MASTER
BIODIVERSITÉ- ECOLOGIE- EVOLUTION
PARCOURS EPI
Emergence des Maladies Parasitaires et Infectieuses

MÉMOIRE DE STAGE DE FIN D'ETUDE

Écologie vectorielle d'*Aedes aegypti* à La Réunion : vers le développement d'un modèle de capacité vectorielle pour la dengue

Présenté par

Raphaëlle HOARAU

Réalisé sous la direction de : Jérémy Bouyer, Thierry Baldet et Louis-Clément Gouagna
Laboratoire/Organisme : CIRAD UMR ASTRE/ MIVEGEC UM-IRD-CNRS
Période du stage : 18 Janvier au 14 Juillet 2021

Année universitaire 2020-2021

Remerciements

Avant de commencer le développement de cette expérience professionnelle, il me parait tout naturel de remercier les personnes qui m'ont permis d'effectuer ce travail ainsi que ceux qui m'ont permis d'en faire un moment agréable et profitable.

Je remercie donc mon maître de stage Clément GOUAGNA, chercheur à l'IRD UMR MIVEGEC de m'avoir fait confiance, grâce à quoi j'ai pu m'accomplir totalement dans mes missions. Je voudrais aussi remercier mon tuteur Jérémy BOUYER, de l'UMR ASTRE CIRAD, pour son accueil, le temps passé ensemble, le partage de son expertise au quotidien, son aide notamment pour la partie statistique et sa disponibilité. Merci également aux co-tuteurs qui m'encadraient (Thierry BALDET de l'UMR ASTRE au Cirad, Christophe PAUPY de l'UMR MIVEGEC de l'IRD et Annelise TRAN de l'UMR Tetis au Cirad) grâce à qui j'ai pu explorer divers sujets, qui étaient, pour la plupart nouveaux pour moi.
Je tiens à remercier le reste de l'équipe du projet REVOLINC, notamment les assistants ingénieurs de l'IRD, qui ont permis la réalisation des différents protocoles de cette étude. Je pense particulièrement au travail de nuit que Ronan BROUAZIN a accepté d'effectuer en ma compagnie.
Merci aussi à Olivia BALEYA, stagiaire dans l'unité TETIS avec qui j'ai échangé de nombreuses heures à propos de modélisation.

Aussi, j'aimerai remercier l'équipe pédagogique du master B2E EPI, qui a été très à l'écoute et réactive au moindre mail lors du stage, mais aussi en général lors de ces deux années de master. Merci également à la promotion EPI 2019-2021, auprès de qui j'ai passé deux merveilleuses années.

Ensuite, je voudrais exprimer ma reconnaissance envers mes collègues/amies stagiaires Adeline MOYNIER et Chloé CORBANINI sans qui ce stage n'aurait pas été le même ! Merci pour cette joie de vivre que vous dégagez qui rendait les journées des plus agréables à vos côtés malgré la charge de travail conséquente que nous avions toutes, et l'ambiance parfois tendue à laquelle nous devions faire face. Merci pour ces fous rires, pour ces pauses café, pour le soutien dont vous avez fait preuve dans les moments difficiles et votre aide pour mes protocoles. Une pensée également à Jessica Win Chin, qui n'a pas bronché alors que nous étions trois sur les deux bureaux accolés au sien !
Merci à Manon MORIN et Océane DIJOUX pour les pauses méridiennes pleines de bonne humeur !
Je n'oublie pas non plus les stagiaires des « cases », qui m'ont soutenu et rappelé les joies de la colocation.

Enfin je remercie spécialement Angélique HOARAU, celle qui a su, encore une fois, prendre du temps pour me relire et me conseiller sur la forme de mon rapport.

Résumé et mots-clés

La dengue est une arbovirose causée par le Flavivirus DENV et transmise par les moustiques du genre *Aedes*. C'est une infection qui peut être asymptomatique, mais qui peut aussi présenter des formes sévères. A La Réunion, île française située dans l'Océan Indien, une épidémie perdure depuis 2017 et les formes sévères sont de plus en plus nombreuses. Depuis le début de l'année 2021, 18 161 cas ont été confirmés et 462 hospitalisations dont 97 formes sévères, incluant 17 décès, ont été notés. Du fait de l'impossibilité d'utiliser le vaccin en zone endémique et de l'absence de traitement, la dengue représente un enjeu de santé public majeur. La solution contre cette maladie reste la Lutte Antivectorielle (LAV).

Cette analyse cherche donc à comprendre et à faire un état des lieux de l'écologie vectorielle et évaluer la capacité vectorielle d'*Aedes aegypti*, pour *in fine* adapter au mieux les mesures de LAV. Elle s'insère dans le projet REVOLINC qui vise à tester une nouvelle technique de LAV : la Technique de l'Insecte stérile (TIS), ici renforcée. Ce projet vise à éliminer de manière locale les populations d'*Aedes aegypti* au sud de l'île dans la commune de St Joseph. Deux sites ont été étudiés : l'embouchure de la rivière Langevin et la ravine du Chemin Damour.

Cette étude a porté, dans un premier temps, sur l'examen des *Pandanus*, un arbre dont l'implémentation des feuilles permet la retenue de l'eau et en fait des gîtes larvaires. Un suivi longitudinal larvaire a permis d'estimer qu'il y a en moyenne 15 larves d'*Ae. aegypti* par arbre à un instant t. Ce chiffre correspond à un total de 239 598 larves d'*Ae. aegypti* au site de Langevin et 107 967 pour la ravine du Chemin Damour. Aussi, les données d'un suivi longitudinal adulte, réalisé grâce à la pose de piège BG-Sentinel, ont été récoltés.

Ces chiffres ont été confrontés aux données de sortie du modèle Arbocarto, utilisé pour simuler les densités et les abondances des moustiques de cette espèce. Ce dernier a été partiellement validé malgré de nombreuses surestimations, notamment de la densité de *Pandanus*.

Ensuite, quelques paramètres de l'écologie vectorielle ont été étudié : l'origine des repas de sang a été pris en considération. Les femelles gorgées ont été capturées grâce à un fauchage de la végétation. Aucune femelle gorgée *Ae. aegypti* n'a été trouvée, ce qui prouve que l'emplacement des gîtes de repos de cette espèce n'est pas encore connu.

Enfin, le rythme d'activité des moustiques *Aedes aegypti* a été étudié sur 48 heures et a permis de démontrer un pic unique d'activité aux alentours de 14 heures, ce qui contredit les autres études expliquant leur rythme de vie principalement diurne et bimodal.

Cette étude informe donc sur l'écologie de l'espèce peu connue qu'est *Ae. aegypti* à La Réunion. Cette espèce vectrice d'arboviroses doit être mieux étudiée et comprise afin de lutter contre cette dernière. Il est donc envisagé que le modèle soit utilisé au mieux pour éliminer les populations de moustiques.

Mots clés : *Aedes aegypti*, dengue, écologie vectorielle, capacité vectorielle, La Réunion, *Pandanus*, préférence trophique, rythme d'activité.

Abstract and key words

Dengue is an arbovirosis caused by the Flavivirus DENV and transmitted by mosquitoes of the genus *Aedes*. It is an infection that can be asymptomatic, but can also present severe forms. In Reunion Island, a French island located in the Indian Ocean, an epidemic has been ongoing since 2017 and severe forms are increasingly numerous. Since the beginning of the year 2021, 18,161 cases have been confirmed and 462 hospitalizations, including 97 severe forms and 17 deaths, have been noted. Due to the impossibility of using the vaccine in endemic areas and the absence of treatment, dengue represents a major public health issue. The solution to this disease remains Vector Control (VC).

This analysis seeks to understand and assess the vector ecology and the vectorial capacity of *Aedes aegypti*, in order to better adapt VC measures. It is part of the REVOLINC project, which aims to test a new VC technique: the Sterile Insect Technique (SIT), here reinforced. This project aims to eliminate locally the populations of *Aedes aegypti* in the south of the island in the commune of St Joseph. Two sites were studied: the mouth of the Langevin River and the Chemin Damour gully.

This study focused, in the first instance, on the examination of *Pandanus*, a tree whose leaves are implanted in such a way as to retain water and thus provide larval habitats. Longitudinal larval monitoring allowed us to estimate that there are on average 15 *Ae. aegypti* larvae per tree at a given time. This figure corresponds to a total of 239,598 *Ae. aegypti* larvae at the Langevin site and 107,967 for the Chemin Damour gully. Also, data from a longitudinal adult monitoring, carried out thanks to the installation of BG-Sentinel traps, were collected.

These figures were compared with the output of the Arbocarto model, used to simulate the densities and abundances of mosquitoes of this species. The latter was partially validated in spite of numerous overestimations, notably of the density of *Pandanus*.

Then, some parameters of the vector ecology were studied: the origin of blood meals was taken into consideration. The gorged females were captured by mowing the vegetation. No gorged *Ae. aegypti* females were found, which proves that the location of resting places of this species is not yet known.

Finally, the activity rhythm of Aedes aegypti mosquitoes was studied over 48 hours and demonstrated a single peak of activity around 2pm, which contradicts other studies explaining their mainly diurnal and bimodal life rhythm.

This study therefore informs on the ecology of the little known species *Ae. aegypti* in Reunion Island. This arbovirosis vector species must be better studied and understood in order to fight against it. It is therefore envisaged that the model be used to eliminate mosquito populations.

Key words: *Aedes aegypti*, dengue, vector ecology, vector capacity, Reunion Island, Pandanus, Trophic preference, Activity rate.

Abréviations

CIRAD : Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement
IRD : Institut de recherche pour le développement
ERC : European research council
REVOLINC : Revolutionizing Insect Control
TIS : Technique de l'insecte stérile
CV : Capacité vectorielle
LAV : Lutte antivectorielle
Ae. : *Aedes*
An. : *Anopheles*
LG : Langevin
RVD : Ravine du chemin Damour
DGS : Direction Générale de la Santé
ANISETTE : Analyse Inter-Site : Evaluation de la Télédétection comme ouTil prédictif pour la surveillance et le contrôle de maladies causées par des moustiquEs
DDT : Dichlorodiphényltrichloroéthane
ARS : Agence Régionale de Santé
GLM : Généralisation du Modèle Linéaire

Liste des figures

Figure 1 : Schéma du cycle de la dengue *(©Inserm)*
Figure 2 : Représentation d'*Aedes albopictus* *(©Raphaëlle Hoarau)*
Figure 3 : Représentation d'*Aedes aegypti* *(©Raphaëlle Hoarau)*
Figure 4 : Représentation d'un *Pandanus utilis* ou Vacoa *(©Raphaëlle Hoarau)*
Figure 5 : Schéma de l'abdomen de moustique *(©IRD)*
Figure 6 : Nombre moyen de larves (a) en fonction de la partie du Vacoa (b) étudiée
Figure 7 : Données des températures (a) et de pluviométries (b) sur la commune de Saint-Joseph depuis un an
Figure 8 : Quantité de larves d'*Aedes aegypti* en fonction des dates de prélèvements et des différents sites
Figure 9 : Quantité de larves d'*Aedes. albopictus* en fonction des dates de prélèvements et des différents sites
Figure 10 : Vue aérienne des sites d'étude (a) embouchure de la rivière Langevin et (b) la ravine du chemin Damour au Plateau Vincendo), Saint Joseph, La Réunion
Figure 11 : Sortie de la modélisation du 1er janvier au 31 mai 2021 pour les sites de Langevin (a) et ravine du chemin Damour (b)
Figure 12 : Courbes de précipitation et de température du 1er janvier au 31 mai 2021 pour les sites de Langevin(a) et la ravine du chemin Damour (b)
Figure 13 : Nombre de larves observées et nombre issue de la modélisation pour les jours de prélèvements dans les zones de Langevin (a) et de la ravine Damour(b)
Figure 14 : Nombre de femelles en recherche d'hôte observées et nombre issu de la modélisation pour les jours de récolte dans les zones de Langevin (a) et de la ravine Damour (b)
Figure 15 : Photographie d'une femelle d'*Aedes albopictus* gorgée vue à la loupe binoculaire
Figure 16 : Rythme d'activité des deux espèces d'Aedes sur 48 heures d'étude dans le site du Verger de Langevin, St Joseph, La Réunion.
Figure 17 : Nombre de moustiques *Aedes* mâles et femelles en fonction des espèces et des heures de capture

