

Résurgence de la peste dans le district d'Ikongo à Madagascar en 1998.

2. Réservoirs et vecteurs impliqués.

J. M. Duplantier (1), J. B. Duchemin (2), M. Ratsitorahina (2), L. Rahalison (2) & S. Chanteau (2)

1. Institut de recherches pour le développement, (I.R. D.), Antananarivo, Madagascar

2. Institut Pasteur de Madagascar, Centre collaborateur OMS Peste, BP 1274, Antananarivo, Madagascar.

Auteur correspondant : Jean Marc Duplantier, CBGP, Campus international du Baillarguet, CS 30016, 34988 Montferrier sur Lez cedex.

Tel: (00 33) 4 99 62 33 02. E-mail duplant@ensam.inra.fr

Manuscrit n°2268. "Épidémiologie". Reçu le 2 janvier 2001. Accepté le 28 mars 2001.

Summary: Emergence of plague in the Ikongo district of Madagascar, 1998.
2. Reservoir and fleas involved.

Our survey of mammals and fleas arose as a result of an outbreak of bubonic plague at an usually low altitude in the Ikongo district (Madagascar), while a previous study had found anti-F1 antibodies in an endemic hedgehog. Animals were sampled with live traps in two hamlets (Antanambao-Vohidrotra, 540 m alt. and Ambalagoavy, 265m alt.) and with pitfall traps in a neighbouring forest (750 m alt.). Rat fleas were collected by brushing the fur and free-living fleas by use of light traps. The introduced shrew *Suncus murinus* was found only in the village of Ambalagoavy while the black rat (*Rattus rattus*) was found in all three sites and the only seropositive rat was caught at Antanambao-Vohidrotra. In contrast, among the Tenrecidae (endemic shrews and hedgehogs) found in the forest near the first village, four animals were found seropositive for anti-F1 antibodies. One of them was carrying the endemic flea *Paractenopsyllus pauliani*, not yet reported as a vector of plague. The endemic vector of plague, *Synopsyllus fonquerniei*, was found only in the first village of Antanambao-Vohidrotra, and the cosmopolitan flea *Xenopsylla cheopis* only in Ambalagoavy. Although no *Yersinia pestis* could be isolated and no F1-antigen could be detected in these animals, we found evidence of the recent transmission of plague in Antanambao-Vohidrotra and the nearby forest, but not in Ambalagoavy. These data corroborate with the sylvatic plague cycle hypothesis in Madagascar and its involvement in the outcome of the bubonic plague outbreak in this district.

Résumé :

Une enquête mammalo-entomologique a été réalisée à la suite de la survenue, à une altitude inhabituellement basse pour Madagascar, d'une épidémie de peste bubonique dans le district d'Ikongo et à la présence d'anticorps anti-F1 chez un hérisson endémique lors d'une précédente étude. Les micromammifères ont été échantillonnés dans deux villages, Antanambao-Vohidrotra (540 m alt.) et Ambalagoavy (265 m alt.) à l'aide de pièges grillagés et de pièges Sherman, et dans une forêt avoisinante (750 m alt.) en y ajoutant des trous-pièges. Les puces ont été récoltées par brossage et pièges à bougies. Les rendements de piégeage étaient faibles. Le rat noir (*Rattus rattus*) a été retrouvé dans les trois sites. Un rat était porteur d'anticorps anti-F1 à Antanambao-Vohidrotra, aucun à Ambalagoavy où coexiste la musaraigne introduite *Suncus murinus*. La forêt voisine du premier village a permis de capturer des Tenrecidae ("musaraignes" et "hérissons" endémiques) dont quatre exemplaires sont porteurs d'anticorps anti-F1. Une de ces espèces, *Microgale talazaci*, a été trouvée porteuse de *Paractenopsyllus pauliani*, puce endémique non encore impliquée dans le cycle pesteux. *Synopsyllus fonquerniei* est la seule espèce de puce pestigène retrouvée dans le premier village tandis que *Xenopsylla cheopis* n'existe qu'à Ambalagoavy. Bien que les essais d'isolement de *Yersinia pestis* et la recherche d'antigène F1 aient tous été négatifs, il semble bien que la peste ait circulé à Antanambao-Vohidrotra et dans la forêt mais pas à Ambalagoavy. Ces résultats confirment la circulation de la peste en milieu forestier et son implication dans la survenue de cette épidémie.

