

Effets de la lutte chimique sur le risque de la transmission du paludisme et de la résistance des vecteurs du paludisme aux insecticides au Mali

Moussa BM Cisse^{1,2*}, Ibrahim Traore¹, Abdourhamane Dicko³, Ousmane A Koita¹ et Amoro Coulibaly²

¹Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée, Université des Sciences Techniques et des Technologies de Bamako, Mali

²Institut Supérieur de Formation et de Recherche Appliquée de Katibougou, Koulikoro, Mali

³Programme Nationale de Lutte contre le Paludisme du Mali.

* Corresponding author's email address: moussa.cisse@ipr-ifra.edu.ml

RESUME: Le suivi entomologique ainsi que de surveillance de la résistance des vecteurs du paludisme aux insecticides sont des composantes essentielles de lutte contre le paludisme avec l'Aspersion Intra Domiciliaire et les Moustiquaires Imprégnées d'Insecticide à Longue durée d'Action (MILDA) au Mali. Cette étude a pour objectif d'évaluer les effets de l'AID avec le bendiocarbe et pyrimiphos méthyle sur les paramètres entomologiques de la transmission du paludisme et de surveiller le niveau de résistance des vecteurs du paludisme aux insecticides. L'évaluation entomologique de l'AID était réalisée 2012 à 2014, dans 6 sites traités et 3 sites témoins situés dans deux régions au Mali. La qualité des opérations d'aspersion ainsi que la rémanence d'insecticide sur les murs étaient évaluées avec les tests en cône. Des adultes de moustiques étaient collectés avant et après l'AID avec la capture au pyrèthre et sur appât humain. La proportion de moustique infectée par le parasite *Plasmodium falciparum* était déterminée par Enzyme-linked Immunosorbent Assay. La surveillance de la résistance des vecteurs aux insecticides était réalisée dans 13 sites de 2012 et 2014. Le niveau de résistance des populations d'*Anopheles gambiae* s.l aux insecticides était déterminé avec les tests en tube. L'identification des espèces d'*An. gambiae* s.l., de la mutation *kdr 1014F* et *ace 1R* étaient identifiées par polymérase en chaîne de réaction.

Mots clés: *An. gambiae* s.l, Aspersion Intra Domiciliaire, Moustiquaire Imprégnée d'Insecticide, résistance aux insecticides, risque d'inoculation.

I. INTRODUCTION

Certaines composantes de la stratégie mondiale pour prévenir le paludisme, telles que l'aspersion intra domiciliaire (AID) et les moustiquaires imprégnées d'insecticide à Longue durée d'Action (MILDA), sont en cours d'extension à travers l'Afrique. L'AID réduit la morbidité et la mortalité associées au paludisme [1 ; 2; et 3]. Le but de l'initiative du président des Etats Unis pour lutter contre le paludisme (President Malaria Initiative : PMI) à travers l'Agence des États-Unis pour le Développement International (USAID) est de contribuer à la réduction des décès liés au paludisme conformément aux recommandations de l'OMS dans 15 pays d'Afrique dont le Mali. USAID/PMI favorise l'utilisation intégrée de cinq composantes efficaces de prévention et de traitement du paludisme dans les populations les plus vulnérables à savoir : (i) les MILDA, (ii) l'AID avec des insecticides, (iii) le Traitement Préventif Intermittent pour les femmes enceintes, (iv) Chimio Prévention du Paludisme Saisonnier chez les enfants de moins de 5 ans, et (v) l'utilisation des combinaisons thérapeutiques à base d'arthémisinine pour les cas de paludisme diagnostiqués [4].

Face à ce regain d'intérêt pour la lutte contre le vecteur du paludisme au Mali à travers les MILDA et

l'AID, les études de suivi et d'évaluation entomologique ainsi que de surveillance de la résistance des vecteurs du paludisme aux insecticides sont indispensables pour la réussite de la lutte antivectorielle (LAV). L'objectif de cette étude d'évaluer l'effet de l'AID sur les paramètres entomologiques de la transmission du paludisme et de surveiller la résistance aux insecticides des vecteurs du paludisme.

II. METHODOLOGIE

2.1 Lieu et période d'étude

Le suivi et l'évaluation entomologique étaient réalisés dans les districts sanitaires de Koulikoro (traité) et Kati (témoin) dans la région de Koulikoro et dans les districts sanitaires de Bla, Baraouéli (traités) et Ségou (témoin) dans la région de Ségou (Figure 1). Les villages tests étaient choisis dans les districts traités tandis que les témoins étaient choisis dans les districts non traités. Le critère de choix des villages traités et témoins était basé sur leurs proximités, ils étaient séparés d'une distance de 10 à 20 Km à vol d'oiseau. De 2012 à 2014 (juin à décembre), l'évaluation de la qualité des opérations d'aspersion a été faite à J1 (1 jour après l'AID). La détermination de la rémanence a été faite dans les villages jusqu'à J60 (60 jours après l'AID) et J120 (120 jours après l'AID).

La surveillance de la résistance aux insecticides était réalisée dans 13 districts sanitaires repartis entre Bamako et les régions de Kayes, Koulikoro, Ségou, Sikasso et Mopti. Les districts étaient choisis sur la base des zones éco-climatiques, des faciès épidémiologiques et de l'utilisation des insecticides en santé publique et en agriculture (Figure 1). La collecte de moustiques et les bios essais ont été réalisés en saison des pluies entre novembre et décembre en 2012 et entre juillet et novembre en 2014.

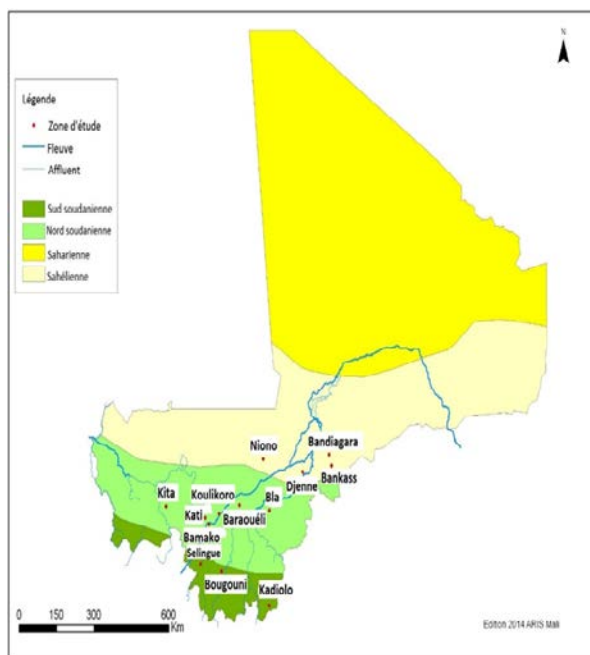


Figure 1 : Carte Eco-Climatique du Mali avec les localités d'étude [5]

2.2 Capture des moustiques

Les séances de capture des moustiques ont été réalisées à la fois dans les villages traités et témoins avant et après l'AID à J-7, J30, J60, J90 et J120. Les captures au pyréthre ont été réalisées entre 6h et 11h du matin dans 20 chambres par village (les chambres de capture étaient réparties uniformément dans chaque village) selon le protocole décrit par l'OMS [6]. Les séances de capture sur homme se déroulaient de 18 H à 06 H pendant 2 nuits et dans 2 chambres par village selon le protocole décrit par l'OMS [6].

2.3. Collecte des larves et élevage des moustiques

Les gîtes potentiels étaient visités. Les larves d'*An. gambiae* s.l. étaient prélevées en utilisant la technique de "louché", puis transportées à l'insectarium où elles étaient élevées jusqu'au stade adulte selon le protocole de Diop et al., [7].

2.4. Identification morphologique

Les moustiques adultes capturés et issus de l'élevage des larves sauvages ont été identifiés sur la base des

critères morphologiques et selon la clé de détermination de Diagne et al. [8].

2.5. Bio essais avec les cônes OMS

Les bio essais avec les cônes ont été effectués selon les procédures de l'OMS [9] dans 3 à 6 structures (en fonction du nombre de moustique) sélectionnées au hasard dans chaque village traité. La souche de terrain *An. gambiae* Baguinéda sensible au bendiocarbe a été utilisée en 2012 à défaut de la souche de laboratoire *An. gambiae* KISUMU sensible à tous les insecticides. Cependant la souche KISUMU a été utilisée en 2013 et 2014 comme référence durant les bio essais sur les murs.

2.6. Bio essais avec les tubes OMS

Les tests de sensibilité ont été réalisés avec le kit OMS pour moustiques adultes selon le protocole décrit par l'OMS [10]. Les tests en tube étaient réalisés avec des papiers filtres imprégnés des insecticides suivant les doses discriminantes: trois pyréthrinoides (PYs) [la perméthrine (0,75%), la deltaméthrine et la lambda-cyhalothrine (0,05%)], un organochloré (OC), le DDT (4%) un carbamate (CA), le benbiocarbe (0,01%) et deux organophosphorés (OPs), le fénitrothion (1%) et le pyrimiphos méthyle (0,25%).