Liste des tableaux

Tableau 1 : Coefficients à effets fixes d'un modèle de Poisson à effets mixtes de l'impact de la partie de l'arbre sur la quantité de larves d'*Aedes* trouvée.
Tableau 2 : Coefficients à effets fixes d'un modèle binomial à effets mixtes de l'impact du site, et de la pluviométrie sur la proportion de larves d'*Aedes aegypti* observée.
Tableau 3 : Coefficients à effets fixes d'un modèle de Poisson à effets mixtes de l'impact du site, et de la pluviométrie sur la proportion de larves d'*Aedes aegypti* observée.
Tableau 4 : Coefficients à effets fixes d'un modèle de Poisson à effets mixtes de l'impact du site, et de la pluviométrie sur la proportion de larves d'*Aedes albopictus* observée.
Tableau 5 : Estimation du nombre d'arbre par site en fonction des données issues des quadrats effectués.
Tableau 6 : Nombre de moustiques capturés lors des différents fauchages

Table des matières

Introduction 1

Matériels et méthodes 5

1. **Zone d'étude** 5
2. **Etude de la dynamique et de la productivité larvaire d'*Aedes aegypti* dans les *Pandanus*** 6
   - 2.1. Identification et échantillonnage des sites préférentiels de ponte d'Ae. aegypti 6
   - 2.2. Choix des feuilles de Pandanus pour le suivi longitudinal larvaire 6
   - 2.3. Suivi longitudinal larvaire dans les *Pandanus* 7
   - 2.4. Etude des Pandanus dans les habitations 7
   - 2.5. Estimation de la densité larvaire dans les sites d'étude 7
   - 2.6. Modélisation spatiale et temporelle 8
3. **Repas de sang et préférences trophiques** 9
4. **Rythme d'activité nycthéméral** 10
5. **Statistiques** 11

Résultats 11

1. **Etude de la dynamique et de la productivité larvaire d'*Aedes aegypti* dans les *Pandanus*** 12
   - 1.1. Identification et échantillonnage des sites préférentiels de ponte d'*Ae. aegypti* 12
   - 1.2. Suivi longitudinal larvaire dans les Pandanus 12
   - 1.3. Estimation de la densité larvaire dans les sites d'étude 15
   - 1.4. Modélisation spatiale et temporelle 16
2. **Repas de sang et préférence trophique** 17
3. **Rythme d'activité nycthéméral :** 18

19

Discussion 19

1. **Etude de la dynamique et de la productivité larvaire d'*Aedes aegypti* dans les Pandanus** 19
   - 1.1. Identification et échantillonnage des sites préférentiels de ponte d'*Ae. aegypti* 19
   - 1.2. Suivi longitudinal larvaire dans les *Pandanus* 20
   - 1.3. Estimation de la densité larvaire dans les sites d'étude 21
   - 1.4. Modélisation spatiale et temporelle 22
2. **Repas de sang et préférences trophiques** 23
3. **Rythme d'activité nycthéméral :** 24
4. **La capacité vectorielle** 25

Conclusion et perspectives 26

Annexes 27

Bibliographie 29

Introduction

La dengue est une infection causée par le virus de la dengue (DENV), appartenant au genre des *Flavivirus* et à ARN monocaténaire de polarité positive d'approximativement 11 kilo bases (Chambers et al. 1990; « WHO | Publication of WHO's first dengue vaccine position paper »,2016.) codant pour 3 protéines de structure et 7 protéines non structurales (Modis et al. 2004). Il existe 4 sérotypes (DENV-1 à DENV-4) sans immunité croisée touchant l'Homme (Jang et al. 2019; « WHO | 29 July 2016, vol. 91, 30 (pp. 349–364) » , 2016.). Les 4 sérotypes de dengue ont émergé indépendamment à partir de primates non-humains, après l'établissement de populations humaines assez larges et denses pour permettre une transmission interhumaine par les moustiques. Le cycle de transmission sylvatique ancestral existe toujours et est maintenu dans les populations de primates non-humains et les vecteurs *Aedes* dans les forêts d'Asie du Sud Est et d'Afrique de l'Est (Vasilakis et al. 2011; Weaver 2005). La dengue est l'arbovirose (de l'anglais *ARthropod-BOrne VIRUSes* : Virus transmis par les arthropodes) la plus répandue dans le monde (Dussart, Cesaire, et Sall, s. d.; Sánchez-Carbonel et al. 2018).

Depuis 2017, La Réunion, île française située dans l'océan Indien, subit une épidémie de dengue, d'abord modérée en 2018 (6 770 cas confirmés pour une population de 860 000 habitants), plus importante en 2019 (24 951 cas confirmés, 733 hospitalisations et 20 décès) et 2020 (avec 16 080 cas confirmés, 701 hospitalisations et 22 décès) («ARS | Dengue à La Réunion : Le nombre de cas est stable mais le virus continue de circuler », 2020.). Contrairement à 2019 où le sérotype qui circulait était majoritairement le DENV-2 (Vincent et al. 2019), en 2020, le DENV-1 est majoritaire, suivi du DENV-2 et du DENV-3 introduit depuis 2019 dans l'île. La coexistence de plusieurs sérotypes est signe d'endémisation de la dengue sur l'île avec un risque accru de sévérité clinique. L'épidémie a repris en 2021 avec le sérotype DENV-1 majoritaire. Au 26 mai 2021, on dénombre depuis le début de l'année, 18 161 cas confirmés, 462 hospitalisations dont 97 formes sévères incluant 17 décès.

Il existe plusieurs cycles chez ce virus (cycle épizootique, enzootique, cycle épidémique) et différentes transmissions. Chez l'Homme, le virus est transmis par les femelles de certaines espèces du genre *Aedes*. Il n'y a pas de transmission directe d'humain à humain (Adhikari et Subedi 2020) (Figure 1). Lors du repas sanguin, les moustiques se contaminent avec le sang d'une personne virémique (il peut s'agir de sujets symptomatiques, présymptomatiques, mais aussi asymptomatiques) (Duong et al. 2015). L'agent pathogène se multiplie ensuite dans les tissus de l'intestin du vecteur et se propage par la suite dans l'abdomen, les glandes salivaires et les tissus de la tête (Salazar et al. 2007).

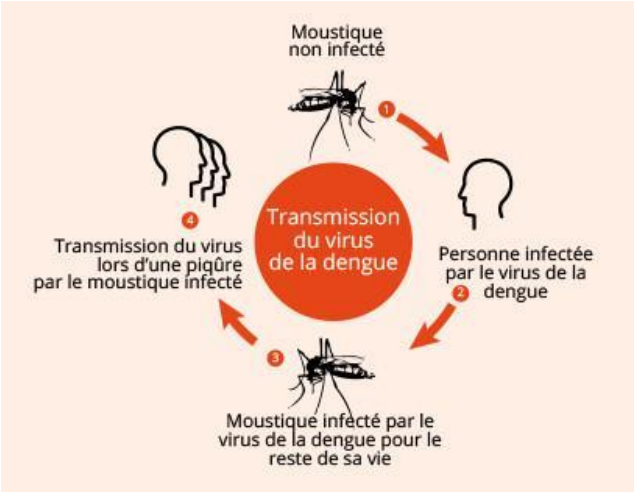


Figure 1 : Schéma du cycle de la dengue *(©Inserm)*

Les glandes salivaires sont infectées au bout de 4 à 10 jours correspondant à la durée de la période d'incubation extrinsèque chez le vecteur (« Institut Pasteur | Dengue » 2016.) et sont à l'origine de l'infection de nouveaux individus vertébrés après un repas sanguin. Après cette première infection, le moustique femelle est contagieux toute sa vie (« Inserm | Dengue » 2017), qui dure jusqu'à 4 semaines. Il pique environ tous les trois à quatre jours voir plusieurs fois au cours de la même journée du fait de la discordance gonotrophique chez les *Aedes* (Lacour et al. 2010).

Le genre *Aedes* est un genre cosmopolite de moustique de la sous-famille des *Culicinae*. Parmi ces derniers, les *Aedes* représentent le genre avec le plus d'espèces (près de 950 espèces). Ce sont des diptères hématophages : les femelles se nourrissent de sang sur un hôte vertébré pour assurer le développement de leurs œufs et les mâles se nourrissent uniquement de jus sucré. À La Réunion, *Ae.*

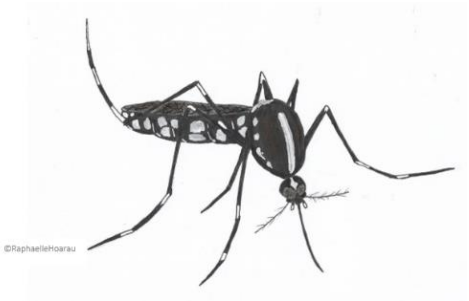


Figure 2 : Représentation d'*Aedes albopictus* *(©Raphaëlle Hoarau)*

Figure 3 : Représentation d'*Aedes aegypti* *(©Raphaëlle Hoarau)*

albopictus (Figure 2), et *Ae. aegypti* (Figure 3) sont tous deux présents. Bien que le principal vecteur de la dengue sur l'île soit *Aedes albopictus*, omniprésent jusqu'à 1200m d'altitude, *Ae. aegypti* reste présent et représente un risque potentiel pour la population réunionnaise (Salvan et Mouchet 1994).

À La Réunion, *Ae. aegypti* est une espèce qui ne vit que très rarement en milieu urbain. Elle se rapproche ainsi de la forme ancestrale sylvatique africaine (*Aedes aegypti formosus*) connue pour se développer dans les gîtes larvaires naturels et piquer des mammifères non humains dans les forêts et savanes africaines. Elle est différente de la forme domestique urbaine (*Aedes aegypti aegypti*) qui a colonisé le monde (Soghigian et al. 2020). En outre, le nombre de sites de reproduction et l'abondance relative d'*Ae. aegypti* est bien plus faible au fil des années, et on ne les retrouve plus que dans des gîtes naturels comme les creux de roches ou les creux des arbres situés dans des zones naturelles préservées. Il est suggéré que des facteurs écologiques tels que les interactions compétitives entre *Ae. aegypti* et *Ae. albopictus* pourraient avoir déclenché la diminution de l'espèce *Ae. aegypti* observée dans les années 50, notamment dans l'Ouest de l'île et que les campagnes d'élimination des Anophèles vecteurs du paludisme utilisant du Dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT) en aspersion intra domiciliaire au cours de ces années pourraient avoir accéléré ce processus. (Bagny et al. 2009).

Sur l'île, *Ae. aegypti* est une espèce aujourd'hui isolée dans les ravines du Sud et de l'Ouest. A St Joseph, *Ae. aegypti* a été retrouvé dans des ravines littorales, où ses larves se développent préférentiellement dans les feuilles engainantes de *Pandanus*, plante tropicale appartenant à la famille des *Pandanaceae* (Figure 4) (Bouyer J, communication personnelle, Janv 2021, La Réunion). Les mêmes études préliminaires ont montré que les autres gîtes naturels présents dans ces ravines, comme les trous de rochers, étaient occupés par les larves d'*Ae. albopictus*.