plague
réservoir
small mammal
flea
Ikongo
Madagascar
Indian Ocean

peste
réservoir
micromammifère
puce
Ikongo
Madagascar
Océan indien

Introduction

Mi-novembre 2000, les services centraux du ministère ont été alertés : une épidémie de peste s'était déclarée fin octobre 1998 dans le hameau de Antanambao-Vohidrotra, fokontany de Antsatrana, à 16 km au nord-ouest d'Ikongo. En décembre, une mission de la direction de lutte contre les

maladies transmissibles (DLMT du Ministère de la santé) et de l'Institut Pasteur de Madagascar (IPM) s'est rendue sur place pour évaluer la situation. En sus de l'enquête auprès de la population du village, nos collègues ont pu effectuer un prélèvement de sang sur un *Tenrec*, insectivore endémique capturé par les villageois : celui-ci s'est révélé positif en anticorps anti F1 de *Yersinia pestis* (8). À la suite de cette enquête,

nous avons effectué une campagne de piégeage des petits mammifères dans cette localité, afin de déterminer leur diversité et leur abondance, ainsi que celles de leurs ectoparasites. Des analyses sérologiques et bactériologiques ont été réalisées ensuite pour déterminer l'importance de la circulation de la peste chez ces rongeurs et insectivores.

Ce foyer présente du point de vue des réservoirs et des vecteurs deux aspects particuliers: il est situé d'une part en dessous de la limite altitudinale théorique de 800 m des foyers ruraux (2) et d'autre part en lisière inférieure de la forêt de l'est des Hauts Plateaux. Or, c'est en lisière supérieure de cette même forêt que nous avons découvert des insectivores endémiques porteurs de *Yersinia pestis* et, sur ces animaux, ainsi que sur des rats noirs (*Rattus rattus*) capturés en forêt, des espèces de puces encore non impliquées dans la transmission de la peste (4, 5). Ce foyer nous permet aussi de compléter les analyses déjà effectuées lors de missions communes avec le World Wild Funds en milieu forestier (6, 7).

Matériel et méthodes

La mission s'est déroulée du 12 avril au 22 avril 1999 dans la commune de Antsatsana, au nord-ouest d'Ikongo. Les deux hameaux concernés par l'épidémie ont été échantillonnés: Antanambao-Vohidrotra et Ambalavoavy, respectivement à 540 m et 265 m d'altitude.

Les captures de micromammifères

Dans le premier hameau, nous avons piégé dans trois milieux différents: les habitations, les cultures et la forêt située au-dessus du village. Dans les maisons, nous avons utilisé des pièges grillagés type BTS et des pièges Sherman (un de chaque type par maison), appâtés au poisson sec et à l'oignon. Les pièges ont été posés dans les vingt maisons du hameau ainsi que dans cinq habitations isolées au milieu des cultures et deux autres situées en bordure de la rivière (415 m), en contrebas du village. Dans les cultures, soit entre 504 et 630 mètres d'altitude, nous avons posé des lignes de vingt pièges identiques (soit BTS, soit Sherman) avec un espacement de dix mètres entre chaque piège. Les lignes, relevées chaque matin, sont restées en place durant trois nuits consécutives. Dans la forêt, entre 650 et 700 mètres, nous avons utilisé à la fois des lignes de pièges et deux lignes de onze "pitfalls" ou trous-pièges. Il s'agit de seaux enterrés, espacés de dix mètres; une bande plastique d'environ 50 cm de haut est tendue le long de cette ligne, en passant par le milieu de chaque seau; la base du plastique est recouverte de litière, le tout constituant ainsi une barrière devant guider les petits mammifères vers les seaux. Ces "pitfalls" sont restés en place durant six nuits consécutives.