2.7. Détection de la présence d'antigène sprozoïtique

Les têtes -thorax des espèces vectrices capturées sur appât humain ont été traitées par ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay) selon le protocole décrits par Beier [11] pour la présence d'antigène sprozoïtique.

2.8. Identification des espèces du complexe *An. gambiae* s.l.

L'identification d'*An. gambiae* s.l. était faite par Polymerase Chain Reaction (PCR) selon le protocole décrit par Scott et al. [12]. Les formes moléculaires M et S d'*An. gambiae* s.s. étaient également identifiées par PCR selon le protocole décrit par FAVIA et al. [13]. Actuellement sur la base des évidences issues des tests moléculaires et biochimiques *An. gambiae* forme moléculaire M est appelée *An. coluzzii* et *An. gambiae* forme S garde l'appellation *An. gambiae* s.s. [14].

2.9. Identification des mutations *kdr 1014F* et *ace1R*

La mutation *kdr 1014F* responsable de la résistance au DDT et aux PYs était identifiée par PCR selon le protocole décrit par MARTINEZ-TORRES et al [15]. La mutation *ace 1 R* responsable de la résistance aux OPs et CAs était également identifiée par PCR selon le protocole décrit par WEILL et al [16].

2.10. Analyse des données

2.10.1. Evaluation de la qualité des opérations d'aspersion et la détermination de la rémanence de l'insecticide

L'évaluation de la qualité des opérations d'aspersion et la détermination de la rémanence de l'insecticide ont été réalisées sur les murs traités avec les cônes (bio essais) selon le protocole décrits par l'OMS [9]. La qualité de l'aspersion et la rémanence étaient bonne si le taux de mortalité des moustiques utilisés pour les bio essais avec les cônes était supérieur à 80%.

2.10.2. Détermination des effets de l'AID sur les populations de vecteur majeur du paludisme

2.10.2.1. Détermination de la densité d'*An. gambiae* s.l.

La densité correspond au nombre moyen d'*An gambiae* s.l femelles par chambre. C'est le nombre total d'anophèles vecteur capturés divisé par le nombre de cases prospectées.

2.10.2.2. Détermination de l'indice d'antigène sporozoïtique

L'indice d'antigène sporozoïtique (IAS) correspond au pourcentage d'anophèles femelle d'une espèce donnée ayant des sporozoïtes dans leurs têtes et thorax.

2.10.2.3. Détermination du taux d'inoculation entomologique

Le taux d'inoculation entomologique (h), représente le nombre de piqûres infectantes reçues par homme et par unité de temps (nuit, mois ou année) était déterminé selon la formule de Mac-Donald [6].

2.11. Détermination du niveau de résistance aux insecticides

Les résultats des tests de résistance aux insecticides étaient classés selon les critères de classification de l'OMS [10]. Sensibilité si le taux de mortalité est supérieur à 98%, résistance possible si le taux de mortalité compris entre 90% et 97% et résistance si le taux de mortalité est inférieur à 90%.

2.12. Détermination de la fréquence des mutations *kdr 1014F* et *ace 1R*

Dans chaque population, le test d'Hardy Weinberg (H-W) et de différenciation des génotypes *kdr* et *ace.1 R* étaient appliqués pour calculer et comparer les fréquences alléliques.

2.13. Traitement des résultats

Le test de Man Whitney était utilisé pour comparer les densités moyennes des moustiques et le test Z pour la différenciation des proportions dans deux populations a été utilisé pour comparer les taux d'infection et de mortalité.

III. RESULTATS

3.1 Qualité des opérations d'aspersion

En 2012, le taux de mortalité à J1 était

supérieur à 80% dans les 3 districts, il était de 98,74% (n=159) à Koulikoro et 100,00% (n=102) à Baraouéli et 100,00% (n=98) à Bla. En 2013, le taux de mortalité à J1 était supérieur à 80% dans les trois districts, il était à 100,00% (n=137) à Koulikoro, 98,91% (n=92) à Baraouéli et de 99,03% (n=101) à Bla. En 2014, deux insecticides ont été utilisés, le bendiocarbe à Koulikoro et le pyrimiphos méthyle à Baraouéli et Bla. Le taux de mortalité à J1 était supérieur 80% dans les 3 districts, il était de 100,00% (n=186) à Koulikoro, 100,00% (n=195) à Baraouéli et 100,00% (n=190) à Bla.

3.2 Rémanence de l'insecticide

En 2012, le taux de mortalité à J30 était de 96,15% (n=157) à Koulikoro, 93,75% (n=96) à Baraouéli et 90,63% (n=96) à Bla. Mais, à J60 le taux de mortalité était inférieur à 80% dans les trois districts, il était de 44,59% (n=157), 31,37% (n=102) et 53,92% (n=102) respectivement à Koulikoro, Baraouéli et Bla (Figure 2).

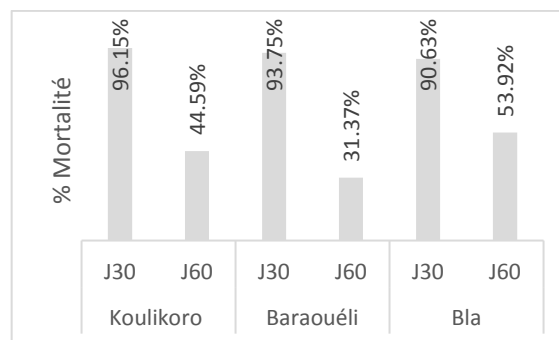


Figure 2: Taux de mortalité d'*An. gambiae* Baguinéda sur les murs traités au bendiocarbe à Koulikoro, Baraouéli et Bla en 2012.

En 2013, le taux de mortalité à J30 était de 93,94% (n=68) à Koulikoro, 46,67% (n=60) à Baraouéli et 59,02% (n=61) à Bla. A J60 le taux de mortalité était inférieur à 80% dans les trois districts, il était de 21,31% (n=61), 23,33% (n=60) et 28,03% (n=67) respectivement à Koulikoro, Baraouéli et Bla (Figure 3).

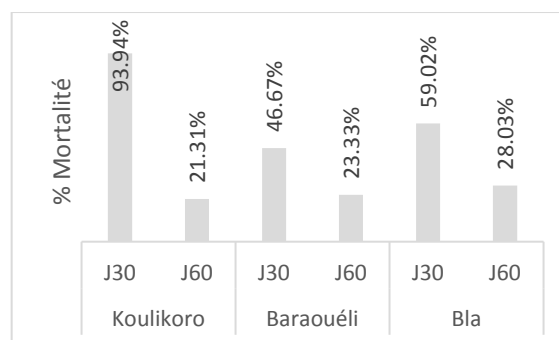


Figure 3: Taux de mortalité d'*An. gambiae* Kisumu à J30 et J60 sur les murs traités au bendiocarbe à Koulikoro, Baraouéli et Bla en 2013.

En 2014, le taux de mortalité à J30 était 95,42% (n=131) à Koulikoro, 99,21% (n=126) à Baraouéli et 88,30% (n=94) à Bla. A J60 le taux de mortalité était de 5,05% (n=99) à Koulikoro (<80%), il était de 89,51% (n=143) et 85,42% (n=96) respectivement à Baraouéli et Bla. A J90 le taux de mortalité était 81,63% (n=132) à Baraouéli et 80,00% (n=80) à Bla. A J120 le taux de mortalité était inférieur à 80%, il était de 70,59% (n=153) à Baraouéli et 70,83 (n=120) à Bla (Figure 4).

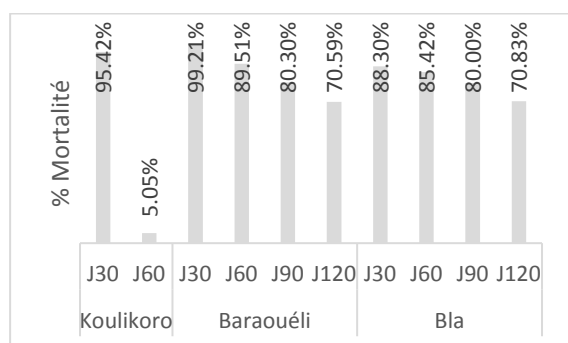


Figure 4: Taux de mortalité d'*An. gambiae* Kisumu sur les murs traités au bendiocarbe à Koulikoro et au pyrimiphos méthyle à Baraouéli et Bla en 2014.

3.3. Effet de l'AID sur *An. gambiae* s.l

3.3.1. Fréquence des vecteurs du paludisme

Un total de 12 681 anophèles a été identifié à Tienfala village traité à Koulikoro et à Baguinéda et Sala villages témoins à Kati de 2012 à 2014. *An. gambiae* s.l. était l'espèce prédominante avec une fréquence de 97,35% (n=12345), suivie d'*An. pharoensis* 2,04% (n=259), puis *An. funestus* et *An. zeimani* <1% (n=40). Un total de 1 289 anophèles a été identifié à Donabanida village traité à Bla et Dona à village témoin à Ségou de 2013 à 2014. *An. gambiae* s.l. était l'espèce prédominante avec une fréquence de 99,61% (n=1285), suivie d'*An. pharoensis* et *An. funestus* inférieur à 1% (n=4 et n=1).

