohimiarintsoa (1 série de test) Manarimofa (1 série de test), Ambohimena (3 séries de test) et Ankazobe (1 série de test). Tous les essais ont donné une mortalité de 100%, sauf dans le village de Manarimofa (Tsiroanomandidy), traité 5 fois dans le cadre de l'OPID, où une mortalité de 98,8% a été rapportée (Tableau I).

Un total de 357 femelles ont été testées à la lambda cyhalothrine 0,1% dans les villages d'Ambohimena (4 séries de test) et Tsarafara (1 série de test). Tous ces essais ont donné une mortalité de 100% (Tableau III).

Pour *An. gambiae ls* (Tableaux II et IV), un total de 4 148 femelles ont été testées au DDT 4% au cours de 25 essais menés dans 16 villages appartenant à 8 *fivondronana* différents (districts).

Tableau III : Résultats des tests de susceptibilité de *Anopheles funestus* aux pyréthriinoïdes sur les Hautes Terres de Madagascar 1996-1998

Zone	Localités	Dates	Insecticide (concentrations)	Nb témoins (% mortalité)	Nb testés	Mortalité corrigée (%)	Nb cycles d'OPID	Institution
Mandoto	17) Ambohimena	06/96	L-cyha 0,1%	45 (2)	104	100	0	IRD/IPM
		03/98	L-cyha 0,1%	24 (0)	48	100	0	IRD
		06/98	L-cyha 0,1%	44 (4,5)	41	100	0	IRD
20) Tsarafara	12/97	L-cyha 0,1%	26 (7,7)	25	100	0	IRD	

L-cyha : Lambadacyhalothrine

Dans le district d'Antananarivo, 11 séries de test ont été conduites dans 7 villages situés aux alentours de la ville. Les taux de mortalité observés étaient compris entre 12,7% et 85,4% avec un minimum à Ambohimangakely et un maximum à Merimandroso. Tous ces villages, à l'exception d'Ambolokandrina-Ankatso, avaient été traités plusieurs fois dans le cadre de l'OPID.

Dans les autres districts, 14 séries de tests ont été conduites dans 9 villages différents. Les taux de mortalité étaient tous supérieurs à 74%, à l'exception du village d'Antsongondrano (Betafo), où, une mortalité seulement de 27,3% a été rapportée en février 1999. Tous ces villages, à l'exception de Vatolaivy (jamais pulvérisé) et Ambohimiarintsoa (pulvérisée une fois en janvier 1998), avaient été traités plusieurs fois dans le cadre de l'OPID.

Un total de 1 147 femelles d'*An. gambiae ls* ont été testées aux pyréthriinoïdes dans les districts d'Antananarivo (10 séries de test dans 5 villages) et de Betafo (3 séries de test dans 3 villages). Tous ces essais ont donné une mortalité de 100% (Tableau IV). Cependant, les tests de sensibilité à la perméthrine (0,25%) à Alasora et à la cyfluthrine (0,15%) à Ambohimangakely ont montré respectivement une mortalité de 87,2% et 98,5%.

Tableau IV : Résultats des tests de susceptibilité de *Anopheles gambiae ls* aux pyréthriinoïdes sur les Hautes Terres de Madagascar 1997-1999

Zone	Localités	Dates	Insecticide (concentrations)	Nb témoins (% mortalité)	Nb testés	Mortalité corrigée (%)	Nb cycles d'OPID	Institution	
Antananarivo	6) Ambolokandrina	02/99	L-cyha 0,05%	24 (0)	68	100	0	IRD	
		1) Alasora (Mahitsy)	11/99	L-cyha 0,05%	20 (2)	62	100	5	SLP
			03/97	Delta 0,025%	42 (0)	34	100	5	IPM
	2) Merimandroso	03/97	Perme 0,25%	42 (0)	39	87,2	5	IPM	
		03/97	L-cyha 0,1%	42 (0)	82	100	5	IPM	
		11/99	L-cyha 0,05%	66 (1,5)	184	100	5	SLP	
		11/99	Delta 0,05%	66 (1,5)	83	100	5	SLP	
3) Lazaina	11/99	Cyflu 0,15%	66 (1,5)	77	100	5	SLP		
	03/99	Cyflu 0,15%	21 (0)	67	100	5	IPM		
7) Ambohimangakely	01/99	Cyflu 0,15%	22 (0)	64	98,5	5	IPM		
Betafo	14) Antsongondrano	02/99	L-cyha 0,05%	25 (0)	49	100	4	IRD	
		02/99	L-cyha 0,05%	25 (0)	48	100	4	IRD	

L-cyha : Lambadacyhalothrine  
Perme : Perméthrine  
Delta : Deltaméthrine  
Cyflu : Cyfluthrine

## DISCUSSION ET CONCLUSION

Toutes les populations d'*An. funestus* testées sont sensibles au DDT, avec un taux de mortalité minimum de 98,8% à Manarimofy, après 5 cycles d'OPID. Les anophèles vecteurs ont été presque tous récoltés dans des villages jamais traités ou traités une seule fois dans le cadre de l'OPID; la disparition quasi totale de l'espèce dans les villages traités plusieurs fois témoigne que le principal vecteur du paludisme sur les Hautes Terres est encore sensible au DDT. Cette espèce est aussi sensible à la lambda-cyhalothrine 0,1%.