Figure 4 : Représentation d'un *Pandanus utilis* ou Vacoa *(©Raphaëlle Hoarau)*

La forme du feuillage des *Pandanus* entraîne une retenue d'eau de pluie qui constitue un gîte larvaire particulièrement propice à leur développement (Annexe 1). Les données concernant les interactions entre le moustique et cette espèce d'arbre ne sont pas encore clairement énoncées, mais cela reste une piste intéressante à étudier quant à l'écologie locale d'*Ae. aegypti*. *Aedes albopictus* a, quant à lui, une préférence pour les milieux urbains pour s'accoupler et pondre des œufs en raison de la disponibilité d'hôtes et de conteneurs permanents qui favorisent des densités de moustiques plus élevées (Delatte et al. 2008) mais on le trouve également en compétition avec *Ae. aegypti* dans les ravines de l'Ouest et du Sud de l'île.. Il préfère surtout les habitats urbains, qui résistent aux variations climatiques et augmentent donc la longévité des moustiques (Chetry et al. 2020).

De manière générale, ces deux vecteurs ont une activité de piqûre diurne et bimodale, avec deux pics d'activité classiquement décrits, l'un au matin et l'autre plus important au crépuscule (Cordellier et al., 1974). Les deux espèces diffèrent par leur morphologie et il est donc aisé de les

reconnaître et de les identifier grâce à une loupe binoculaire, en suivant des clés de détermination (Edwards, s. d.; Huang et al. 2001).

Après que l'un de ces deux moustiques infectieux (c'est-à-dire avec du virus dans les glandes salivaires) ait piqué, la durée d'incubation du virus de la dengue chez l'homme est de 3 à 10 jours pour 95% de la population (Chan et Johansson 2012). L'infection ne provoque pas systématiquement de symptômes graves. Cela concerne 50 à 90% des individus infectés selon le sérotype/génotype viral et le contexte épidémiologique («Santé publique France | Dengue santé publique France » 2021.; Acharya et al. 2020) avec un tableau clinique allant de la fièvre, des douleurs cérébrales, des éruptions cutanées, des douleurs rétro-orbitaires, des nausées, des douleurs articulaires et à une thrombopénie (Adhikari et Subedi 2020). Dans 1% des cas, les symptômes sont extrêmement sévères, avec des hémorragies multiples. Le risque de développer une dengue sévère est accru par une réinfection après infection préalable aux cours des années précédentes par un sérotype différent : on parle alors de dengue secondaire, voire tertiaire chez un même sujet (« OMS | Dengue et dengue sévère » 2020.; «Inserm | Dengue » 2016).

En 2015, le premier vaccin contre la dengue a été homologué: le Dengvaxia®. Cependant il ne peut être utilisé que chez les personnes de 9 à 45 ans vivant dans les zones d'endémie et ayant eu au moins une infection avérée par le virus de la dengue. En effet, il a été montré que les individus n'ayant jamais été infectés lors de la première vaccination présentaient lors d'une infection postérieure à la vaccination un risque plus élevé de développer une dengue sévère et d'être hospitalisés que les patients non vaccinés (« OMS | Dengue et dengue sévère » 2020.). D'autres vaccins sont en cours de développement, les plus avancés sont en essai clinique de phase 3. Par contre, il n'existe pas encore de traitement curatif efficace et commercialisé (« WHO | A global brief on vector-borne diseases » 2014.).

La seule solution reste la lutte antivectorielle (LAV). Cette LAV consiste en l'intégration de plusieurs méthodes de lutte qui comprennent notamment la sensibilisation du grand public, la destruction des gîtes larvaires et l'élimination des moustiques adultes en utilisant des insecticides (Delatte et al. 2008). Ces méthodes de LAV montrent actuellement leurs limites. La lutte contre les *Aedes* vecteurs fait donc aujourd'hui face à de nouveaux défis tels que l'apparition de populations de moustiques résistants aux insecticides, les réticences croissantes des populations aux traitements insecticides ou leurs impacts sur la faune non-cible et l'environnement (Hemingway et al. 2004). Ainsi, le développement de stratégies alternatives et innovantes de lutte contre les *Aedes* vecteurs d'arboviroses est devenu une urgence.

De ce fait, une technique spécifique et respectueuse de l'environnement éprouvée depuis de nombreuses années contre des insectes d'intérêt vétérinaire (e.g. glossines, lucilie bouchère) ou agricole (e.g. mouche méditerranéenne des fruits) est en cours de développement contre ces moustiques : il s'agit de la technique de l'insecte stérile (TIS), qui consiste à relâcher massivement des moustiques mâles stérilisés par irradiation aux rayons X. Ces mâles vont ensuite s'accoupler avec des femelles mais leur descendance ne sera pas viable (Haramboure et al. 2020). Un projet pilote mis en place par l'IRD vise à évaluer et déployer la TIS contre *Ae. albopictus* à La Réunion (« IRD |Début de la phase pilote pour la Technique de l'Insecte Stérile (TIS) à la Réunion » 2020.). Cependant, plusieurs groupes d'experts ont souligné qu'en cas de succès de la lutte, il existait un risque de ré-invasion par *Ae. aegypti*¸ de la niche écologique occupée actuellement par *Ae. albopictus*, et donc de se substituer comme vecteur de la dengue à La Réunion (Biodiversité, 2018 ; Haut Conseil de la santé publique, 2018). Cependant, les données actuellement disponibles sur la biologie et l'écologie de cette espèce, dans le contexte local, sont insuffisantes pour évaluer son rôle épidémiologique dans la transmission de la dengue et le risque de remplacement souligné ci-avant. Il est donc important d'étudier cette écologie vectorielle afin d'évaluer précisément le risque vectoriel que représente cette espèce et envisager d'appliquer ainsi des mesures de contrôle dirigées contre elle.

Le projet ERC REVOLINC (https://revolinc.cirad.fr/) vise à évaluer la TIS renforcée contre les *Aedes* vecteurs d'arboviroses. À La Réunion, des essais pilotes de la TIS renforcée sur le terrain visent *Ae. aegypti,* afin de démontrer la possibilité d'élimination d'une espèce d'insectes nuisibles par cette approche. Ceci n'est réalisable que lorsque cette dernière est isolée, ce qui est le cas des populations d'*Ae. aegypti* dans le sud et l'ouest de l'île. L'approche TIS renforcée repose sur le même principe que la TIS mais un biocide, ici du pyriproxyfène, un larvicide analogue d'une hormone juvénile inhibant la métamorphose de la pupe à l'état adulte (Pleydell et Bouyer 2019), est utilisé en plus sur les mâles stériles lâchés afin d'améliorer l'effet de la suppression de la descendance (Bouyer et Lefrançois 2014). En effet, dans ce cas, le mâle stérile n'a pas obligation de s'accoupler avec la femelle pour provoquer la non-viabilité de la descendance, mais peut uniquement et simplement la contaminer de pyriproxyfène par contact, lors de tentatives d'accouplement, ou bien même contaminer le gîte larvaire directement en s'y introduisant. L'auto-dissémination de pyriproxyfène par les mâles stériles irradiés, principe de la TIS renforcée, apporte un réel « boost » à la TIS classique. (Pleydell et Bouyer 2019). Ce travail a été financé par le Conseil européen de la recherche dans le cadre du programme de recherche et d'innovation Horizon 2020 de l'Union européenne (accord de subvention n° 682387-REVOLINC), dans le cadre du réseau One Health Océan Indien (www. onehealth- oi. org). Les financeurs n'ont joué aucun rôle dans la conception de l'étude, la collecte et l'analyse des données, la décision de publier ou la préparation du manuscrit. Dans le contexte du projet REVOLINC, les essais pilotes de la TIS renforcée contre *Ae. aegypti* à La Réunion sont prévues en 2021 dans des ravines du littoral de la commune de St Joseph au sud de l'île et incluent plusieurs volets de recherche : l'étude de la compétitivité, de la dispersion et de la survie des mâles lâchés, l'étude de l'impact du pyriproxyfène sur la faune non-cible, et le risque épidémiologique que représente *Ae. aegypti* dans les zones étudiées. C'est dans cette dernière thématique que s'inscrit ce stage de recherche qui s'intitule « **Ecologie vectorielle d'*Aedes aegypti* à la Réunion : vers le développement d'un modèle de capacité vectorielle pour la dengue** ». L'équipe chargée du projet est basée au Pôle de Protection des Plantes (3P) du Cirad à St Pierre, site d'accueil pour mon stage de recherche.

L'objectif principal de ce stage est de vérifier le rôle vecteur d'*Ae. aegypti* en l'état dans les ravines étudiées. Il est en effet important d'évaluer ce risque vectoriel en raison des changements environnementaux et climatiques affectant déjà l'île, voire aussi des changements liés à la LAV pratiquée pour le moment uniquement contre *Ae. albopictus*. Il s'agit donc ici d'estimer les différents paramètres de la capacité vectorielle de l'espèce *Ae. aegypti* pour le virus de la dengue à La Réunion (abondance, taux de piqûre, longévité, durée d'incubation extrinsèque et compétence vectorielle) et de leurs variations spatiales et temporelles. Il s'agira alors d'exploiter les résultats d'études entomologiques que nous avons menées dans des ravines littorales de la commune de Saint Joseph pour caractériser les principaux traits d'histoire de vie de l'espèce dans son environnement naturel : écologie larvaire et imaginale, rythme d'activité et préférences trophiques.

En effet, la dynamique de transmission d'une maladie vectorielle peut être définie par la capacité vectorielle (CV), qui dépend de chaque vecteur et de chaque pathogène. C'est le potentiel de transmission d'un agent infectieux dans le cas d'une transmission biologique par un arthropode vecteur (Garrett-Jones 1964 ; Maciel-de-Freitas 2010). Plus précisément, la capacité vectorielle décrit le nombre total de piqûres potentiellement infectieuses qui résulteraient éventuellement de la piqûre par tous les moustiques d'un seul humain parfaitement infectieux (c'est-à-dire que toutes les piqûres de moustiques entraînent une infection) en un seul jour.

Elle est définie comme résultant de la compétence vectorielle (l'aptitude intrinsèque du vecteur à transmettre : capacité du vecteur à s'infecter, à assurer le développement du pathogène et à infecter d'autres hôtes, souvent représentés par des facteurs génétiques (Filtre de Compatibilité-Euzet et Combes)) et de l'écologie vectorielle (écologie larvaire et imaginale, rythme nycthéméral et préférences trophiques (Filtre de Rencontre- Euzet et Combes)). Elle peut être résumée par la formule développée par Macdonald en 1956 pour la transmission du paludisme (Macdonald 1956) et repris par Maciel-de-Freitas (2010) ci-après :

$$cv = \frac{mbca^2p^n}{-\ln(p)}$$

Avec :
m = nombre de femelles adultes/personne
b = probabilité qu'un moustique infecté transmette l'agent pathogène à un hôte sensible lors de la piqûre
c = probabilité qu'un moustique soit infecté lorsqu'il va piquer un hôte infecté
a = taux de piqûre/humain/jour
p = taux de survie journalier des moustiques
n = durée de l'incubation extrinsèque

Dans le cas de notre zone d'étude, l'étude de la dynamique et de la productivité larvaire d'*Ae. aegypti* dans les *Pandanus*, mis en évidence (Bouyer J, communication personnelle, janv 2021, La Réunion) comme site de reproduction préférentiel de cette espèce, sera particulièrement importante et permettra de quantifier le risque que représente cette espèce, tout en tenant compte de la dimension spatiale grâce à l'utilisation d'un outil de modélisation spatiale de dynamique des populations de moustiques *Aedes* dénommé Arbocarto. Quant à la capacité vectorielle, tous les paramètres ne pourront être évalués sur le terrain. En effet, la densité larvaire retenue dans les *Pandanus* donnera uniquement un aspect du paramètre m, le rythme nycthéméral sera également étudié et une estimation du taux de piqûres (paramètre a) sera faite. Pour compléter, une analyse de l'origine des repas de sang des femelles gorgées sera effectuée et permettra de préciser les préférences trophiques. Toutes les données obtenues sur le terrain seront confrontées à celles de la littérature et pourront ensuite être comparées à celles d'un modèle spatial et temporel de la dengue (Raffy et Tran 2005). Ainsi le risque de la dengue lié à l'espèce *Ae. aegypti* sera évalué dans le contexte réunionnais.