3.3.2. Effet de l'AID sur la densité d'*An. gambiae* s.l.

En 2012, dans le village traité Tienfala la densité moyenne d'*An. gambiae* s.l. par chambre par jour était de 30,35 à J-7, elle a diminué de 14,80 et 7,58 fois respectivement à J30 et J60 comparée à J-7 ($p<0,05$). La densité moyenne était 77,80 à J-7 dans le village témoin Baguinéda, elle a diminué de 1,20 et 4,63 fois respectivement à J30 et J60 comparée à J-7 (Figure 2). En 2013, dans le village traité Baguinéda la densité moyenne d'*An. gambiae* s.l. par chambre par jour était de 8,05 à J-7, elle a diminué de 6,19 à J30, 3,28 à J60 et de 3,83 à J90 comparée à J-7 ($p<0,05$). Tandis que dans le village témoin Baguinéda la densité moyenne était de 47,15 à J-7, elle a augmenté 1,65 fois à J30 pour ensuite diminué de 4,60 à 5,12 fois respectivement à J60 et J90 comparée à J-7 (Figure 2). En 2014, dans le village traité Tienfala, la densité moyenne d'*An. gambiae* s.l.

par chambre par jour était 11,20 à J-7, elle a diminué de 6,40 fois à J30, 6,78 fois à J60 et 2,98 à J90 ($p<0,05$). Tandis que dans le village traité Sala la densité moyenne était de 6,25 à J-7, elle a diminué de 1,12 à 13,88 fois respectivement à J60 et J90 (Figure 2).

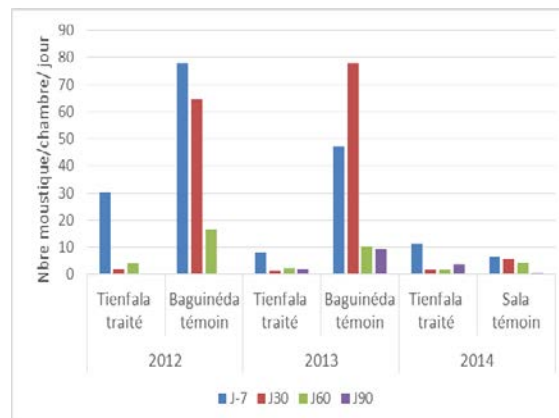


Figure 2: Densité d'*An. gambiae* s.l./chambre à Tienfala traité et à Baguinéda et Sala témoins de 2012 à 2014

En 2013, dans le village traité Donabanida la densité moyenne d'*An. gambiae* s.l. par chambre et par jour était de 17,70 à J-7, elle a diminué de 2,40 fois, 1,87 fois et 1,21 fois respectivement à J30, J60 et J90 comparée à J-7 ($p<0,05$). Dans le village témoin Dona la densité moyenne était de 10,05 à J-7, elle a augmenté 4,73 fois à J30 pour ensuite diminué de 1,97 à 2.21 fois respectivement à J60 et J90 comparée à J-7 (Figure 3). En 2014, dans le village traité Donabanida la densité moyenne d'*An. gambiae* s.l. par chambre et par jour était de 4,30 à J-7, elle a augmenté de 2,76 fois à J30 ($p<0,05$) puis diminué de 1,32 à 2 fois respectivement à J90 et J120. Dans le village témoin Dona la densité moyenne était de 17,45 à J-7, elle a augmenté de 4,04 fois à J30 ($p<0,05$) puis diminué de 1,16 fois, 2,62 fois et 3,63 fois respectivement à J60, J90 et J120 (Figure 3).

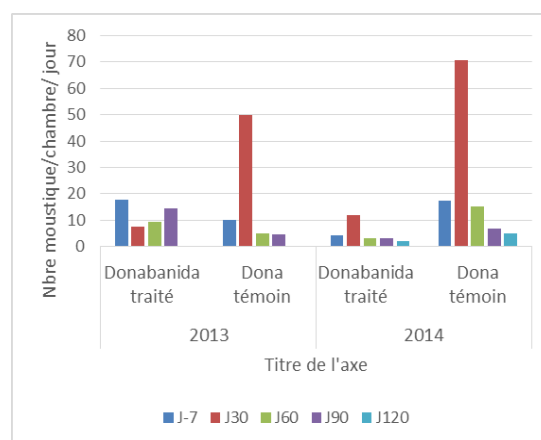


Figure 3: Densité d'*An. gambiae* s.l./chambre à Donabanida traité et Dona témoin de 2013 à 2014.

3.3.3. Effet de l'AID sur le taux d'inoculation entomologique d'*An. gambiae* s.l

En 2012, avant l'AID à J-7, le taux moyen d'inoculation entomologique TIE (nombre de piqûre infectante/homme/nuît) d'*An. gambiae* s.l. était < 1 piqûre infectante/homme/nuît à Tienfala village traité et de 3 piqûres infectantes/homme/nuît à Baguinéda village témoin. Après l'AID à J30 et J60 il était toujours < 1 piqûre infectante/homme/nuît dans le village traité cependant le TIE était 9 piqûres infectantes/homme/nuît dans le village témoin (Tableau 3). En 2013, avant l'AID à J-7 le TIE d'*An. gambiae* s.l. était de 1 piqûre infectante/homme/nuît à Tienfala village traité et à Baguinéda village témoin. Après l'AID à J30, J60 et J90 il était < 1 piqûre infectante/homme/nuît dans le village traité cependant le TIE était toujours de 1 piqûre infectante/homme/nuît dans le village témoin (Tableau 1). En 2014, avant l'AID à J-7 le TIE d'*An. gambiae* s.l. était de 1 piqûre infectante/homme/nuît à Tienfala village et de 3 piqûres infectantes/homme/nuît à Sala village témoin. Après l'AID à J30, J60 et J90 il était < 1 piqûre infectante/homme/nuît dans le village traité cependant le TIE était de 2 piqûres infectantes/homme/nuît dans le village témoin (Tableau 1).

Tableau 1. Taux d'inoculation entomologique d'*An. gambiae* s.l à Tienfala traité et Baguinéda/ Sala témoins de 2012 à 2014

Année	Village	Tienfala traité			Baguinéda/ Sala témoins			Variation traité vs témoin
		Taux de piqûre	IAS	TIE	Taux de piqûre	IAS	TIE	
2012	Avant AID	48	0	0	264	0,01	2,64	+ 2,64 fois
	Après AID	36	0,01	0,35	89	0,10	8,88	+ 25,37 fois
2013	Avant AID	30,13	0,02	0,60	97,38	0,01	0,97	+ 1,61 fois
	Après AID	49,58	0,01	0,49	147,63	0,01	1,47	+ 3,00 fois
2014	Avant AID	28,88	0,02	0,57	80,50	0,04	3,22	+ 5,64 fois
	Après AID	13,58	0,02	0,27	38,50	0,06	2,31	+ 8,55 fois

IAS : indice d'antigène sporozoïtique, TIE : taux d'inoculation entomologique, Avant AID : J-7, Après AID : J30, J60 et J90.

En 2013, après l'AID à J30, J60 et J90 le TIE d'*An. gambiae* s.l. était <1 piqûre infectante/homme/nuît à Donabanida village traité et à Dona village témoin (Tableau 4). En 2014, avant l'AID à J-7 le TIE d'*An. gambiae* s.l. était < 1 piqûre infectante/homme/nuît à Donabanida village teste et de 3 piqûres infectantes/homme/nuît à Dona village témoin. Après l'AID à J30, J60, J90 et J120 il était toujours < 1 piqûre infectante/homme/nuît dans le village traité ce pendant le TIE était de 2 piqûres infectantes/homme/nuît dans le village témoin (Tableau 2).

Tableau 2. Taux d'inoculation entomologique d'*An. gambiae* s.l à Donabanida traité et Dona témoin de 2013 à 2014

Année	Village	Donabanida traité			Dona témoin			Variation traité vs témoin
		Taux de piqûre	IAS	TIE	Taux de piqûre	IAS	TIE	
2013	Avant AID	--	--	--	--	--	--	--
	Après AID	8,83	0,02	0,18	11,75	0,04	0,47	+ 2,61 fois
2014	Avant AID	2,50	0,05	0,13	17,75	0,17	3,02	+ 23,23 fois
	Après AID	1,66	0,03	0,05	16,56	0,15	2,48	+ 49,60 fois

IAS : indice d'antigène sporozoïtique, TIE : taux d'inoculation entomologique, Avant AID : J-7, Après AID : J30, J60, J90 et J120.

3.4. Niveau de résistance aux insecticides

3.4.1. Niveau de résistance au DDT

En 2012, le taux de mortalité était inférieur à 50% dans 11 districts sur 13 à Koulikoro, Kati, Bamako, Bla, Baraouéli, Niono, Sélingué, Bougouni, Kadiolo, Djenné, et Bankass, il était compris entre 50% et 80% dans 2 districts sur 13 à Kita et Bandiagara (Tableau 5). En 2014, le taux de mortalité était inférieur à 30% dans les 13 districts testés (Tableau 3).