A Ambalagoavy, nous avons effectué des piégeages dans dix maisons durant trois nuits et, en extérieur, une seule ligne de vingt pièges a été posée en bordure de rizière. L'abondance des petits mammifères a été estimée par le calcul du rendement des piégeages (nombre de captures/nombre de nuits-pièges x 100).

Collecte et analyse des tissus et des ectoparasites

Tous les animaux capturés ont été autopsiés. Immédiatement après la mort, ils ont été placés dans une bassine où ils ont été

brossés. Les puces isolées du pelage ont alors été récoltées à l'aide d'un aspirateur à poire, puis conservées en éthanol. La détermination a été réalisée ultérieurement au laboratoire sous microscope (x100). L'abondance des puces a été estimée par l'index pulicidien (nombre moyen de puces par rongeur analysé) et par le taux de rongeurs porteurs de puces.

Après prise des mensurations standards sur les rongeurs, nous avons procédé à des prélèvements de sang et d'organes. Le sang pris au cœur a été déposé sur des sérobuvids, pour la recherche d'anticorps IgG anti F1 (9). La rate a été prélevée et conservée en milieu de transport Cary-Blair en vue d'isolement de *Yersinia pestis* et de détection d'antigène F1 par la méthode ELISA immunocapture (3).

Dans le hameau de Antanambao-Vohidrotra, nous avons aussi utilisé des pièges à bougies pour capturer les puces libres à l'intérieur des maisons. Ces pièges sont constitués d'une assiette blanche remplie d'eau, au milieu de laquelle est fixée une bougie; celle-ci est allumée dès que tous les habitants sont couchés et toute autre lumière éteinte dans la pièce; elle se consume durant 5 à 6 heures. Les puces, attirées par la lumière, tombent dans l'eau et y sont piégées. Quinze pièges ont été disposés durant deux nuits consécutives dans quinze maisons différentes.

Résultats

Les micromammifères

Hameau d'Antanambao-Vohidrotra:

Cinq espèces ont été capturées dans cette localité (tableau I). Le rat noir (*Rattus rattus*) fut la seule espèce capturée dans les maisons et dans les cultures. Il était aussi présent en forêt où, par contre, dominaient les Tenrecidae (famille d'insectivores endémiques de Madagascar). Ceux-ci ont été représentés par deux *Microgale* (vicariants de musaraignes), un *Oryzoryctes* (vicariant des taupes) et un des "hérissons" endémiques, *Setifer setosus*. Les rendements de piégeages ont été faibles pour tous les milieux et toutes les espèces.

Tableau I.

Capture de micromammifères selon les milieux et les types de pièges dans le hameau d'Antanambao-Vohidrotra.
Capture of small mammals according to surroundings and type of traps in the hamlet of Antanambao-Vohidrotra.

milieu	type de pièges	nb de nuits-pièges	nb de captures	rendement du piégeage	nb de captures par espèce				
					<i>Rattus rattus</i>	<i>Microgale talazaci</i>	<i>Microgale fotsifotsy</i>	<i>Oryzoryctes hova</i>	<i>Setifer setosus</i>
maisons	BTS	79	7	8,9 %	7	0	0	0	0
	Sherman	79	5	6,3 %	5	0	0	0	0
cultures	BTS	286	6	2,1 %	6	0	0	0	0
	Sherman	39	1	2,6 %	1	0	0	0	0
forêt	BTS	60	1	0,2 %	1	0	0	0	0
	Sherman	60	1	0,2 %	1	0	0	0	0
	Pitfall	132	9	6,8 %	0	6	1	1	1
total			30		21	6	1	1	1

Hameau d'Ambalagoavy:

Seules deux espèces introduites ont été capturées (tableau II). Le rat noir dominait dans les maisons comme en extérieur. La musaraigne introduite, *Suncus murinus*, n'a été trouvée qu'en extérieur. L'abondance des rats noirs était ici nettement plus élevée que dans le hameau précédent.