Matériels et méthodes

1. Zone d'étude

L'île de La Réunion (2 500 km², 865 826 habitants en 2018) est un département français d'outre-mer situé dans l'océan Indien, à 700 km à l'est de Madagascar et à 175 km au sud-ouest de l'île Maurice. Le climat est tropical avec des étés chauds et pluvieux (novembre-avril) et des hivers frais chauds et secs (mai-octobre). Avec un sommet à 3 070 mètres et un relief accidenté, les précipitations et les températures sont très variables selon les versants et les altitudes : l'Est de La Réunion est très pluvieux alors que l'Ouest l'est moins. La température diminue progressivement de la côte vers les zones centrales d'altitude.

Les zones d'étude considérées dans le cadre des essais pilotes de la TIS renforcée contre *Ae. aegypti* à La Réunion sont situées au sud de l'île, dans la commune de Saint-Joseph (Annexe 2). Un premier site se trouve à l'embouchure de la Rivière Langevin. Il comprend un verger privé d'environ 4 hectares situé dans une zone d'étude de 17 hectares : c'est le site témoin. Le site où les lâchers de moustiques mâles stériles sont effectués est, quant à lui, situé 2km plus au sud, vers le plateau Vincendo. Il s'agit là d'une zone de 13 hectares autour d'une ravine située au milieu de zones habitées le long d'un chemin nommé « chemin Damour ». Des études préliminaires ont permis de confirmer la présence importante d'*Ae. aegypti* en compétition avec *Ae. albopictus* dans ces deux sites. Les deux sites ont des paysages similaires avec un patchwork de maisons individuelles avec jardin, de vergers et d'espaces boisés naturels plus ou moins anthropisés. On suppose que l'espace urbain situé entre les ravines n'est pas colonisé par *Ae. aegypti* au bénéfice du seul *Ae. albopictus* plus adapté à l'habitat humain. Les deux sites éloignés de 2 km l'un de l'autre seraient donc isolés entre eux en ce qui concerne *Ae. aegypti*. Au niveau de ces deux sites, des pièges BG-sentinel à CO2 (annexe 3) ont été

posés toutes les deux semaines depuis janvier 2021 à raison de 10 pièges par site et cela pendant deux ou trois jours consécutifs, afin d'assurer un suivi longitudinal des moustiques adultes. Ces pièges sont pensés au mieux pour attirer les moustiques, notamment les femelles en recherche d'hôte de par la couleur, la forme et l'usage de CO_2 comme olfactif attractant mimant un hôte vertébré. Les BG-sentinel sont les pièges à moustiques adultes de référence pour capturer les *Aedes* et ont été éprouvés sur *Ae. albopictus* dans le contexte réunionnais (Le Goff et al. 2017; Ball et Ritchie 2010). Des travaux préliminaires réalisés dans les deux sites d'étude ont montré que ce système était le plus performant dans le contexte local pour récolter des femelles et des mâles d'*Ae. aegypti*.

2. Etude de la dynamique et de la productivité larvaire d'*Aedes aegypti* dans les *Pandanus*

2.1. Identification et échantillonnage des sites préférentiels de ponte d'*Ae. aegypti*

Le *Pandanus* est un genre de plante tropicale appartenant à la famille des *Pandanaceae*. A La Réunion, l'espèce *Pandanus edulis* est particulièrement présente dans le sud de l'île et est appelée "Vacoa". Souvent désignée comme ayant une allure de parasol, ses feuilles sont insérées en spirale le long d'une tige ressemblant à un tronc. L'implémentation de ces feuilles permet de retenir de l'eau entre celles-ci lors d'épisodes de pluie. L'eau retenue représente d'éventuels gîtes larvaires pour les moustiques du genre *Aedes*, mais aussi pour d'autres espèces d'insectes comme les chironomes. Afin d'évaluer le potentiel risque lié à cette végétation, des *Pandanus* de la commune de Saint-Joseph ont été étudiés, plus précisément au niveau des zones du verger de Langevin et aux alentours de la Ravine du Chemin Damour. Avant chaque prélèvement, la météo de la veille (ou du matin) a été notée.
Dix arbres ont été sélectionnés (5 dans chaque site d'étude), en concordance avec les études préliminaires basées sur les captures de moustiques adultes. Les *Pandanus* choisis sont proches des zones de piégeage fortement positives pour l'espèce *Ae. aegypti*.

2.2.Choix des feuilles de Pandanus pour le suivi longitudinal larvaire

Afin de savoir quelle feuille de *Pandanus* échantillonner pour le suivi longitudinal larvaire (2.3), une étude verticale a été effectuée sur 3 des 10 *Pandanus* sélectionnés.

L'arbre a été divisé en 3 parties (Haute (A), moyenne (B) et basse (C)), en prenant en compte uniquement la partie exploitable, c'est-à-dire la partie retenant de l'eau. Ainsi, les feuilles abîmées, coupées ou mortes ont été comptabilisées si elles ont le potentiel de rétention d'eau. Le nombre de feuilles de chaque partie a été noté pour connaître le nombre moyen de feuilles d'un *Pandanus*. Dix pourcents du nombre de feuilles a été sélectionné pour chaque partie : si une partie présentait 20 feuilles, alors 2 feuilles ont été choisies, 10mL d'eau par feuille est prélevée grâce à une pipette, et la quantité d'eau totale notée (si la quantité d'eau dans une feuille est inférieure à 10mL, alors la totalité de l'eau a été récupérée). Pour compenser l'eau collectée, la même quantité d'eau a alors été ré-introduite dans les feuilles de *pandanus* échantillonnées. L'eau récoltée dans les feuilles de *Pandanus* a été mise dans des tubes hermétiques pour la transporter jusqu'à l'insectarium du 3P à Saint-Pierre. Les tubes ont été observés, les petites larves ont été nourries à hauteur de 0,12mg/larve/jour (grâce à de la nourriture pour poisson riche en protéine) afin qu'elles soient assez grosses pour être identifiées sous loupe binoculaire (l'identification morphologique du genre Aedes et la distinction entre les deux espèces se faisant au stade larvaire III ou IV) puis elles sont tuées avant la nymphose. Les larves ont été comptées pour chacune des deux espèces. Si des nymphes se retrouvaient dans le prélèvement d'eau, elles ont été placées dans des boîtes, pour faciliter leur émergence afin de les identifier sur les adultes néonates qui ont été ensuite tués. Ces mesures ont permis de savoir à quelles hauteurs des arbres de *Pandanus* les larves de moustiques du genre *Aedes* sont le plus présentes.

2.3.Suivi longitudinal larvaire dans les *Pandanus*

Après avoir identifié la partie préférentielle des *Pandanus* abritant des larves d'Aedes, deux feuilles ont été sélectionnées dans cette partie pour suivre les densités larvaires respectives des deux espèces d'*Aedes* au cours du temps. Pour chacune des deux feuilles des 10 arbres sélectionnés (5 dans chaque site d'étude), la totalité de l'eau de la feuille a été prélevé (s'il y a plus de 50mL alors la quantité totale a été notée mais uniquement 50mL a été échantillonné) et mise dans des tubes hermétiques pour les transporter jusqu'à l'insectarium du 3P à Saint-Pierre. La même quantité d'eau prélevée a alors été réintroduite dans les feuilles échantillonnées. Ici aussi, les larves ont été identifiées au stade III ou IV (ou sur adultes néonates pour d'éventuelles nymphes récoltées) et la quantité de larves (ou nymphes) de moustique a été notée pour chaque espèce. Ces échantillonnages larvaires ont été réalisés toutes les deux semaines.
Ainsi à partir de ces données, le nombre moyen de larves trouvées par feuille a été calculé. Grâce à l'étude précédente (2.2), la quantité d'eau moyenne retenue par une feuille est connue. Une éventuelle correspondance entre le nombre de larves de moustique, la quantité d'eau et la pluviométrie a été mise en évidence. Aussi, le nombre de larves moyen d'une feuille a été multiplié par le nombre moyen de feuilles pour savoir combien de larves peut produire un *Pandanus* en moyenne.

2.4.Etude des Pandanus dans les habitations

A Saint-Joseph, des habitants peuvent avoir des Vacoas dans leur jardin, qui pourraient abriter des larves d'*Ae. aegypti*, ce qui constituerait un risque vectoriel domestique lié à cette espèce au-delà des ravines. Le but étant de savoir si les *Pandanus* chez les habitants peuvent aussi être de potentiels gîtes larvaires, et si oui, de savoir s'ils en produisent autant que les *Pandanus* situés à proximité des ravines.
Pour cela, lors de la campagne de communication, réalisé en porte à porte en mars 2021, ayant pour but d'informer les populations riveraines des deux sites d'étude des essais pilotes de TIS renforcée prévus dans le cadre du projet REVOLINC, les habitants ont été questionnés quant à leur possession de cet arbre chez eux et une autorisation d'étudier ces arbres situés dans leur espace privé leur a été demandé. De cette manière, des *Pandanus* chez trois habitants volontaires ont été étudiés de la même façon que les Pandanus du suivi longitudinal larvaire. Ainsi, en comparant les proportions de larves trouvées dans les gîtes préférentiels proches de la population avec les proportions de larves trouvées dans les gîtes proche de la rivière Langevin et de la Ravine Damour, une estimation du risque a été effectuée.

2.5.Estimation de la densité larvaire dans les sites d'étude

Afin de connaître la quantité approximative de larves produites par les gîtes préférentiels « *Pandanus* », une estimation du nombre de *Pandanus* a été effectué dans les deux sites d'étude. Pour cela un quadrat a été effectué. La taille de ce dernier est fixée à 25mx25m. Deux mètres rubans ont été utilisés avec deux cordes de 25 mètres, afin de tracer au sol le carré de la taille voulu.
Chaque zone d'étude a été divisée en deux sous-parties : les parties urbaines représentées par les habitations/écoles et les parties de végétation naturelle. Uniquement la deuxième sous-partie a été prise en compte dans la suite de ce protocole afin d'estimer au mieux le nombre réel de Pandanus dans les deux sites. On suppose ainsi d'emblée que les Pandanus situés dans les habitations produisent peu ou pas de larves d'*Ae. aegypti*, ce qui sera vérifié par l'activité précédente (2. 4.). Les zones ont ensuite été divisées en carrées de 25mx25m sur les plans et tous les carrés ont été numérotés. Ensuite deux

nombres par site ont été tirés au hasard et les coordonnées des deux cadres sélectionnées ont été notées. Au total, 4 quadrats ont donc été tracés, dans lesquels, le nombre de *Pandanus* a été compté.
Ainsi à partir de ces données, la densité larvaire d'*Ae. aegypti* a pu être estimée dans les deux sites d'étude. Elle a été évaluée en fonction du nombre de larves de moustiques par arbre et du nombre d'arbres par site : cette donnée représente la capacité de charge du milieu (KL) en écologie des populations.

2.6.Modélisation spatiale et temporelle

En 2018, un nouvel outil de modélisation spatiale dynamique des populations d'*Ae. albopictus* dénommé Arbocarto a été lancé par le Cirad, financé par la Direction Générale de la Santé (DGS). L'objectif de ce projet est de développer un outil de cartographie prédictive des densités de population d'*Ae. albopictus.* Cet outil a une échelle spatiale adaptée à l'organisation des actions de surveillance et de contrôle menées par les acteurs de la lutte antivectorielle dans différents départements français. Il se base sur des données météorologiques (température et pluviométrie quotidienne) et de télédétection à haute ou très haute résolution spatiale. Ce modèle est basé sur la dynamique de population (Tran et al. 2020) du moustique *Ae. albopictus* et a donc été adapté, dans le cadre du projet REVOLINC et du projet ANISETTE (Analyse Inter-Site : Evaluation de la Télédétection comme ouTil prédictif pour la surveillance et le contrôle de maladies causées par des moustiquEs), à l'espèce *Ae. aegypti*. Cet outil est exécutable au travers du langage de programmation Java.