Tableau 3. Niveau de sensibilité d'*An. gambiae* s.l au DDT au Mali en 2012 et 2014

District	Organochloré DDT 4%						Comparaison 2012 vs 2014 P value
	2012			2014			
	Nb testé	% Mortalité	Sauts	Nb testé	% Mortalité	Sauts	
Kita	101	75,25	R	100	1,00	R	<0,0001
Koulikoro	95	11,53	R	104	3,85	R	0,065
Kati	96	16,67	R	100	1,00	R	<0,0001
Niono	104	44,23	R	103	4,85	R	<0,0001
Bla	99	48,48	R	101	5,94	R	<0,0001
Baraouéli	93	12,90	R	90	15,56	R	0,607
Bougouni	103	28,16	R	104	7,14	R	0,0002
Sélingué	103	23,30	R	100	13,00	R	0,057
Kadiolo	105	12,38	R	100	6,00	R	0,047
Bandiagara	105	76,19	R	100	14,00	R	<0,0001
Bankass	106	47,17	R	100	25,00	R	0,0009
Djenné	98	41,84	R	104	19,23	R	0,0004
Bamako CIV	98	18,37	R	100	7,00	R	0,016

Nb : nombre, R : résistance, CIV : Commune IV

3.4.2. Niveau de résistance aux pyréthrinoides

En 2012, c'est seulement à Bougouni où le taux de mortalité à la deltaméthrine était de 91%, le taux de mortalité était compris entre 50% et 80% à Bandiagara et inférieur à 50% à Djenné et Bankass (Tableau 4). Le taux de mortalité à la lamdacyalothrine était compris entre 50% et 75% Sélingué, Bla et Kita, et <50% à Koulikoro, Kati, Bamako, Baraouéli, Niono et Kadiolo (Tableau 4). En 2014, le taux de mortalité à la perméthrine était compris entre 50% et 75% à Bougouni, Sélingué et Bankass inférieur à 50% à Kita, Koulikoro, Kati, Niono, Bla, Baraouéli, Kadiolo, Bandiagara, Djenné et Bamako (Tableau 4). Le taux de mortalité à la deltaméthrine était compris entre 50 et 90% à Kita et Bougouni et inférieur à 50% à Koulikoro, Kati, Bamako, Bla, Baraouéli, Niono, Sélingué, Kadiolo, Djenné, Bandiagara et Bankass (Tableau 4). En 2012 à l'exception de Bougouni où il y avait une possible résistance à la deltaméthrine, les populations d'*An. gambiae* s.l. testées dans les autres districts de surveillance étaient résistantes à la deltaméthrine et la lamdacyalothrine. En 2014, les populations d'*An. gambiae* s.l. testées dans tous les districts de surveillance étaient résistantes à la perméthrine et à

la deltaméthrine.

Tableau 4. Niveau de résistance d'*An. gambiae* s.l. à la perméthrine, deltaméthrine et lamdacyhalothrine au Mali en 2012 et 2014.

District	Pyréthrinoides														
	Deltaméthrine									Lamdacyhalothrine			Perméthrine		
	2012			2014			Comparaison 2012 vs 2014			2012			2014		
	Nb testé	% Mortalité	Status	Nb testé	% Mortalité	Status	P-value	Nb testé	% Mortalité	Status	Nb testé	% Mortalité	Status		
Kita	--	--	n/a	99	63,64	R	n/a	100	74,00	R	102	18,81	R		
Koulikoro	--	--	n/a	104	15,38	R	n/a	98	13,27	R	102	5,88	R		
Kati	--	--	n/a	104	18,27	R	n/a	104	11,54	R	102	24,51	R		
Niono	--	--	n/a	97	42,27	R	n/a	101	32,67	R	103	16,68	R		
Bla	--	--	n/a	98	14,29	R	n/a	102	57,84	R	100	47,00	R		
Bananeï	--	--	n/a	100	31,00	R	n/a	100	33,00	R	102	25,49	R		
Bougouni	103	91,26	PR	100	76,53	R	0,665	--	--	n/a	100	66,20	R		
Sélingué	--	--	--	100	42,31	R	n/a	103	49,51	R	100	72,72	R		
Kadiolo	--	--	--	100	43,00	R	n/a	101	36,63	R	100	13,00	R		
Bandiagara	106	79,25	R	100	30,00	R	<0,0001	--	--	n/a	100	32,00	R		
Bankass	103	32,04	R	100	37,00	R	0,437	--	--	n/a	100	54,00	R		
Djenné	105	16,19	R	100	40,00	R	0,0001	--	--	n/a	101	26,79	R		
Bamako CIV	--	--	n/a	102	5,88	R	n/a	104	6,73	R	103	0,97	R		

Nb : nombre, R : résistance, PR : possible résistance, -- : pas de bio essais réalisés, n/a : ne s'applique pas, CIV : Commune IV

3.4.3. Niveau de résistance au fénitrothion et pyrimiphos méthyle

En 2012, le taux de mortalité au fénitrothion était >98% à Kita, Koulikoro, Kati, Bamako, Bla, Sélingué, Djenné, Bandiagara et Bankass. Cependant, à Baraouéli, Niono et Bougouni les taux de mortalité étaient compris entre 90% et 97%. Le taux de mortalité à Kadiolo était de (84 %) (Tableau 5). En 2014, le taux de mortalité au pyrimiphos méthyle était >98% dans tous les districts (Tableau 5).

Tableau 5. Niveau de résistance d'*An. gambiae* s.l. au fénitrothion et au pyrimiphos méthyle au Mali en 2012 et 2014

Zone	Organophosphorés					
	Fénitrothion			Pyrimiphos méthyle		
	2012			2014		
	Nb testé	% Mortalité	Status	Nb testé	% Mortalité	Status
Kita	100	99,00	S	100	99,00	S
Koulikoro	99	98,99	S	104	100,00	S
Kati	94	100,00	S	100	100,00	S
Niono	95	92,63	RP	101	99,01	S
Bla	119	98,32	S	102	100,00	S
Baraouéli	99	96,97	RP	101	100,00	S
Bougouni	104	97,12	RP	104	100,00	S
Sélingué	103	100,00	S	100	100,00	S
Kadiolo	100	84,00	R	100	100,00	S
Bandiagara	105	100,00	S	100	100,00	S
Bankass	105	100,00	S	103	100,00	S
Djenné	101	100,00	S	101	100,00	S
Bamako CIV	103	99,03	S	103	100,00	S

Nb : nombre, S : sensible, PR : possible résistance, CIV : Commune IV

3.4.4. Niveau de résistance au bendiocarbe

En 2012, le taux de mortalité au bendiocarbe était >98% à Koulikoro, Kati, Niono, Baraouéli, Sélingué, Djenné, Bandiagara, Bankass et Bamako CIV. Cependant, les populations d'*An. gambiae* s.l. dans 4 districts sur 13 (Kita, Bla, Bougouni et Kadiolo) avaient des taux de mortalité <90% (Tableau 6).

En 2014, le taux de mortalité au bendiocarbe était >98% à Koulikoro, Kati, Niono, Sélingué, Djenné, Bandiagara et Bankass. Cependant, dans 5 districts sur 13, les taux de mortalité étaient compris entre

90% et 97%. Il s'agit de Kita, Bamako CIV, Bla, Baraouéli et Kadiolo. A Bougouni le taux de mortalité était de 81% (Tableau 6).

Tableau 6. Niveau de résistance d'*An. gambiae* s.l. au bendiocarbe au Mali en 2012 et 2014.

Zone	Carbamate						
	Bendiocarbe						
	2012			2014			Comparaison n2012 vs 2014
	Nb testé	% Mortalité	Status	Nb testé	% Mortalité	Status	
Kita	96	66,00	R	99	94,95	RP	<0,0001
Koulikoro	96	97,92	S	104	100,00	S	0,139
Kati	104	100,00	S	104	100,00	S	1
Niono	103	100,00	S	100	100,00	S	1
Bla	102	88,24	R	101	94,06	RP	0,144
Baraouéli	90	97,78	S	100	97,00	RP	0,738
Bougouni	102	85,29	R	103	86,41	R	0,819
Sélingué	101	100,00	S	100	99,00	S	0,313
Kadiolo	103	77,67	R	100	92,00	RP	0,004
Bandiagara	104	100,00	S	100	100,00	S	1
Bankass	104	100,00	S	100	100,00	S	1
Djenné	103	100,00	S	104	99,04	S	0,318
Bamako CIV	104	100,00	S	102	96,08	RP	0,041

Nb : nombre, S : sensible, RP : résistance possible, R : résistance, CIV : Commune IV

3.5. Espèces du complexe *An. gambiae* s.l.

En 2012, un total de 1287 *An. gambiae* s.l. provenant des 13 districts de surveillance était analysé par PCR. Parmi les espèces cibles du complexe *An. gambiae* s.l., *An. coluzzii* (66,43%, n = 855) était le principal vecteur du paludisme suivi d'*An. gambiae* s.s. (21,91% n=282) et d'*An. arabiensis* (11,66%, n = 150). Il n'y avait pas d'hybride *An. coluzzii* et *gambiae*.