Tableau II.

Capture de micromammifères selon les milieux et les types de pièges dans le hameau d'Ambalagoavy.
Capture of small mammals according to surroundings and type of traps in the hamlet of Ambalagoavy.

milieu	type de pièges	nb de nuits-pièges	nb de captures	rendement du piégeage	nb de captures par espèce	
					<i>Rattus rattus</i>	<i>Suncus murinus</i>
maisons	BTS	29	18	62,1 %	18	0
	Sherman	27	0	0,0 %	0	0
extérieur	BTS	118	11	9,3 %	8	3
total			29		26	3

Tableau III.

Abondance des différentes espèces de puces selon les localités, les milieux et les hôtes (* à l'exclusion des puces de poules: *Echidnophaga gallinacea*).
Abundance of different species of fleas according to locality, surroundings and hosts (except for chicken fleas: Echidnophaga gallinacea).

localité	milieu	espèces de micromam.	mammifères hôtes			nb d'individus porteurs de puces*					
			nb d'individus analysés	nb de porteurs de puces*	% de porteurs de puces*	nb total de puces*	X. cheopis	S. fonquerniei	Pa. pauliani	Pu. irritans	E. gallinacea
Antanambao Vohidrotra	maisons	R. rattus	12	1	8 %	1	0	1	0	0	5
		R. rattus	10	1	10 %	2	0	2	0	0	1
	extérieur	M. talazaci	4	1		4	0	0	4	0	0
		M. fotsifotsy	1	0		0	0	0	0	0	0
		O. hova	1	0		0	0	0	0	0	0
	S. setosus	1	0		0	0	0	0	0	0	
Ambalagoavy	maisons	R. rattus	18	12	67 %	70	70	0	0	0	3
	extérieur	R. rattus	8	4	50 %	10	9	0	0	1	1
		S. murinus	3	0		0	0	0	0	0	0

Les puces

Sur mammifères :

À Antanambao-Vohidrotra (tableau III), des puces dites de poule, *Echidnophaga gallinacea*, ont été trouvées sur des rats capturés dans la maison. En ce qui concerne les puces pestigènes, seules *Synopsyllus fonquerniei* (puce endémique) a été trouvée sur *R. rattus* et *Paractenopsyllus pauliani* (puce endémique également), sur un exemplaire de *Microgale talazaci*. Cette dernière espèce de puce, rarement capturée, n'est pas connue comme vecteur de peste.

À Ambalagoavy (tableau III), sur les rats capturés dans les maisons, nous avons trouvé *E. gallinacea* et *Xenopsylla cheopis* (puce pestigène de rat). Les mêmes espèces ont été identifiées sur les rats capturés en extérieur, ainsi qu'un exemplaire de *Pulex irritans* dite puce de l'homme.

Les puces libres :

Huit maisons sur quinze échantillonnées recelaient des puces libres. Deux *Ctenocephalides felis* ont été trouvées dans deux maisons et huit *P. irritans* dans sept maisons. Les deux espèces se trouvaient aussi bien dans des maisons du hameau que dans des maisons isolées au milieu des cultures. Nous n'avons noté qu'une capture impliquant les deux espèces dans la même maison.

Analyses sérologiques

La détection d'antigène F1 dans la rate s'est révélée négative pour tous les micromammifères. Par contre, cinq individus appartenant à trois espèces différentes (*R. rattus*, *M. talazaci* et *S. setosus*) se sont révélés séropositifs en anticorps IgG anti F1 à Antanambao-Vohidrotra (tableau IV), mais aucun à Ambalagoavy. Le rat noir positif provenait d'une maison isolée au milieu des cultures ; les quatre insectivores ont été capturés dans des trous-pièges (*pitfalls*) en forêt.

Tableau IV.