L'interface démarre avec un module d'initialisation, où l'espèce d'*Aedes* a pu être choisie entre *aegypti* et *albopictus,* ainsi que le choix de sélectionner une diapause pour l'espèce, c'est-à-dire un arrêt du développement pendant une certaine durée (phénomène bien connu et observé chez *Ae. albopictus* en zone tempérée), choix que nous n'avons donc pas retenu pour notre étude réalisée en zone tropicale.. Après cela, la simulation a pu être lancée. Dans un premier temps, il a fallu choisir un répertoire de travail, c'est-à-dire le lieu où sont enregistrés tous les fichiers et les données utilisables par l'interface (fichier météorologique, ainsi que les couches vectorielles sur lesquelles sont localisées ces stations météorologiques en .csv ou .shp). Ensuite, un fichier environnemental a été choisi. Dans ce fichier environnemental sont regroupées toutes les données concernant la zone étudiée : l'arrondissement qui correspond ici à « SUD », le nom de la commune, le numéro d'identifiant unique attribué à la zone ainsi qu'un identifiant numérique, le nom de la zone (Langevin ou Ravine Damour), la surface et l'altitude de la zone et les KL (KL_{var} et KL_{fix}). KL représente la capacité de charge du milieu, c'est-à-dire le nombre maximal d'individus que peut contenir le milieu sans que les ressources ne subissent des dégradations irrémédiables, donc les populations larvaires. Ici, ce paramètre a été représenté par le nombre de larves pouvant être contenues dans le milieu, donc le nombre de larves produites par la totalité des *Pandanus* dans les deux sites d'étude. Kl_{fix} est représenté par les gîtes larvaires fixes et Kl_{var} par ceux variables. La capacité de charge a été estimée grâce aux données issues de l'étude verticale du Pandanus (nombre de feuilles par *Pandanus*, et nombre de larves par feuille en moyenne) et de l'étude des quadrats (nombre de *Pandanus* par zone étudiée). Ici, 95% de KL total a été estimé comme étant variable, et 5% comme étant fixe.

$$\mathbf{KL = Ge_i * L_i}$$

Ge$_i$ nombre de gîtes en eau de type i ; (Nombre de *Pandanus* * nombre de gites par *Pandanus*)
L$_i$ le nombre moyen de larves par gîte de type i.

Pour la suite de la simulation, la période a dû être choisie. Cette période a été définie entre janvier et mai 2021, afin de correspondre aux données réelles du terrain. La fréquence de sortie est décidée de manière à ce que cela corresponde également aux données du terrain, c'est-à-dire au suivi longitudinal larvaire réalisé toutes les deux semaines. Le répertoire de sortie a ensuite été choisi. Dans ce dernier, les sorties du modèle ont été enregistrées, soit en fichier de forme (.shp) ou en kml pour les ouvrir dans Google Earth. Ici ce sont des fichiers shapefile qui ont été choisis. Enfin, durant la

simulation, le choix « action de lutte/prévention » peut être effectué ou non. Ici, l'action de lutte envisagée contre ces gîtes larvaires pourrait être de couper tous les Vacoas, mais cette option n'a pas été retenue.
Les fichiers shapefile ont été ouverts grâce au logiciel QGIS 3.16 où la table attributaire a pu être observée. Grâce à cette table, un suivi temporel peut être observé. Ces données de sortie du modèle ont donc été comparé aux données du terrain : le suivi longitudinal larvaire a été comparé au « nombre de larves » en sortie et le suivi longitudinal adulte, effectué grâce aux pièges BG-sentinel, a été confronté à la sortie « nombre d'adulte total ». Ce nombre d'adultes par site a été calculé grâce à l'efficacité des pièges qui a été évalué grâce à des données de marquage-lâcher-recapture au niveau du site de la ravine du chemin Damour (Moynier, 2021). Ce chiffre, égal à 0,75% a été adapté à la zone de Langevin, en fonction du nombre de pièges. Ensuite, le nombre de moustiques trouvés par site et par jour a été divisé par cette donnée pour avoir une estimation du nombre total d'adulte *Ae. aegypti*. Enfin, les données d'estimation de la capacité de charge ont été discutées quant à leur réalité.

3. Repas de sang et préférences trophiques

Les préférences trophiques des moustiques représentent une partie importante de l'écologie de ces insectes hématophages. L'étude de ce paramètre est indispensable pour estimer le risque vectoriel pour un hôte vertébré particulier dans le cas de la transmission de pathogènes. Comme nous l'avons déjà souligné, il est pris en compte dans l'estimation de la capacité vectorielle d'une espèce vectrice donnée pour un pathogène donné. Pour cela, dans le cadre de ce stage de recherche, l'origine des repas de sang des femelles moustiques *Ae. aegypti* a été étudiée dans les deux sites d'étude. L'activité principale des essais pilotes de la TIS renforcée à St Joseph consiste à poser des pièges BG-Sentinel (Annexe 3) avec comme appât du CO2 avant et après intervention. Ces pièges ont été posés dans les deux sites et cela pendant 2 ou 3 jours consécutifs, toutes les deux semaines afin d'assurer le suivi longitudinal de la population de moustiques adultes. Tous les jours, les filets de ces pièges ont été changés, et les moustiques contenus dans ces derniers ont été ramenés au laboratoire d'entomologie du 3P à Saint Pierre pour être tués. Une identification morphologique et un tri ont ensuite été effectués sous loupe binoculaire. Durant le tri, les femelles *Aedes* éventuellement gorgées de sang ont été gardées individuellement dans des tubes Eppendorf de 1,5mL dans de l'éthanol absolu, refermés avec du parafilm pour éviter la perte d'alcool, et stockées à 4°C.

Afin d'augmenter la probabilité d'obtenir des femelles gorgées, un deuxième protocole d'échantillonnage sur le terrain a été mis en place par le biais d'un fauchage de la végétation. En effet, les femelles recherchées sont des moustiques qui viennent tout juste de piquer et de se nourrir, ce ne sont donc pas à priori celles qui seront capturées par l'appât CO2 dans les pièges BG-Sentinel. Les gîtes de repos des femelles moustiques seront donc visés. Ces derniers sont définis différemment en fonction des espèces. La forme domestique urbaine pantropicale *Aedes aegypti aegypti* est connue pour se nourrir et se reposer à l'intérieur des habitations : elle a un caractère endophage et endophile marquée (Service 1977 ; Reiter 2007), alors qu'*Ae. aegypti à* La Réunion, présentant les caractères écologiques de la forme sylvatique ancestrale africaine « *formosus* », est supposée piquer et se reposer à l'extérieur dans la végétation (Bagny et al. 2009). Dans tous les cas, cette espèce n'est pas retrouvée à l'intérieur des habitations, que ce soit pour piquer ou pour se reposer. Elle pique néanmoins l'homme dans et aux abords des ravines, nous avons pu le constater par nous-mêmes comme le reste de l'équipe, d'où l'importance d'en avoir la confirmation par des études visant à déterminer l'origine de ses repas de sang.
On suppose alors que le gîte de repos des femelles d'*Ae. aegypti* se trouve dans la végétation aux abords des ravines. Ce protocole d'échantillonnage consiste donc à agiter la végétation grâce à des filets fauchoirs destinés aux collectes d'insectes (Annexe 4) avec des mouvements continus de gauche à droite et inversement. Ce protocole a été éprouvé à La Réunion pour récolter dans la végétation des femelles gorgées du moustique vecteur potentiel du paludisme *Anopheles arabiensis* (Girod et al.,

1999). Les moustiques collectés sont ensuite aspirés grâce à un mini-aspirateur électrique et mis dans des filets. Cette manipulation a mobilisé entre 3 et 5 personnes, chacune munie d'un filet. Le premier fauchage a été effectué un matin (vers 10h) au niveau du site d'étude de la Ravine du chemin Damour. Le lendemain, à la même heure, la même action a été faite, mais cette fois-ci au Verger proche de l'embouchure de la rivière Langevin. Ensuite, ce protocole a été testé l'après-midi aux alentours de 13h30. Enfin un dernier fauchage a été réalisé en fin de matinée (11h30). Pour chacune des sessions, l'agitation de la végétation et les activités de fauchage ont été effectuées pendant 1h30.

Après chaque fauchage, les filets ont été rapportés au laboratoire d'entomologie du 3P au Cirad de Saint-Pierre, où les moustiques ont été tués au froid. Une identification sur critères morphologiques et un tri a, là aussi, été effectué grâce à une loupe binoculaire. Les femelles *Aedes* ont été gardées et leur abdomen, observé. Une lumière a été placée au-dessous afin de mieux observer et apprécier le contraste du sang dans l'abdomen.

Les femelles dont les abdomens sont gorgés frais (Figure 5) et gorgés tardif, ont été très facile à identifier du fait de la couleur rouge très vif du sang. Pour les Semi-gravide et les Sub-gravide, le sang contenu est marron, mais les techniques moléculaires très sensibles peuvent tout de même analyser ce sang. Cependant, les femelles gravides n'ont pas été sélectionnées.

Comme précédemment, chaque femelle gorgée a été stockée individuellement dans des tubes Eppendorf de 1,5mL dans de l'éthanol absolu, refermés avec du parafilm pour éviter la perte d'alcool. Les tubes ont été notés avec un code unique, renvoyant à la date de récolte et à un numéro par individu et ont été placés à une température de 4°C. Ces échantillons ont été envoyés à l'IRD de Montpellier, au laboratoire de MIVEGEC afin d'effectuer une analyse moléculaire de l'origine des repas de sang par PCR sur des gènes mitochondriaux en suivant le protocole de Townzen (Townzen et al. 2008).

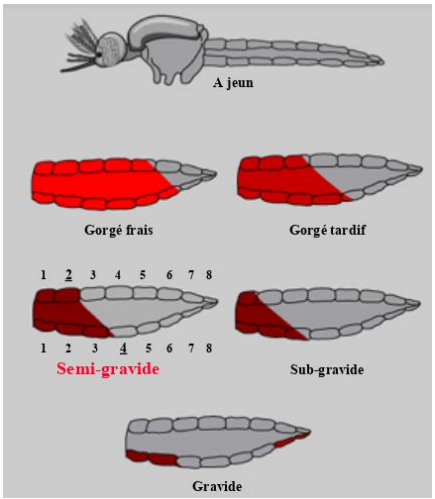


Figure 5 : Schéma de l'abdomen de moustique représentant les différents états physiologiques d'une femelle de moustique (©*IRD*)

4. Rythme d'activité nycthéméral

Un autre paramètre important de l'écologie vectorielle est le rythme d'activité des moustiques. À La Réunion, la bio-écologie du moustique *Ae. aegypti* est peu connu. La forme domestique urbaine pantropicale *Ae. aegypti aegypti* est connue pour avoir une activité de piqûre diurne et bimodale, avec deux pics d'activité classiquement décrits, l'un au matin et l'autre plus important au crépuscule (Lima-Camara 2010). Mais comme nous l'avons déjà souligné, *Ae. aegypti*, trouvé à La Réunion, présente une écologie atypique ; cette espèce peut donc avoir localement un rythme d'activité spécifique.

Pour étudier ce paramètre, 4 pièges ont été posés dans le Verger du site témoin (ce sont les mêmes emplacements de pièges que ceux utilisés pour le suivi longitudinal des moustiques adultes réalisé dans le cadre du projet REVOLINC). Toutes les deux heures et cela pendant 48 heures consécutives, les filets des pièges ont été changés. Les moustiques récupérés toutes les deux heures ont ensuite été mis dans des boîtes de pétri après avoir été tués au froid, pour libérer les filets mais aussi pour favoriser le transport jusqu'au laboratoire d'entomologie du Pôle 3P du Cirad de Saint-Pierre. Les 96 boîtes ont ensuite été triées et les individus comptés et identifiés morphologiquement sous loupe binoculaire. Ainsi, la présence d'*Aedes albopictus* et/ou *aegypti* (mâle et femelle) a été notée en fonction des différents pièges et des différentes plages horaires. Une base de données a ensuite été mise en place.