En 2014, un total de 606 *An. gambiae* s.l. provenant des 13 zones de surveillance étaient analysés par PCR. Parmi les membres du complexe *Gambiae*, *An. gambiae* s.s. (66,61%, n = 403) était le principal vecteur du paludisme suivi d'*An. coluzzii* (30,25% n=182), d'*An. arabiensis* (1,65%, n = 10) et d'hybride *An. coluzzii x gambiae* (1,65% n=10).

3.6. Mutations *kdr 1014F* et *ace1R*

3.6.1. Fréquence de la mutation *kdr-1014F* impliquée dans la résistance au DDT et PYS

En 2012, la mutation *kdr* était très répandue dans toutes les zones de surveillance. La fréquence allélique de cette mutation était de 71% chez *An. coluzzii* et *An. gambiae* s.s. et de 40% chez *An. arabiensis* (Tableau 7).

Tableau 7. Répartition des fréquences alléliques *kdr 1014F* au Mali de novembre à décembre 2012

District	<i>An. coluzzii</i>			<i>An. gambiae</i> s.s.			<i>An. arabiensis</i>					
	1014F			1014F			1014F					
	Génotype			Génotype			Génotype					
	RR	RS	SS	RR	RS	SS	RR	RS	SS			
Koulikoro	46	18	14	0,71	3	3	0	0,75	1	0	0	1,00
Baraouéli	9	5	2	0,72	34	9	15	0,66	10	1	3	0,75
Bla	22	12	14	0,58	8	3	5	0,59	13	7	11	0,53
Niono	16	16	8	0,60	17	8	5	0,70	7	6	5	0,56
Kita	2	7	10	0,29	5	4	12	0,33	0	3	43	0,03
Sélingué	59	22	2	0,84	3	1	0	0,88	--	--	--	n/a
Bougouni	22	4	3	0,83	47	10	8	0,80	--	--	--	n/a
Djenné	50	28	13	0,70	--	--	n/a	n/a	1	4	0	0,60
Kadiolo	28	8	3	0,82	38	9	4	0,83	0	1	0	0,50
Bandiagara	58	19	6	0,81	0	1	0	0,50	0	1	0	0,50
Bankass	38	21	16	0,65	2	1	1	0,63	4	3	3	0,55
Bamako	33	37	16	0,60	2	2	1	0,60	2	0	0	1,00
Baguinéda	63	21	12	0,77	--	--	n/a	n/a	--	--	--	n/a
Total	446	218	119	0,71	159	51	51	0,71	38	26	65	0,40

f(Kdr): Fréquence allélique kdr, n/a : ne s'applique pas, RR : Homozygote résistant, RS : Hétérozygote résistant, SS : Homozygote sensible

En 2014, la mutation *kdr 1014F* était toujours répandue dans tous les districts de surveillance. La fréquence allélique de cette mutation était de 82% chez *An. gambiae* s.s. 84% chez *An. coluzzii*, 70% chez l'hybride *An. coluzzii x gambiae* et de 30% chez *An. arabiensis* (Tableau 8). En 2012 et 2014, chez les vecteurs du paludisme la mutation *kdr 1014F* était observée à des fréquences très élevées non seulement dans les zones de distributions massives de MILDA couplées à la distribution de routine des MILDA mais aussi dans les zones AID, coton culture, riziculture et d'agriculture traditionnelle.

Tableau 8. Répartition des fréquences alléliques *kdr 1014F* au Mali de juillet à novembre 2014

District	<i>An. coluzzii</i>			<i>An. gambiae</i> s.s.			Hybride <i>An. coluzzii x gambiae</i>			<i>An. arabiensis</i>		
	1014F			1014F			1014F			1014F		
	Génotype			Génotype			Génotype			Génotype		
	RR	RS	SS	RR	RS	SS	RR	RS	SS	RR	RS	SS
Koulikoro	1	1	0	0,75	38	4	1	0,83	--	--	--	n/a
Kati	50	0	0	1	--	--	--	n/a	--	--	--	n/a
Baraouéli	3	0	0	1	42	3	1	0,94	--	--	--	n/a
Bla	0	2	0	0,5	15	19	2	0,68	1	0	0	1
Niono	32	14	3	0,79	0	1	0	0,5	--	--	--	n/a
Kita	--	--	--	n/a	42	6	1	0,91	1	0	0	1
Sélingué	22	6	1	0,86	0	3	1	0,75	1	0	0	1
Bougouni	--	--	--	n/a	37	5	1	0,91	1	1	0	0,75
Djenné	6	0	0	1	25	14	4	0,74	--	--	--	n/a
Kadiolo	--	--	--	n/a	41	3	4	0,88	1	0	0	1
Bandiagara	8	6	2	0,68	18	12	3	0,72	0	1	0	--
Bankass	5	3	3	0,59	8	10	8	0,5	0	1	1	0,75
Bamako	10	3	1	0,82	16	9	0	0,82	1	0	0	1
Total	137	35	10	0,84	288	89	26	0,82	6	2	2	0,70

f(Kdr): Fréquence allélique kdr, n/a : ne s'applique pas, RR : Homozygote résistant, RS : Hétérozygote résistant, SS : Homozygote sensible

3.6.2. Fréquence de la mutation ace 1R impliqué dans la résistance aux OPs et CAs

En 2012, la mutation *ace- 1R* a été observée à de faibles fréquences dans 4 districts Bla (zone AID), Kita, Bougouni et Kadiolo (zones de coton culture) avec une fréquence de 8% chez *An. coluzzii*, 13% chez *An. gambiae* s.s. et 2% chez *An. arabiensis* (Tableau 9).

Tableau 9. Répartition des fréquences alléliques *ace1R* d'*An. gambiae* s.l au Mali de novembre à décembre 2012

District	<i>An. Coluzzii</i>			<i>An. gambiae</i> s.s.			<i>An. arabiensis</i>					
	Génotype			Génotype			Génotypes					
	ace-1R			ace-1R			ace-1R					
	RR	RS	SS	RR	RS	SS	RR	RS	SS			
Bla	1	6	44	0,08	0	3	14	0,09	0	3	29	0,05
Kita	0	4	18	0,09	1	3	18	0,11	0	1	55	0,01
Bougouni	0	2	27	0,03	1	21	43	0,18	--	--	--	n/a
Kadiolo	1	6	34	0,10	1	10	47	0,10	0	0	1	0,00
Total	2	18	123	0,08	3	37	122	0,13	0	4	85	0,02

f(ace-1R): Fréquence allélique ace1R, n/a : ne s'applique pas, RR : Homozygote résistant, RS : Hétérozygote résistant, SS : Homozygote sensible

En 2014, la mutation *ace- 1R* était observée à de très faibles fréquences dans 2 districts Bla (zone AID), Kati (zones de riziculture et de culture maraichère) avec une fréquence inférieure à 1% chez *An. gambiae* s.s. et *An. coluzzii*. La mutation *ace1R* était absente chez l'hybride *coluzzii x gambiae* et *An. arabiensis* (Tableau 10). En 2014 et 2012, chez les vecteurs du paludisme la mutation *ace 1R* a été observée à des fréquences faibles non seulement dans un district AID mais aussi dans des zones de coton culture et de riziculture.

Tableau 10. Répartition des fréquences alléliques *ace1R* d'*An. gambiae* s.l au Mali de juillet à novembre 2014

District	<i>An. coluzzii</i>			<i>An. gambiae</i> s.s.			Hybride <i>coluzzii x gambiae</i>			<i>An. arabiensis</i>		
	Génotype			Génotype			Génotype			Génotype		
	ace-1R			ace-1R			ace-1R			ace-1R		
	RR	RS	SS	RR	RS	SS	RR	RS	SS	RR	RS	SS
Koulikoro	0	0	2	0	0	43	0	--	--	n/a	0	0
Kati	0	1	49	0,01	--	--	n/a	--	--	n/a	0	0
Baraouéli	0	0	3	0	0	46	0	--	--	n/a	0	0
Bla	0	0	2	0	0	33	0,04	0	0	1	0	0
Niono	0	0	49	0	0	1	0	--	--	n/a	--	--
Kita	0	0	1	0	0	49	0	0	0	1	0	--
Sélingué	0	0	29	0	0	10	0	0	0	1	0	--
Bougouni	--	--	--	n/a	0	43	0	0	0	2	0	0
Djenné	0	0	6	0	0	43	0	--	--	n/a	0	0
Kadiolo	--	--	--	n/a	0	48	0	0	0	1	0	--
Bandiagara	0	0	16	0	0	33	0	0	0	1	0	--
Bankass	0	0	11	0	0	26	0	0	0	2	0	0
Bamako	0	0	14	0	0	25	0	0	0	1	0	--
Total	0	1	182	0,002	0	3	400	0,003	0	10	0	0

f(ace-1R): Fréquence allélique ace1R, n/a : ne s'applique pas, RR : Homozygote résistant, RS : Hétérozygote résistant, SS : Homozygote sensible

IV. DISCUSSION

4.1. Qualité des opérations d'aspersion

Les résultats montrent que conformément aux recommandations de l'OMS, la qualité des opérations d'aspersion était bonne un jour après l'AID avec un taux de mortalité supérieur à 80% dans les trois districts. Des résultats similaires étaient observés dans d'autres pays du projet AIRS comme le Ghana, le Bénin, le Madagascar et le Sénégal [17].