La situation est complètement différente avec *An. arabiensis* qui se maintient sur les HTC en dépit des opérations de pulvérisation intradomiciliaire du fait de son éthologie. Dans les 16 localités étudiées, nous avons noté une diminution généralisée de la sensibilité de cet anophèle au DDT, à l'exception du village d'Ambohimiarintsoa qui a été traité seulement une fois dans le cadre de l'OPID. Dans le district d'Antananarivo, les tests les plus récents (janvier-mars 1999) ont montré une résistance presque générale, avec une mortalité d'environ 50%, tous les villages ayant été traités 5 fois dans le cadre de l'OPID. Celle-ci a été déjà signalée par Rabarison P et coll. en 1998 [9]. Ce n'est que dans 2 villages, traités respectivement 3 et 4 fois, que des taux de mortalité d'environ 80% ont été obtenus.

Par contre, dans un quartier péri-urbain de la ville d'Antananarivo (Ambolokandrina-Ankatso) qui n'a jamais été traité, nous avons observé une mortalité de 50%. Ce quartier se trouve en face d'Alasora. L'utilisation de pesticides à usage agricole aux alentours de la ville aurait pu favoriser l'apparition de la résistance au DDT même si le village n'a jamais été traité. Enfin dans le village d'Antsongondrano (Betafo), la sensibilité au DDT, de la population d'*An. gambiae* ls est passée de 98% en 1997 à 27,3% en 1999, après le 4<sup>ème</sup> cycle d'OPID. Les vecteurs sont totalement sensibles à la lambda-cyhalothrine, à la cyfluthrine et à la deltaméthrine. Le test avec la perméthrine (0,25%) à Alasora (87,2%) accuse une baisse de la sensibilité car en 1991 [6], le test effectué pour la détermination de la ligne de base des adultes d'*An. gambiae* ls a mis en évidence sa forte sensibilité à cet insecticide.

En conclusion de cette étude, nous pouvons affirmer que le principal vecteur du paludisme sur les Hautes Terres, *An. funestus*, est toujours sensible au DDT. En revanche, une diminution de

la sensibilité d'*An. gambiae* ls à cet insecticide a été observée sur les HTC. Ce vecteur est devenu résistant au DDT dans la plaine d'Antananarivo. Les vecteurs du paludisme sur les HTC sont parfaitement sensibles aux pyréthri-noïdes de synthèse. Comme le préconise l'OMS, nous pensons que la surveillance de la sensibilité des vecteurs du paludisme doit être considérée comme une condition primordiale de la réussite de la lutte antivectorielle. L'ensemble de ces résultats constitue une base pour l'orientation du choix des insecticides imogocides couramment utilisés en aspersion intradomiciliaire lors des éventuelles prochaines campagnes de lutte antivectorielle sur les HTC de Madagascar.

## REFERENCES

- 1- **Hamon J, Mouchet J, Chauvet G, Lumaret R.** Bilan de quatorze années de lutte contre le paludisme dans les pays francophones d'Afrique et à Madagascar. *Bull Soc Pathol Exot* 1963; **83** : 330-341.
- 2- **Chauvet G.** Rémanence du DDT dans les environs de Tananarive. Sensibilité d'*Anopheles gambiae* à cet insecticide. *Med Trop* 1962; **22** : 616-623.
- 3- **Bernard PM.** Trois années de lutte antipaludique à Madagascar. *Bull de Madagascar* 1954; **96** : 387-458.
- 4- **Chauvet G, Rajaonarivelo E.** Modification de comportement d'une espèce et variation de la composition d'une population appartenant au complexe *Anopheles gambiae* pendant et après des pulvérisations d'insecticides domiciliaires dans les environs de Tananarive (Madagascar). *Cah ORSTOM, série Entomol Med Parasitol* 1973; **11** : 155-167.
- 5- **Fontenille D, Rakotoarivony I.** Reappearance of *Anopheles funestus* as a malaria vector in Antananarivo region, Madagascar. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1988; **82**: 644-645.
- 6- **Ramiakajato M, Romi R, Sabatinelli G, Severini C, Pierdominici G.** Résultats des tests de sensibilité aux insecticides des larves et des adultes d'*Anopheles gambiae*, d'*Anopheles funestus* et de *Culex quinquefasciatus* des Hautes Terres Centrales de Madagascar en 1990-1991. *Arch CNRE Madagascar* 1991; **3** : 20-27.
- 7- **Ralisoa O, Sabatini A, Rakotoson R, Boccolini D, Randrianarisoa E, Coluzzi M.** Rôle d'*Anopheles arabiensis* dans la transmission de *Plasmodium falciparum* dans la zone d'Antananarivo, Madagascar. *Parassitologia* 1990; **32** : 220-221.
- 8- **OMS.** Instructions pour déterminer la sensibilité ou la résistance des moustiques adultes aux insecticides organochlorés, organophosphorés et carbamates. Epreuves diagnostiques ou discriminatoires. Genève : OMS, 1981. (VBC séries n° **806**).
- 9- **Rabarison P, Rajaonarivelo E, Rakotoarivony I.** Pression insecticide et adaptation des vecteurs (Colloque scientifique du centenaire de l'Institut Pasteur de Madagascar. Antananarivo, 3-4 novembre 1998). *Arch Inst Pasteur Madagascar* 1999; **65** : 22.