Un graphique, indiquant le nombre de moustiques capturés en fonction des heures de la journée, a été constitué et indique donc le rythme nycthéméral des deux espèces du *Aedes* trouvé dans les 2 sites d'étude.

Le but de ce protocole est de connaître le(s) pic(s) d'activité de ce moustique, afin de cibler les périodes horaires de plus forte densité pour étudier, par la suite, le taux de piqûres sur homme en exposant au niveau de ces 4 emplacements de piégeage des appâts humains sous double moustiquaire. Cette expérimentation fastidieuse ne peut être réalisée de manière continue pendant 48h et sera donc conduite uniquement pendant les plages horaires de plus forte activité. Elle permettra d'estimer le paramètre "a" dans la formule de la capacité vectorielle. Le paramètre "a" étudié est la densité agressive d'un moustique donné qui est définie par le nombre moyen de piqûres due à une espèce et par homme sur une période donnée. Il est également appelé taux d'agressivité.

5. **Statistiques**

Toutes les données ont été regroupées et hébergées dans des fichiers Excel et ont été traitées sous le logiciel R studio version 4.0.4, ou directement sous Excel.

L'étude de la partie du Pandanus la plus susceptible de produire le plus de larves a été réalisée grâce à une généralisation du modèle linéaire (GLM) suivant une loi de Poisson. Grâce à une AIC (Akaike information criterion), permettant d'estimer la distance entre les données, le meilleur modèle a été choisi. Il s'agit de celui où la variable « partie » a été choisie en tant qu'effet fixe et où les différentes feuilles ont été utilisées comme effet aléatoire. Afin de vérifier que le modèle est bon, le pourcentage d'inertie des données a été étudié.

Pour le suivi longitudinal larvaire, la proportion d'*Ae. aegypti* a été calculée pour chaque jour d'échantillonnage et le nombre de jours depuis la dernière pluie a été rajoutée. Aussi, la variable « HAB » a été supprimée pour la suite. Des modèles d'effet mixtes linéaires binomiaux ont été utilisés pour analyser l'impact de la quantité d'eau, l'impact du site ainsi que celui du temps écoulé depuis la dernière pluie sur la proportion d'*Ae. aegypti* (avec comme effet fixe la quantité de pluie et le temps écoulé depuis la dernière pluie et les effets aléatoires sont la date et le nom de l'arbre). Pour affiner cela, d'autres modèles ont été mis au point, mais cette fois des GLM suivant la loi de Poisson (en changeant les effets fixes et aléatoires) ont été utilisés. De la même façon que précédemment, le meilleur modèle a été choisi et une Anova sur ce dernier a été effectuée. Le meilleur modèle est celui dont les effets aléatoires sont l'arbre et la date et les effets fixes sont représentés par les sites, la quantité de pluie et la quantité d'eau. Les mêmes modèles de Poisson sont utilisés pour les larves d'*Ae. albopictus* et pour les deux espèces confondues.

Pour l'étude du rythme nycthéméral, un test de comparaison (χ^2) a été effectué pour comparer les deux espèces au fil des heures ainsi que les mâles et femelles de chaque espèce. Pour cela, les données des deux jours ont été regroupées sur 24 heures. Certaines heures qui se suivent ont été également regroupées car le peu de captures obtenue n'ont pas permis le calcul du χ^2. Ainsi les données entre 20h et 2h ont été mises ensemble, tout comme les données de 6h et 8h, pour les mâles des deux espèces. Des représentations graphiques de chaque espèce par sexe ont été également réalisées pour mieux figurer les rythmes d'activité de chaque espèce.

Résultats

1. Etude de la dynamique et de la productivité larvaire d'*Aedes aegypti* dans les *Pandanus*

1.1 Identification et échantillonnage des sites préférentiels de ponte d'*Aedes aegypti*

L'étude verticale des Vacoas a permis d'en savoir plus sur l'écologie vectorielle d'*Aedes aegypti* à La Réunion, notamment à propos des gîtes larvaires. Pour cela les préférences de ponte de cette espèce ont été démontrées au niveau du *Pandanus*.
Au total, l'eau de 24 feuilles a été échantillonnée (7 dans la partie A, 8 pour la partie B et 9 pour la C). La partie A contient significativement moins de larves que les parties B et C (Figure 6 et Tableau 1). Cependant, il n'y a pas de différence significative entre ces deux dernières. Par ailleurs, il a été remarqué que le nombre de larves est plus élevé pour la partie intermédiaire (B). C'est donc dans cette partie que la suite du protocole de l'étude du « gîte *Pandanus* » a été effectué, d'autant plus qu'elle est généralement plus accessible et que les feuilles de cette dernière avaient moins de risque de se faire couper que celles de la partie inférieure C. D'après ces données, le modèle explique donc 57% de la variabilité de la variance.

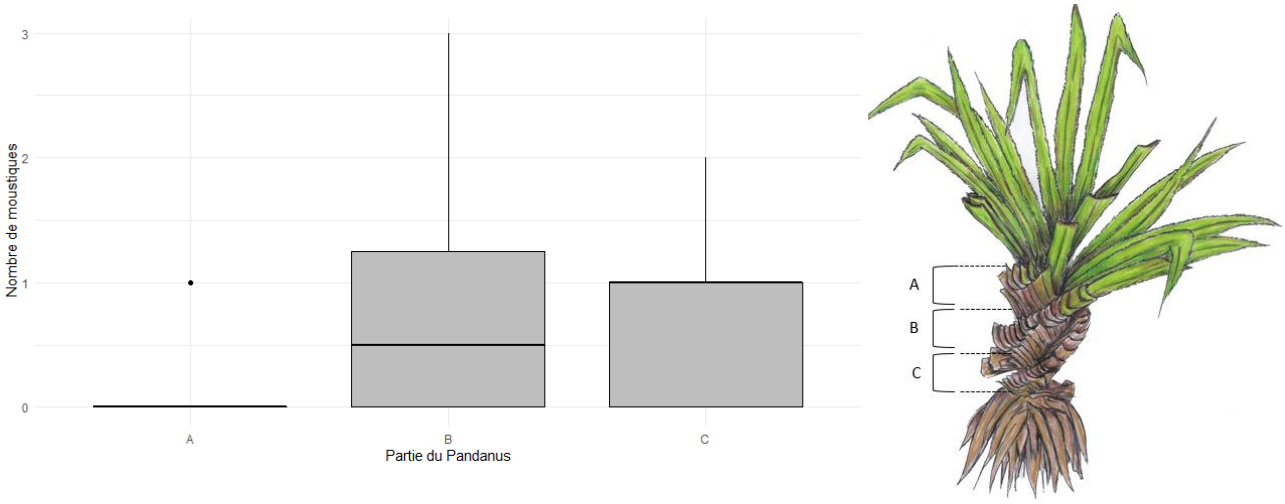


Figure 6 : Nombre moyen de larves d'*Aedes sp.* (a) en fonction de la partie du Vacoa (b) étudiée

Tableau 1 : Coefficients à effets fixes d'un modèle de Poisson à effets mixtes de l'impact de la partie de l'arbre (*Pandanus*) sur la quantité de larve d'*Aedes sp.* trouvée.

Effet Fixe	Estimation	Erreur Standard	Z_value	P_value
Intercept	-0.4179	0.5920	-0.706	0.4803
Partie A	-1.8686	1.0702	-1.746	0.0808 .
Partie C	-0.2412	0.5596	-0.431	0.6664

Codes signif. : 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

1.2. Suivi longitudinal larvaire dans les Pandanus

A partir du 10 février 2021 et cela jusqu'au 6 mai 2021, un échantillonnage a été effectué dans deux feuilles de 10 pandanus dans les différents sites. Puis, à partir du 2 avril, a débuté les prélèvements chez 3 habitants. Au total, 172 observations ont été effectuées.
Ces mois d'étude ont montré des différences évolutives en termes de météo (Figure 7). En effet, au début de l'étude (janvier/février), La Réunion se trouve en été austral, tandis qu'à partir du mois d'avril, l'île se prépare à l'hiver et les températures commencent à baisser

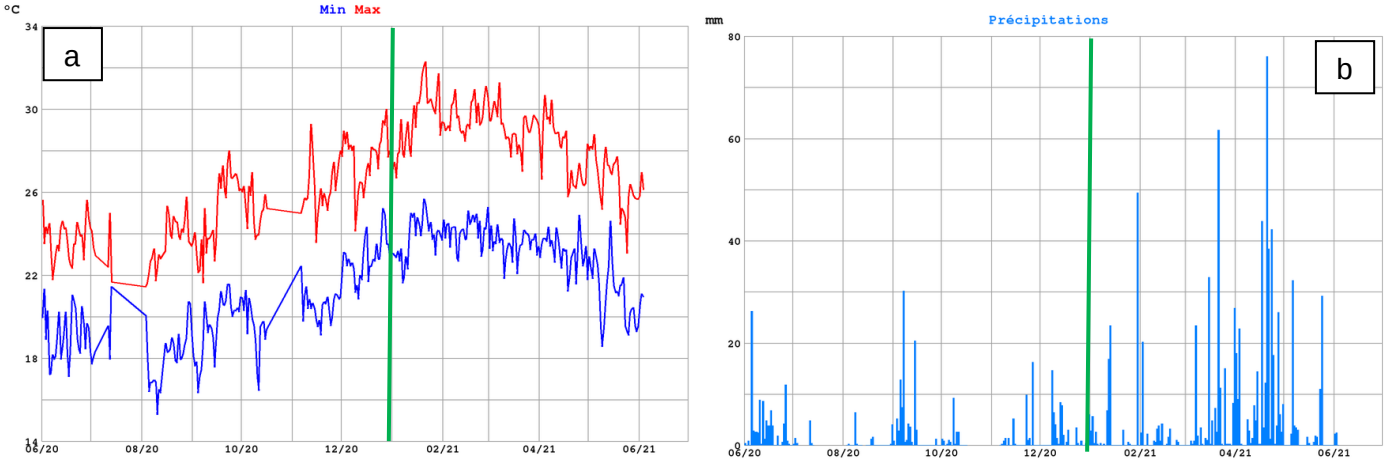


Figure 7 : Données des températures (a) et de pluviométries(b) sur la commune de Saint-Joseph depuis un an (juin 2020-2021

De part ces différents environnements, la dynamique de chacune des espèces a été très différente. Au fil des mois, il y a eu une inversion de la tendance quant à la présence des différentes espèces d'*Aedes*. Tandis que les larves d'*Aedes aegypti* (Figure 8) étaient très présentes en début d'étude, leur abondance a diminué au profit de la présence de celle d'*Aedes albopictus* (Figure 9).