Prévalence en anticorps IgG anti F1 *Y. pestis* chez les micromammifères.
Prevalence of IgG and F1 Y. pestis antibodies in mammals.

localité	espèces	nb analysés	nb positifs	prévalence
Antanambao Vohidrotra	R. rattus	22	1	4,5 %
	M. talazaci	6	3	50 %
	M. fotsyfotsy	1	0	
	O. hova	1	0	
	S. setosus	1	1	
	total	31	5	16,1 %
Ambalagoavy	R. rattus	26	0	
	S. murinus	3	0	
	total	29	0	0 %

Analyses bactériologiques

Aucune souche de *Y. pestis* n'a été isolée tant à Antanambao-Vohidrotra qu'à Ambalagoavy sur les 60 petits mammifères analysés.

Discussion

La faible abondance des micromammifères à Antanambao-Vohidrotra confirme les observations des villageois ayant noté une très forte mortalité murine dans les semaines précédant l'épidémie humaine. Les traitements insecticides pratiqués dans le hameau après cette épidémie peuvent expliquer le faible nombre de puces que nous avons trouvées dans les maisons. Les sérologies positives notées chez les micromammifères vivant en forêt et dans les cultures montrent que la peste a bien circulé récemment parmi ceux-ci dans cette localité. On notera que deux espèces d'insectivores endémiques sont séropositives et même trois si l'on tient compte du hérisson (*Tenrec ecaudatus*) capturé lors de l'enquête épidémiologique de décembre 1998 (8). Ceci montre à l'évidence une forte circulation de la peste dans la forêt située juste au-dessus du village. L'un des *Microgale talazaci* séropositif était porteur de puces endémiques, *P. pauliani*, et non d'espèces classiquement impliquées dans la transmission de la peste, *X. cheopis* et *S. fonquerniei*. Il faut noter qu'il s'agit là de la première mention de la présence de cette puce chez un insectivore : lors des rares récoltes dont elle avait précédemment fait l'objet (1), elle n'avait été rencontrée que chez des rongeurs endémiques. Si des *Tenrec ecaudatus* et *Setifer setosus* ont déjà été trouvés séropositifs pour des anticorps anti-*Y. pestis*, c'est par contre la première mention pour *Microgale talazaci*. Tout ceci renforce les observations que nous avons faites dans la zone forestière d'Ambalamanakana, en limite supérieure de cette forêt de l'Est, au contact des cultures des Hautes terres, concernant la circulation de la peste en milieu forestier (4).

À Ambalagoavy, les rats noirs sont par contre très abondants dans les maisons mais aucun n'est séropositif. Ceci semble indiquer qu'il n'y a pas eu d'épizootie murine et que la peste n'a pas circulé dans la population des rongeurs de ce hameau. Ces résultats confortent ceux de l'enquête séroépidémiologique humaine qui concluait à une contamination des malades par des puces provenant du village d'Antanambao-Vohidrotra lors d'une cérémonie funéraire.

La puce endémique pestigène *S. fonquerniei*, caractéristique, bien qu'endémique, de rats noirs capturés à l'extérieur des maisons sur les Hautes terres, est bien présente à Antanambao-Vohidrotra (entre 540 et 630 mètres d'altitude), mais pas à Ambalagoavy (265m). Ceci montre une fois de plus que sa présence est très importante dans les foyers ruraux de peste. Par contre, cela remet en cause la limite inférieure de ces foyers. Les transects que nous avons réalisés du niveau de la mer au centre de l'île, tant sur la côte est que sur la côte ouest, ont montré l'absence de *S. fonquerniei* en dessous de la limite de 800 m d'altitude (données non publiées). Cette étude montre que, sur les pentes très fortes du versant est des Hauts Plateaux, cette limite théorique doit être nuancée.