4.2. Rémanence de l'insecticide

Conformément aux recommandations de l'OMS, la rémanence de l'insecticide est bonne si le taux de mortalité est supérieur à 80%. En 2013, la vie résiduelle du bendiocarbe était moins de 60 jours à Koulikoro tandis qu'elle était moins de 30 jours à Baraouéli et Bla, cela pourrait s'expliquer par une différence de la composition de matériaux de constructions. En général, la vie résiduelle (rémanence) du bendiocarbe était moins de 60 jours tandis que celle du pyrimiphos méthyle était de 90 jours sur les murs en banco. Des résultats similaires

étaient observés au Bénin, Sénégal et Libéria [17] et au Cameroun [18]. L'étude menée par Koita et al [19] au Mali a montré une vie résiduelle de plus de 60 jours du bendiocarbe sur les murs en ciment. La vie résiduelle courte du bendiocarbe pourrait s'expliquer par le fait que la majorité des murs se trouvant dans les zones traitées sont crépies avec du kaolin qui a un pH alcalin, il est décrit que les carbamates perdent leur efficacité dans ce genre de milieu. Il faut noter que dans d'autres pays du projet AIRS comme le Ghana, le Madagascar et la Tanzanie, la vie résiduelle du pyrimiphos méthyle dépasse les 210 jours. Ceci soulève la nécessité d'étudier les facteurs physicochimiques des eaux et des sols qui pourraient influencer la vie résiduelle de cet insecticide au Mali pour une meilleure utilisation du pyrimiphos méthyle dans l'AID.

4.3. Effet de l'AID sur *An. gambiae* s.l

4.3.1. Vecteurs du paludisme

An. gambiae s.l. était la plus fréquente dans les villages traités et témoins au Mali entre 2012 et 2014 en zone soudano – sahélien suivi d'*An. pharoensis*, *An. funestus* et *An. Zeimani*. D'après les résultats des études menées par Coulibaly [20] et Toure [21] *An. gambiae* s.l et *An. funestus* sont les vecteurs majeurs du paludisme au Mali. La composition de la population anophélienne était la même avant et après l'AID dans les sites traités. Ratovonjato et al [22] a trouvé des résultats similaires après l'AID au Madagascar. Par contre l'étude menée par Molineaux et al [23] au Nigeria a montré après l'AID avec le propoxure une diminution drastique de la fréquence d'*An. funestus* et *An. rufipes* au profit d'une augmentation de la fréquence d'*An. pharoensis*, ce changement de composition de la population anophélienne pourrait être associé à l'effet de l'AID ou du climat.

4.3.2. Effet de l'AID sur la densité d'*An. gambiae* s.l.

L'effet rémanent de l'insecticide sur la densité était examiné en fonction du temps. Nous avons utilisé deux types d'insecticide dans l'AID, le bendiocarbe de 2012 à 2013 et le pyrimiphos méthyle en 2014.

En saison des pluies (juillet à novembre) de 2012 à 2014, les pics de la densité d'*An. gambiae* s.l étaient observés en juillet avant l'AID dans les villages traités, tandis que dans les villages témoins les pics de la densité d'*An. gambiae* s.l étaient observés en juillet et août. Ces pics pourraient s'expliquer par une augmentation de la pluviométrie et une multiplication des gîtes larvaires d'anophèles dans les 2 types de village. D'après Fane en [24] la densité des anophèles est liée à la pluviométrie dans les zones exondées et au routage des eaux de pluies dans les zones inondées au Mali. Cependant l'absence de pic en août dans les villages traités pourrait être associée à l'effet de l'AID. Dans la période de haute transmission du paludisme (août à novembre) au Mali, la densité du

vecteur majeur *An. gambiae* s.l a considérablement diminuée pendant 60 à 90 jours (août à octobre) dans les villages traités avec le bendiocarbe (CA) et pendant cent vingt jours (août à novembre) dans les villages traités avec le pyrimiphos méthyle (OP) comparée aux villages témoins. La diminution de la densité dans les villages traités comparées aux villages témoins pourrait s'expliquer par l'effet de l'AID. Le prolongement de la période de diminution de la densité dans les villages traités avec le pyrimiphos méthyle comparés à ceux des villages pulvérisés avec le bendiocarbe pourraient s'expliquer par la longue rémanence du pyrimiphos méthyle ou par la pluviométrie. Une diminution de la densité était observée en novembre dans les villages témoins. Cette diminution pourrait s'expliquer par une diminution de la pluviométrie et des gîtes larvaires. Au Bénin suite à l'utilisation du bendiocarbe et du pyrimiphos méthyle EC en AID une diminution drastique de la densité d'*An. gambiae* s.l était observée par Akogbeto et al [25] et Aïkpon et al [26]. Au Nigeria, l'étude menée par Molineaux et al [23] a montré après l'AID avec le propoxure une diminution de 10% à 13% de la densité d'*An. gambiae* s.l.

4.3.3. Effet de l'AID sur le taux d'inoculation entomologique d'*An. gambiae* s.l.

Le taux moyen d'inoculation entomologique d'*An. gambiae* s.l., le principal indicateur pour évaluer l'impact de l'AID sur l'intensité de la transmission vectorielle du paludisme était 3 à 50 fois plus élevé dans les villages témoins (0,47 à 8,88 piqûres infectantes par homme par nuit) comparés aux villages traités (0,05 à 0,49 piqûre infectante par homme par nuit) après l'AID. Cette différence pourrait s'expliquer par l'effet bénéfique de l'AID. La différence la plus élevée était observée en 2014 dans le village traité avec le pyrimiphos méthyle ce qui démontre un meilleur impact de cet insecticide comparé au bendiocarbe dans la réduction du TIE. Dans nos villages traités après l'AID le TIE était 5 à 46 fois plus faible que ceux trouvés en saison des pluies par FANE [24] en zone inondée 2,32 piqûres infectantes par homme par nuit et en zone exondée 8,33 piqûres infectantes par homme par nuit non traité avec l'AID au centre du Mali. L'utilisation du bendiocarbe et du pyrimiphos méthyle en AID au Bénin a diminué fortement de 94,40% à 99,24% le TIE dans les villages traités comparé aux villages témoins [25 et 26]. Le DDT, la deltaméthrine et l'alpha cyperméthrine ont réduit de 3 fois le TIE au Madagascar [22]. Le pyrimiphos -méthyl s'est montré très efficace pour lutter contre *An. funestus* en réduisant de 38% l'incidence du paludisme au Zimbabwe [27].

4.4. Niveau de résistance aux insecticides d'*An. gambiae* s.l.

La surveillance de la résistance aux insecticides de 2012 et 2014 a permis de mettre à jour le statut de la

résistance. En 2009, la résistance au DDT, à la deltaméthrine et à la lamdacyalothrine était rapportée respectivement dans quatre (Niono, Kati, Bandiagara, et Bamako) trois (Kita, Bandiagara et Bamako) et six (Kita, Niono, Sélingué, Kati, Bandiagara et Bamako) districts sentinelles. Cependant, les vecteurs étaient sensibles au fénitrothion (OP) et au bendiocarbe (CA) dans ces districts testés [28].

En 2012 à part Bougouni, où il y avait une possible résistance à la deltaméthrine, les populations d'*An. gambiae* s.l. des 12 autres districts testés étaient résistantes au DDT, à la lamdacyalothrine et à la deltaméthrine. En 2014, elles étaient résistantes au DDT, à la perméthrine et à la deltaméthrine sur les 13 districts testés. De 2012 à 2014, le niveau de résistance aux PYs a considérablement augmenté et la résistance à la perméthrine était plus élevée que celle de la deltaméthrine. Ces résultats suggèrent une résistance croisée entre le DDT et les PYs probablement due à la mutation *kdr*. La résistance aux OPs a été observée dans un seul district sur 13 en 2012, par contre il n'y avait pas de résistance en 2014. En 2012 les populations d'*An. gambiae* s.l. de 4 districts sur 13 Kita, Bougouni, Kadiolo (zones de coton culture) et Bla (zone AID) étaient résistantes au bendiocarbe et en 2014, c'est uniquement celles de Bougouni qui étaient toujours résistantes. Une diminution de la sensibilité au bendiocarbe a été aussi observée à Bamako en 2014. La résistance aux CAs et OPs était observée pour la première fois en 2012 au Mali, cependant une diminution du niveau de cette résistance a été observée en 2014.