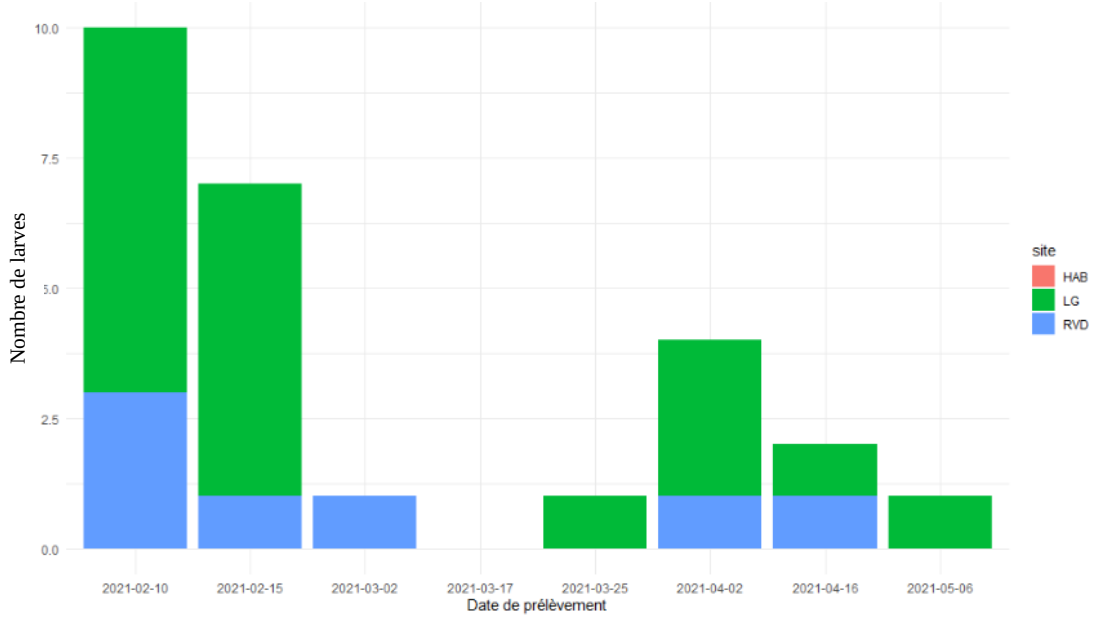


Figure 8 : Quantité de larves d'*Aedes aegypti* en fonction des dates de prélèvements et des différents sites

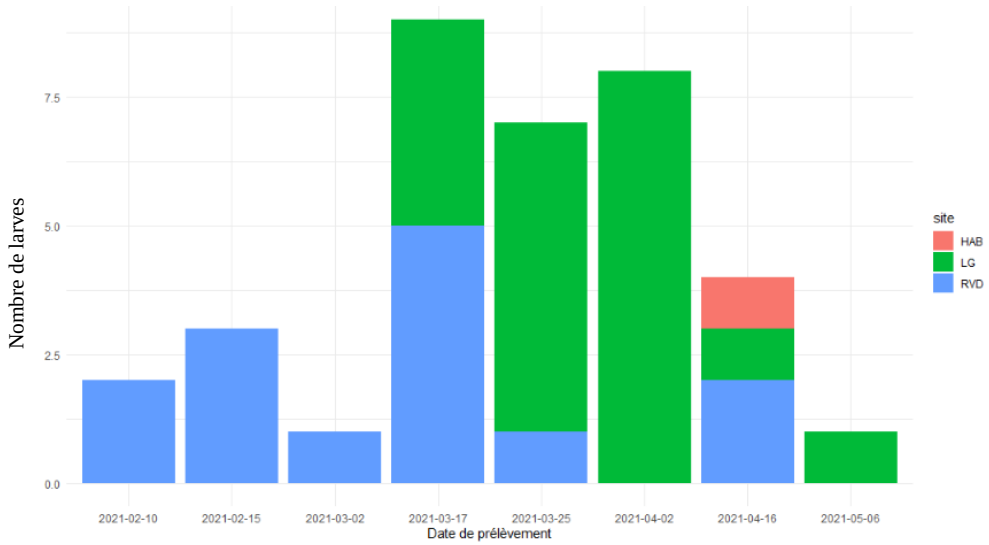


Figure 9 : Quantité de larves d'*Aedes. albopictus* en fonction des dates de prélèvements et des différents sites

Pour la suite de l'étude, la proportion d'*Ae. aegypti* a été calculée pour chaque prélèvement. Ensuite le site « HAB » a été supprimé car les prélèvements chez les habitants ont été effectué uniquement trois fois et non sur la même durée que pour les sites RVD et LG, mais aussi parce qu'une seule larve de moustique a été trouvée sur les trois prélèvements, chez les trois habitants confondus. En effet, sans cette suppression, les modèles donnent une erreur « fit is singular » du fait du peu de données par rapport aux paramètres.
L'étude de ce nouveau tableau a permis d'avoir des modèles plus robustes. Trois modèles ont ici été effectués, et l'AIC a permis de démontrer que le modèle qui prend en compte la quantité de pluie et le temps depuis la dernière pluie est le meilleur. Ce modèle prouve que l'effet « site » est négligeable mais que le temps depuis la dernière pluie a un effet négatif même si non significatif sur la proportion d'*Ae. aegypti* (Tableau 2).

Tableau 2 : Coefficients à effets fixes d'un modèle binomial à effets mixtes de l'impact du site, et de la pluviométrie sur la proportion de larves d'*Aedes aegypti* observée.

Effet Fixe	Estimation	Erreur-standard	Z_value	P_value
Intercept	2.3896	1.7026	1.403	0.1605
Quantité de pluie	-0.1936	0.1031	-1.877	0.0605.
Temps de la dernière pluie	-0.6121	0.5720	-1.070	0.2845

Ensuite, grâce au modèle de Poisson, qui analyse les mêmes paramètres, il a été démontré que la quantité de pluie a un effet négatif sur la proportion de larves d'*Ae. aegypti*, mais cet effet est non significatif. Cependant la quantité d'eau joue un rôle significatif sur cette proportion (Tableau 3)

Tableau 3 : Coefficients à effets fixes d'un modèle de Poisson à effets mixtes de l'impact du site, et de la pluviométrie sur la proportion de larves d'*Aedes aegypti* observée.

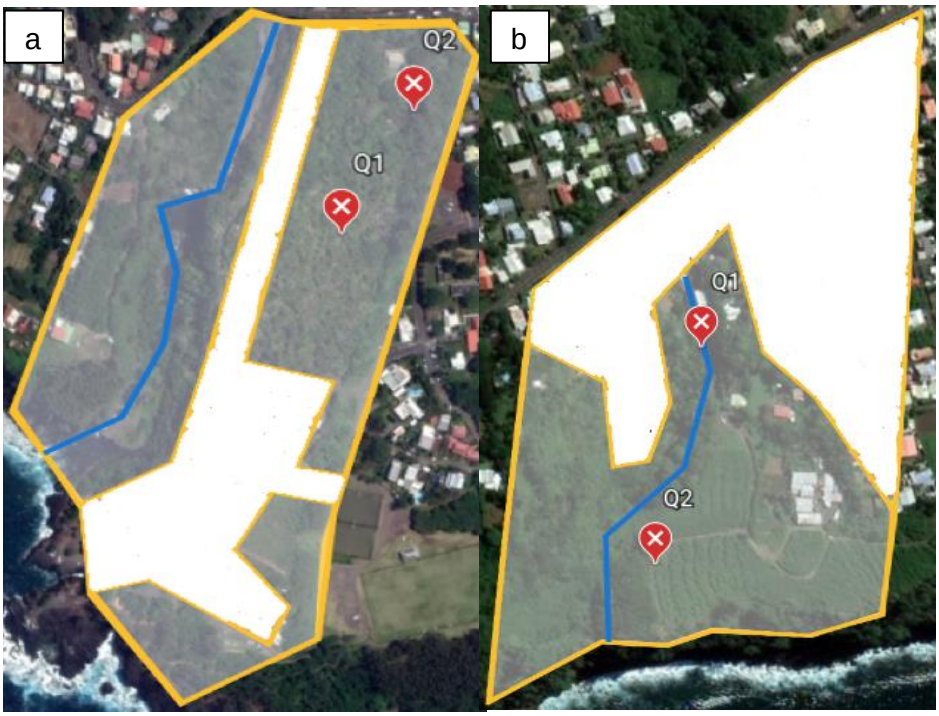
Effet Fixe	Estimation	Erreur-standard	Z_value	P_value
Intercept	2.12916	0.84190	-2.529	0.01144 *
Quantité de pluie	-0.09350	0.06985	-1.339	0.18070
SiteRVD	-0.85785	0.50414	-1.702	0.08883 .
Quantité d'eau	0.06664	0.02402	2.775	0.00553 **

Concernant l'étude sur les *Ae. albopictus*, seule une analyse suivant une loi de Poisson a été effectuée et il y a significativement moins de larves à la Ravine Damour qu'à Langevin (Tableau 4). Concernant l'étude des deux espèces confondues, aucun modèle ne donne de résultats concluants.

Tableau 4 : Coefficients à effets fixes d'un modèle de Poisson à effets mixtes de l'impact du site, et de la pluviométrie sur la proportion de larves d'*Aedes albopictus* observée.

Effet Fixe	Estimation	Erreur-standard	Z_value	P_value
Intercept	-1.87143	0.46004	-4.068	4.74e-05 ***
Quantité de pluie	0.03453	0.01339	2.578	0.00992 **
SiteRVD	-0.61407	0.5873	-1.045	0.29581

1.3. Estimation de la densité larvaire dans les sites d'étude



Pour les deux sites, les zones ont été divisées entre habitations (en blanc sur les figures) et végétation (sans figuré). Pour le site de Langevin (Figure 10a), la zone de végétation mesure 12,5 hectares sur une zone d'étude de 17 hectares. Pour la ravine du chemin Damour (Figure 10b), la végétation recouvre quant à elle 7,2 hectares sur une zone totale de 13 hectares.

Figure 10 : Vue aérienne des sites d'étude ((a) embouchure de la rivière Langevin et (b) la ravine de la rue Damour au le Plateau Vincendo), Saint Joseph, La Réunion

Tableau 5 : Estimation du nombre d'arbre (Pandanus) par site en fonction des données issues des quadrats effectués.

Site	Quadrat	Nombre de Pandanus pour 625m²	Nombre moyen de Pandanus	Nombre de Pandanus pour la zone de végétation
Langevin	Q1	61	81	16 200 pour 125 000m² (4032 pour le verger uniquement)
	Q2	101		
Ravine Damour	Q1	67	63	7 300 pour 72 000m²
	Q2	59		

Les études du suivi longitudinal ont montré une moyenne du nombre de larve d'*Ae. aegypti* par feuille de 0,17 pour les deux sites confondus. En effet, il n'y a pas de différence significative entre les sites

pour cette espèce. Avec une moyenne de 87 feuilles par arbre, cela fait donc un total de 239 598 larves d'*Ae. aegypti* au site de Langevin et 107 967 pour la Ravine du Chemin Damour.
Pour *Ae. albopictus*, il y a une différence significative du nombre de larves trouvées par feuille entre les deux sites, qui est de 0,29 pour Langevin et 0,20 pour la Ravine du Chemin Damour. Cela fait donc un total de 405 000 larves d'*Ae. albopictus* pour Langevin et 124 100 larves pour le Ravine du Chemin Damour. Ces données représentent donc KLtot (la capacité de charge totale du milieu).

1.4. Modélisation spatiale et temporelle

L'outil Arbocarto renvoie le nombre d'œufs, de larves, de femelles de moustiques en recherche d'hôte et d'adulte total dans les deux parcelles étudiées (Figure 11). Ces données sont mises en parallèle avec les précipitations et les températures observées dans les zones étudiées. Ici, la modélisation a été effectuée du 1er janvier au 31 mai 2021.