De plus, à la faveur de déforestations pour mise en culture ("tavy"), des villages peuvent se retrouver brutalement au contact de zones forestières où la peste semble bien circuler chez des insectivores endémiques avec, comme vecteurs potentiels, d'autres espèces de puces. C'est exactement le cas du hameau d'Antanambao-Vohidrotra, abandonné par ses habitants après les événements de 1947. Ils s'étaient alors repliés plus bas dans la vallée, dans le village d'Ambalagoavy où tous les indicateurs sérologiques sont négatifs. C'est 4 ans après leur réinstallation dans leur hameau d'origine, au contact de la forêt, qu'a émergé une épidémie de peste bubonique.

Remerciements

Cette étude a été financée par l'Institut Pasteur de Madagascar, l'Institut de recherches pour le développement et le Gouvernement malgache (crédits Banque mondiale, Convention 01/95 IDA 2251-MAG). Nous tenons à remercier les autorités administratives (Autorisation de recherche n° 64 du 8 avril 1999) et le médecin-inspecteur d'Ikongo qui ont facilité notre mission. Nos remerciements vont aussi aux habitants d'Ambalagoavy et d'Antanambao-Vohidrotra pour leur hospitalité et leur aide dans le transport du matériel de terrain. Enfin cette mission n'aurait pu se faire sans l'aide technique de Fabien CHAN THIO HINE, Soanandrasana RAHELINIRINA et Ignace RAKOTOARIVONY.

Références bibliographiques

1. BEAUCOURNU JC & FONTENILLE F - Contribution à un catalogue des puces de Madagascar (Insecta, Siphonaptera). *Arch Inst Pasteur Madagascar*, 1993, **Ed. spéciale**, 48p.

2. BRYGOO ER - Epidémiologie de la peste à Madagascar. *Arch Inst Pasteur Madagascar*, 1966, **35**, 9-147.
3. CHANTEAU S, RABARIJAONA L, O'BRIEN T, RAHALISON L, HAGER J *et al.*- F1 antigenemia in bubonic plague patients, a marker of gravity and efficacy of therapy. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 1998, **92**, 572-573.
4. DUPLANTIER JM, DUCHEMIN JB, RAHALISON L & CHANTEAU S - Recherche de nouveaux réservoirs et vecteurs de la peste en milieu forestier dans la commune d'Ambalamanakana. Autorisation n° 211 du 02/12/98. *Rapport final Eaux et Forêts*, 2000.
5. DUPLANTIER JM, HANDSCHUMACHER P, DUCHEMIN JB, LAVENTURE S, RASOAMANANA B *et al.*- Conséquence des modifications de l'environnement sur le cycle de transmission de la peste à Madagascar. *Parasite*, 2001, n° spécial, (sous presse)
6. GOODMAN SM, DUPLANTIER JM, RAKOTOMALAZA PJ, RASELI-MANANA AP, RASOLOARISON R *et al.*- Inventaire biologique de la forêt d'Ankazomivady, Ambositra. *Akon'ny ala, Bull ESSA Forêts*, 1999, **24**, 19-32.
7. GOODMAN SM, RAKOTONDRAVONY D, RAHERILALAO MJ, RAKOTOMALALA D, RASELIMANANA AP *et al.*- Inventaire biologique de la forêt de Tsinjoarivo, Ambatolampy. *Akon'ny ala, Bulletin ESSA Forêts*, 2000, **27**, 18-27.
8. MIGLIANI R, RATSITORAHINA M, RAHALISON L, RAKOTOARIVONY I, DUCHEMIN JB *et al.*- Résurgence de la peste dans le district d'Ikongo à Madagascar en 1998. 1. Aspects épidémiologiques dans la population humaine. *Bull Soc Pathol Exot*, 2001, **94**, 115-118.
9. RASOAMANANA B, LEROY F, BOISIER P, RASOLOMAHARO M, BUCHY P *et al.*- Field evaluation of an immunoglobulin G anti-F1 enzyme linked immunosorbent assay for serodiagnostic of human plague in Madagascar. *Clin Diagn Lab Immunol*, 1997, **4**, 587-591.