La pression de sélection des insecticides exercée sur les populations de vecteurs pourrait expliquer la propagation rapide de la résistance aux insecticides. Le DDT n'est plus officiellement utilisé au Mali, dans la santé publique et l'agriculture. Cette résistance serait due à une mutation acquise lors des premières campagnes d'éradication du paludisme dans les années 1960 en Afrique [29]. Cependant, la perméthrine et la deltaméthrine sont utilisées dans la lutte contre le vecteur du paludisme par le PNLP à travers la distribution de MILDA. La lamdacyalothrine et la deltaméthrine étaient utilisées dans l'AID à Koulikoro et Bla deux des treize districts sentinelles en 2008, 2009 et 2010. Le bendiocarbe était utilisé pour l'AID à Koulikoro, Baraouéli et Bla trois des treize districts sentinelles de 2011 à 2013. En 2014, Bla et Baraouéli étaient traités avec le pyrimiphos méthyle, tandis que Koulikoro était traité avec le bendiocarbe.

Toutes les classes d'insecticides utilisées en santé publique sont également utilisées dans l'agriculture, en particulier dans les zones de production de coton à Kita, Bougouni et Kadiolo, trois des treize districts sentinelles [30]. À cet égard, il faut noter que les populations d'*An. gambiae* s.l. étaient résistantes au bendiocarbe (CA) dans ces trois districts, au fénitrothion (OP) à Kadiolo, où ces insecticides n'étaient pas utilisés pour les activités de santé

publique, mais plutôt pour l'agriculture. L'utilisation intensive des insecticides pour lutter contre les ravageurs des cultures [31] peut contaminer les gîtes larvaires des moustiques, exerçant ainsi une pression de sélection importante et prolongée sur les populations larvaires d'anophèles. Un tel effet pourrait expliquer l'émergence de la résistance à certains insecticides dans les populations de vecteurs du paludisme avant qu'elles ne soient en contact de ces insecticides à travers les interventions de lutte anti vectorielle. L'émergence de la résistance dans les populations d'*An. gambiae* s.l. à des classes d'insecticides communément utilisés en santé publique a été rapporté dans d'autres pays d'Afrique, comme la Côte d'Ivoire [32], le Bénin [33], le Niger [34], le Burkina Faso [35], le Mali [36], le Nigeria [37], l'Afrique du Sud [38] et le Cameroun [39].

4.5. Espèces d'*An. gambiae* s.l. et mutations *kdr 1014F* et *ace1R*

La présente étude fournit des informations sur la fréquence et la répartition des mécanismes de résistance physiologique telle que la mutation *kdr 1014F*, probablement l'un des mécanismes les plus importants dans la résistance aux pyréthrinoïdes et au DDT. L'allèle *kdr 1014F* a été identifié pour la première fois chez *An. arabiensis* au Mali. Cet allèle a été précédemment rapporté du Mali chez *An. coluzzii*, *An. gambiae* s.s. et l'hybride *An. coluzzii* x *gambiae* [36]. Ces résultats sont similaires à ceux rapportés précédemment dans plusieurs autres pays africains qui ont indiqué une large dispersion de la mutation *kdr 1014F* chez les trois principales espèces du complexe *An. gambiae* s.l. Une étude récente menée au Mali par Norris et al. [40] a permis de déterminer la dynamique de la propagation de l'allèle de résistance aux insecticides à *An. coluzzii* à travers *An. gambiae* s.s. dans les zones d'exposition accrue aux insecticides avec des taux de couverture élevés des MILDA. Chez *An. arabiensis* la mutation *kdr 1014F* serait apparue par le biais d'un nouveau phénomène d'introgession [41].

L'augmentation de la pression de sélection aux PYs avec la couverture universelle en MILDA [42], les aérosols, l'AID et l'agriculture dans les trois districts AID pourrait être à la base de la forte fréquence de la mutation *kdr 1014F* chez *An. gambiae* s.l. Les résultats de l'étude menée par Czeher et al. [34] ont indiqué que la distribution à l'échelle nationale ou à grande échelle des MILDA a conduit à une augmentation de la fréquence des mutations *kdr 1014F* au Niger. Egalement, l'utilisation des PYs au niveau des ménages et dans les cultures maraichères était associée à une fréquence élevée de la mutation *kdr 1014F* au Mali [36].

L'allèle *ace-1R* qui confère une résistance aux OPs et CAs [43] était présent dans cinq districts (Kati, Bla, Kita, Bougouni et Kadiolo) à des fréquences plus faibles que celle du *kdr 1014F*. Les deux allèles résistants étaient simultanément

identifiés chez certaines populations de moustiques. Dans quatre districts (Kati, Kita, Bougouni et Kadiolo) les OPs et les CAs n'étaient pas utilisés dans la lutte anti vectorielle, par contre ces insecticides étaient couramment utilisés en agriculture [30]. La mise en œuvre de l'AID à Bla avec les CAs en 2011 et 2012 pourrait expliquer la présence de la mutation ace-1R observée dans ce site. Cependant, la présence de cette mutation dans les autres sites nécessite des études approfondies pour cartographier sa distribution et obtenir des informations en lien avec l'utilisation de pesticides pour l'agriculture. Bien vrai que les données ne nous permettent pas d'évaluer l'existence d'une association entre les mutations *kdr* et *ace-1R* et la résistance phénotypique, des études antérieures ont établi une association [44 et 45].

V. CONCLUSION

Les données sur le suivi entomologique de l'AID ont confirmé que *An. gambiae* s.l. et *An. funestus* sont les vecteurs majeurs du paludisme au Mali. L'AID semble avoir un impact dans la réduction de la densité, la longévité, le taux d'inoculation entomologique et le risque d'inoculation des vecteurs du paludisme. La qualité des opérations de pulvérisation était bonne et la vie résiduelle du bendiocarbe était moins de deux mois tandis que celle du pyrimiphos méthyle était de trois mois sur les murs en banco. Le pyrimiphos méthyle reste l'insecticide de choix pour l'AID au centre et au sud du Mali.

Les données de surveillance de la résistance des vecteurs du paludisme aux insecticides ont révélé une large distribution de la résistance au DDT et aux PYs dans la population d'*An. gambiae* s.l. au Mali. La résistance aux CAs et aux OPs était également détectée dans certains sites d'étude. Il a été également détecté de multiples mécanismes de résistance aux insecticides chez les populations d'*An. coluzzii*, *An. gambiae* s.s. et *An. arabiensis* au Mali. Les résultats soulignent l'importance de surveiller régulièrement la résistance pour assurer une mise à jour régulière des données en vue de permettre le déploiement rationnel des outils existants de lutte contre le paludisme au Mali.

ACKNOWLEDGMENT

A l'USAID/PMI pour le soutien financier. A Abt/AIRS Mali, au Programme National de Lutte contre le Paludisme et au LBMA pour le soutien technique.

REFERENCES

- [1] Payne D, Grab B, Fontaine RE, HempeL JH, 1976. Impact of control measures on malaria transmission and general mortality. *Bull World Health Organ* 54: 369 – 377.
- [2] Curtis CF, Mnzava AE, 2000. Comparison of house spraying and insecticide-treated nets for malaria control. *Bull World Health Organ* 78: 1389 – 1400.
- [3] Hamel M J, Otieno P, Bayoh N, Kariuki S, Were V, Marwanga D, Laserson K F, Williamson J, Slutsker L, and Gimnig J, 2011. The Combination of Indoor Residual Spraying and Insecticide-Treated Nets Provides Added Protection against Malaria Compared with Insecticide-Treated Nets Alone. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 85(6), pp. 1080–1086 doi:10.4269/ajtmh.2011.10-0684.
- [4] PMI, 2015. President Malaria Initiative. <http://www.pmi.gov/>
- [5] AIRS Mali, 2014. African Indoor Residual Spraying Mali. *Annual report*. 42p.
- [6] WHO, 2002. Entomologie du paludisme et contrôle des vecteurs : *Guide du stagiaire*. WHO/CDS/CPE/SMT/2002.18 Rev.1. Partie 1.
- [7] Diop A., Faye O, Molez J, 1998. Mise en place en insectarium d'une souche d'*Anopheles arabiensis* (Diptera : Culecidae). *Manucrit < entomologie médicale>*. 1: 4.
- [8] Diagne N, Fontenille D, Konate L, Faye O, Lamazana MT et al., 1994.- Les anophèles du Sénégal. Liste commentée et illustrée. *Bull Soc Pathol Exot*, 87, 267-277.
- [9] WHO, 2006. Guidelines for testing mosquito adulticides for Indoor Residual Spraying and treatment of mosquito nets. *WHO/CDS/NTD/WHOPES/GCDPP/2006.3*.
- [10] WHO, 2013. Test procedures for insecticide resistance monitoring in malaria vectors mosquitoes. *Geneva, World Health Organization*.
- [11] Beier JC, 2002. Vector Incrimination and Entomological Inoculation Rates: Malaria Methods and Protocols. *Methods in Molecular Medicine*, Vol. 72, I, 3-11, DOI: 10.1385/1-59259-271-6:01.
- [12] Scott JA, Brogdon WG, Collins FH, 1993. Identification of single specimens of the *Anopheles gambiae* complex by the polymerase chain reaction. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 49: 520–529.
- [13] Favia G, Lanfrancotti A, Spanos L, Siden-Kiamos I, Louis C. 2001. Molecular characterization of ribosomal DNA polymorphisms discriminating among chromosomal forms of *Anopheles gambiae* s.s. *Insect Mol Biol.* 10(1): 19-23.
- [14] Coetzee M, Hunt R.H, Wilkerson R, Della Torre A, Coulibaly M.B, Besansky N.J, 2013. *Anopheles coluzzii* and *Anopheles amharicus*, new members of the *Anopheles gambiae* complex. *Zootaxa* ; 3619 (3): 246–274.
- [15] Martinez-Torres D, Chandre F, Williamson M.S, Darriet F, Berge J.B, Devonshire A.L., Guillet P, Pasteur N, Pauron D, 1998. Molecular characterization of pyrethroid knockdown resistance (*kdr*) in the major malaria vector *Anopheles gambiae* s.s. *Insect Mol. Biol.* 7: 179–184
- [16] Weill M, Malcolm C, Chandre F, Mogensen K, Berthomieu A, Marquine M, Raymond M, 2003. The unique mutation in *ace-1* giving high insecticide resistance is easily detectable in mosquito vectors. *Insect Mol. Biol.* 13, 1–7.
- [17] PMI, 2014. President Malaria Initiative. *Report*. <http://www.pmi.gov/>
- [18] Etang J, Nwane P, Mbida J.A, Pameu M, Manga B, Souop D and Awono-Ambene P, 2011. Variations of insecticide residual bio-efficacy on different types of walls: results from a community-based trial in south Cameroon. *Malar J.* 10:333

- [19] Koita O.A., Cisse M, Sangare L, Simaga D, Traore S, Sidibe H, Traore K, 2009. Test d'efficacité du K-OTRINE Wg 250 et du FICAM VC en pulvérisation intra domiciliaire dans la lutte contre les vecteurs du paludisme dans le District de Bamako, Mali. *Rapport d'activité*, PNLP/LBMA. 24p.
- [20] Coulibaly A, 1985. Etude des variations saisonnières des fréquences de membres du complexe *An. gambiae* à Banambani et Selinkenye; Mali. *Thèse de Doctorat*, ISFRA. P : 82. Bamako-Mali.
- [21] Touré Y, V. Petrarca, S. F. Traore, A. Coulibaly, H. M. Maïga, O. Sankare, M. Sow, M. A. Di Deco, and M. Coluzzi, 1998. The distribution and inversion polymorphism of chromosomally recognized taxa of the *Anopheles gambiae* complex in Mali, West Africa. *Parassitologia* 40 (4):477-511.
- [22] Ratovonjato J, Randrianarivoelosia M, Rakotondrainibe ME, Raharimanga V, Andrianaivolambo L, LE Goff G, Rogier C, Ariey F, Boyer S, Robert V, 2014. Entomological and parasitological impacts of indoor residual spraying with DDT, alphacypermethrin and deltamethrin in the western foothill area of Madagascar. *Malar J.* 13:21. doi: 10.1186/1475-2875-13-21.
- [23] Molineaux L, Shidrawi G. R, Clarke J. L, Boulzaguet R, Ashkar T and Dietz K, 1976. The impact of propoxur on *Anopheles gambiae* s.l. and some other anopheline populations, and its relationship with some pre-spraying variables. *Bull. World Health Organ.* Vol. 54 : 379-389.
- [24] Fane, M, 2011. Impact du climat sur l'écologie et la transmission du paludisme : analyse du risque palustre dans le septentrion malien. *Médecine humaine et pathologie*. Université de Grenoble. Français. <NNT : 2011GRENS042>. <tel-01178824>
- [25] Akogbeto M, Padonou G.G, Bankole H.S, Gazard D.K, Gbedjissi G.L, 2011. Dramatic decrease in malaria transmission after large-scale indoor residual spraying with bendiocarb in Benin, an area of high resistance of *Anopheles gambiae* to pyrethroids. *Am J Trop Med Hyg.* 85(4):586-93.
- [26] Aikpon R, Agossa F, Osse R, Oussou O, Aizoun N, Oke-Agbo F, Akogbeto M, 2013. Bendiocarb resistance in *Anopheles gambiae* s.l. populations from Atacora department in Benin, West Africa: a threat for malaria vector control. *Parasit Vectors.* 6:192.
- [27] Kanyangara M, Mamini E, Mharakurwa S, Munyati S, Gwanzura L, Kobayashi T, Shields T, Mullany LC, Mutambu S, Mason PR, Curriero FC, Moss WJ, 2016. Reduction in Malaria Incidence following Indoor Residual Spraying with Actellic 300 CS in a Setting with Pyrethroid Resistance: Mutasa District, Zimbabwe. *PLoS One.* 28;11(3).
- [28] Traore S, 2014. Evaluation de la résistance des vecteurs aux insecticides et établissement du profil entomologique du Mali pour une meilleure planification de la lutte contre le paludisme. *Thèse de Doctorat*. USTTB du Mali. P 135
- [29] Joncour, G, 1959. Lutte anti-palustre au Dohomey. *Rapport n°13*. Ministère de la santé public. 10p.
- [30] CMDT, 2016. *Note Technique d'utilisation des insecticides*. Compagnie Malienne de Développement Textile. 2p.
- [31] Dinham, B, 2003. Growing vegetables in developing countries for local urban populations and export markets: problems confronting small-scale producers. *Pest Manag. Sci.* 59: 575-582
- [32] Elissa, N, Mouchet J, Riviere F, Meunier Y, Kra Tao, 1993. Resistance of *Anopheles gambiae* to pyrethroids in Ivory Coast – *Annual Society of Belgium Medicine Tropical.* 73: 291-294.
- [33] Corbel V, N'Guessan R, Brengues C, Chandre F, Djogbénou L, Martin T, Akogbeto M, , Hougard J.M, Rowland M, 2007. Multiple insecticide resistance mechanisms in *Anopheles gambiae* and *Culex quinquefasciatus* from Benin, West Africa. *Acta Tropica.* 101: 207-216.
- [34] Czeher C, Labbo R, Arzika I, Duchemin J, 2008. Evidence of increasing *Leu-Phe* knockdown resistance mutation in *Anopheles gambiae* from Niger following a nationwide long-lasting insecticide-treated nets implementation. *Malar J.* 7:189
- [35] Diabate A, Baldet T, Chandre F, Guigumde TR, Guillet P, Hemingway J, Hougard JM, 2002. First report of the *kdr* mutation in *Anopheles gambiae* M form from Burkina Faso, West Africa. *Parassitologia.* 44: 157-158.
- [36] Fanello, C., Petrarca V, Della torre A., Santolamazza F, allouche A, Curtis CF, Touré YT, Coluzzi M, 2003. The pyrethroid knock-down resistance gene in the *Anopheles gambiae* complex in Mali and further evidence of reproductive isolation within *An. gambiae* s.s. *Insect Molecular Biology.* 12: 241-245.
- [37] Awolola TS, Brooke BD, Koekemoer LL, Coetzee M, 2002. Resistance of the malaria vector *Anopheles gambiae* s.s. to pyrethroid insecticides, in southwestern Nigeria. *Ann Trop Med Parasitol.* 96: 849-852.
- [38] Hargreaves K, Koekemoer LL, Brooke BD , Hunt RH , Mthembu J , Coetzee M, 2000. *Anopheles funestus* resistant to pyrethroid insecticides in South Africa. *Med Vet Entomol.* 14: 181 – 189.
- [39] Etang, J; Manga, L, 2003. Insecticide susceptibility status of *Anopheles gambiae* s.l. (Diptera: Culicidae) in the Republic of Cameroon. *J Med Entomol.* 40(4): 491-497.
- [40] Norris LC, Main BJ, Lee Y, Collier TC, Fofana A, Cornel AJ, Lanzaro GC, 2015. Adaptive Introgression in an African malaria mosquito coincident with the increased usage of insecticide-treated bed nets. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 112 :815-20
- [41] Diabate A, Brengues C, Baldet T, Dabire KR, Hougard JM, Akogbeto M, Kengne P, Simard F, guillet P, Hemingway J, Chandre F, 2004. The spread of the *Leu-Phe kdr* mutation through *Anopheles gambiae* complex in Burkina Faso: genetic introgression and de novo phenomena. *Trop Med Int Health.* 9: 1267-1273.
- [42] SILS, 2014. Système Local d'Information Sanitaire. *Annuaire*.
- [43] IRAC, 2011. Prevention and Management of Insecticide Resistance in Vectors of Public Health Importance. *The Insecticide Resistance Action Committee (IRAC)*.
- [44] Ndiath MO, Sougoufara S, Gaye A, Mazonot C, Konate L, Faye O, Sokhna C, Trape JF, 2012. Resistance to DDT and Pyrethroids and increased *kdr* mutation frequency in *An. gambiae* after the implementation of permethrin-treated nets in Senegal. *PLoS One.* 7:e31943.
- [45] KABULA B, KISINZA W, TUNGU P, NDEGE C, BATENGANA B, KOLLO D, MALIMA R, KAFUKO J, MOHAMED M, MAGESA S, 2014. Co-occurrence and distribution of East (*L1014S*) and West (*L1014F*) African knock down resistance in *Anopheles gambiae sensu lato* population in Tanzania. *Trop Med Int Health.* 19:331-41