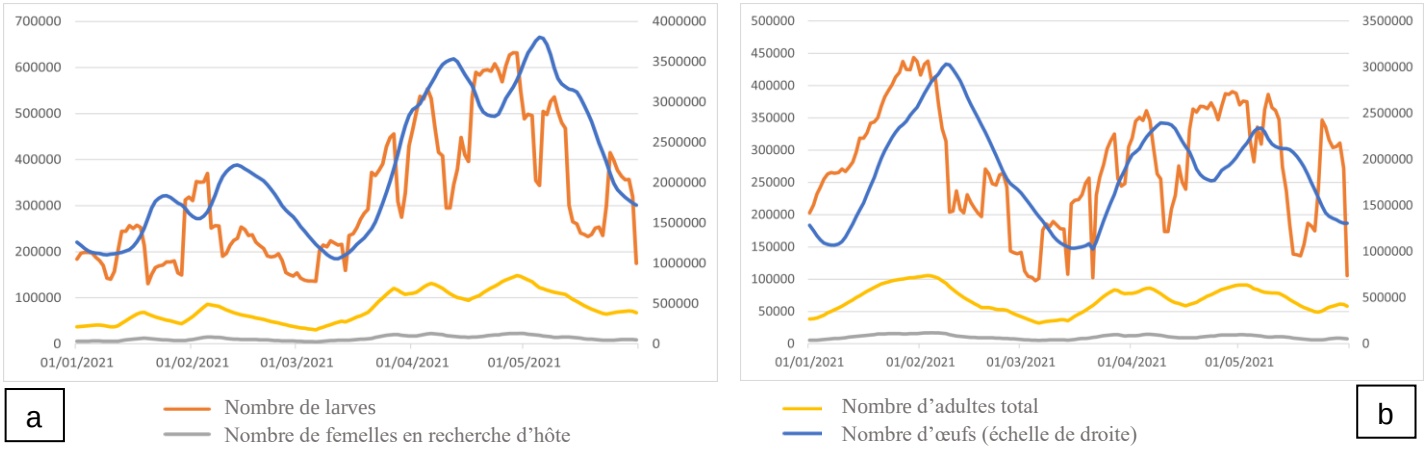


Figure 11 : Sortie de la modélisation du 1er janvier au 31 mai 2021 pour les sites de Langevin (a) et de la ravine du chemin Damour (b)

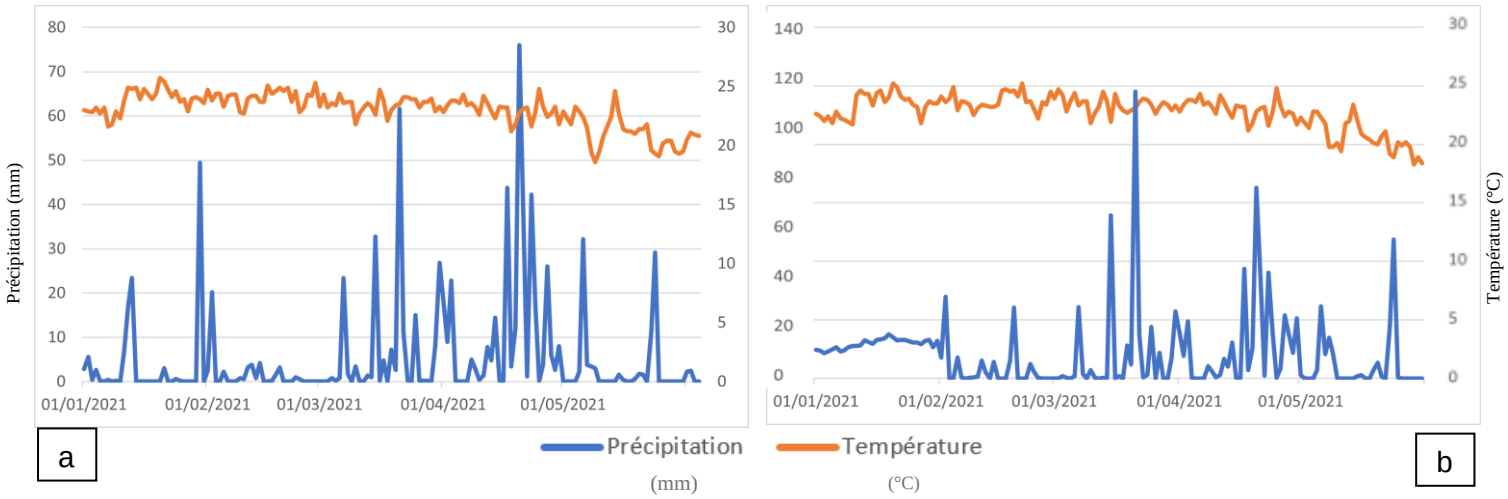


Figure 12 : Courbes de précipitation et de température du 1er janvier au 31 mai 2021 pour les sites de Langevin(a) et de la ravine du chemin Damour (b)

Les données des jours de prélèvement des larves dans les *Pandanus* ont été confrontées directement aux sorties du modèle pour les dates en question (figure 13). Il en a été de même pour les différentes dates de récoltes d'adultes dans les pièges BG-sentinel (Figure 14).

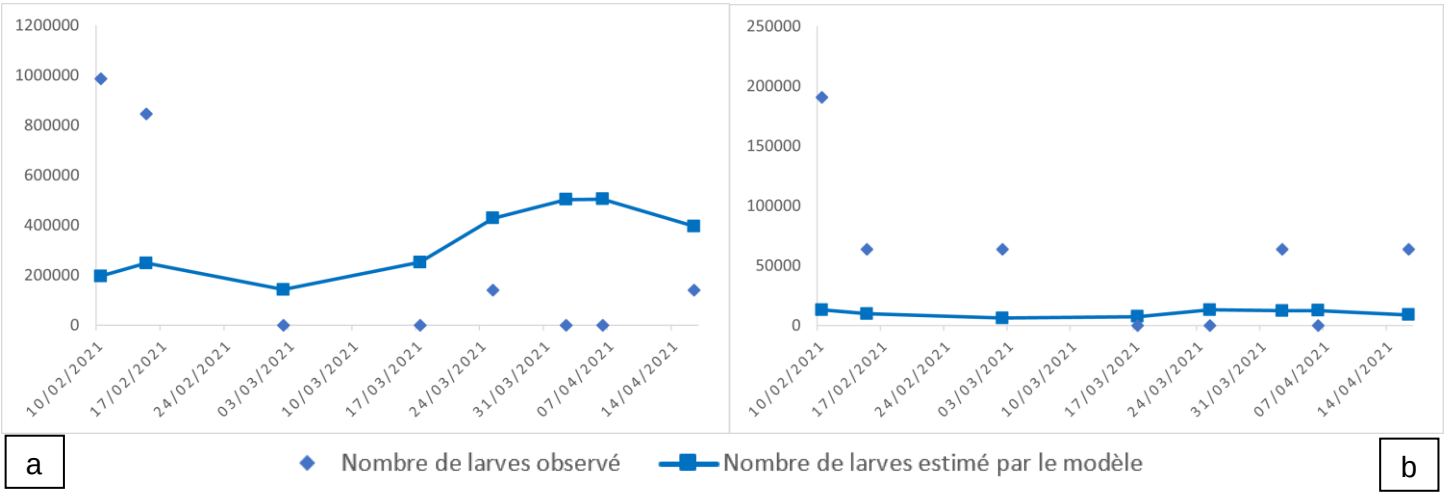


Figure 13 : Nombre de larves d'*Aedes aegypti* observées et nombre estimé issu de la modélisation pour les jours de prélèvements dans les zones de Langevin (a) et de la ravine du chemin Damour(b)

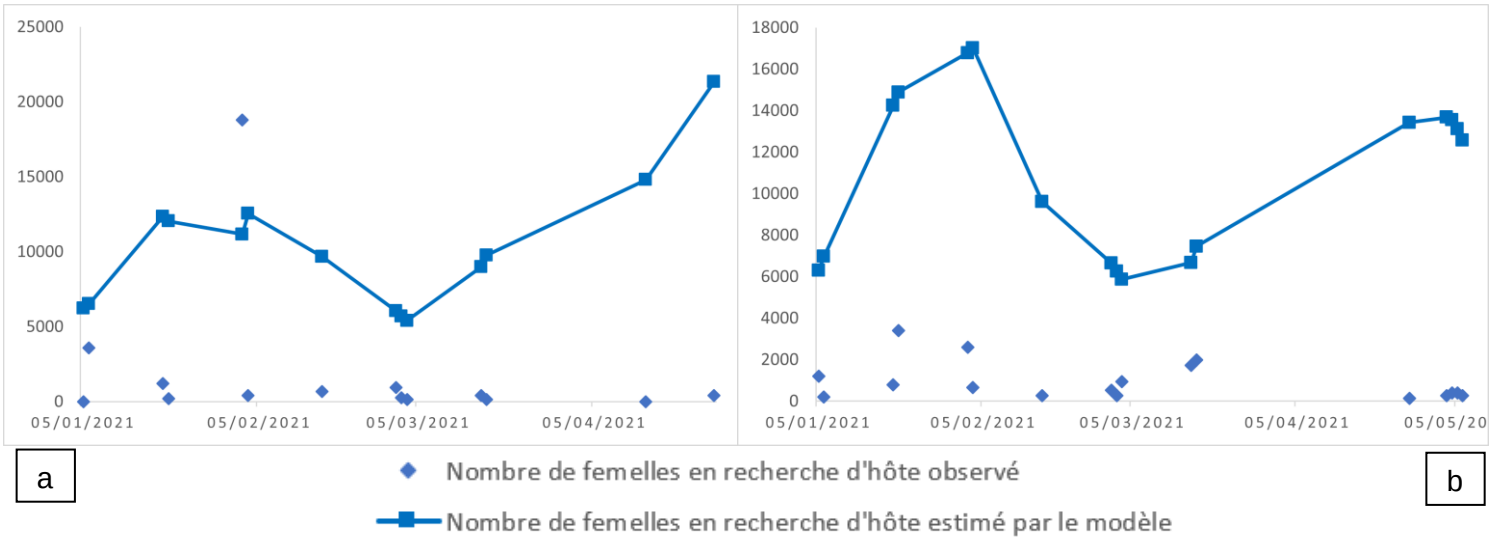


Figure 14 : Nombre de femelles d'Aedes aegypti en recherche d'hôtes observées et nombre estimé issu de la modélisation pour les jours de récolte dans les zones de Langevin (a) et de la ravine du chemin Damour (b)

2. Repas de sang et préférence trophique

Lors de l'étude de la récolte du suivi longitudinal adulte, aucune femelle gorgée n'a été trouvée tandis que pendant les sessions de fauchage, un total de 14 femelles gorgées (Figure 15) ont été capturées. Il s'agit uniquement de femelles d'*Ae. albopictus* (Tableau 6). Durant ce protocole, peu de mâles ont été récoltés volontairement. En effet, lors de l'aspiration dans les filets fauchoirs, un premier tri a été effectué quand cela a été possible et les mâles ont été relâchés. Les 14 femelles

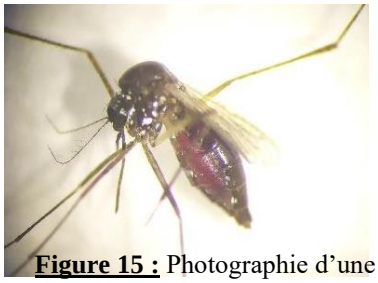


Figure 15 : Photographie d'une femelle d'*Aedes albopictus* gorgée vue à la loupe binoculaire ©*Raphaëlle Hoarau*

albopictus récoltées ont été stockées et n'ont pas été envoyées à séquencer, dans l'attente de récolter des femelles gorgées de l'espèce *Ae. aegypti*.

Tableau 6 : Nombre de moustiques capturés lors des différentes sessions de fauchage

Site de fauchage	Heure de Fauchage	Nombre de femelles d'*Ae. albopictus* gorgées	Nombre de femelles d' *Ae. aegypti* gorgées	Nombre de mâles *Aedes sp.*	Nombre total de moustiques
Ravine Damour	10h	3	0	3	45
Verger	10h	11	0	4	38
Verger	13h30	1	0	32	53
Verger	11h30	0	0	3	14

3. Rythme d'activité nycthéméral :

Durant les 48 heures de récolte réalisé dans le Verger de Langevin, 263 moustiques ont été collectés. Parmi eux, 93 *Ae aegypti*, 156 *Ae albopictus*, 13 *Culex* et 1 moustique *Aedes* non identifié. Il y a une démarcation entre les deux espèces au fil des heures et cela sur les deux jours d'étude (Figure 16). En effet, la présence d'*Ae. albopictus* est plus étendue dans le temps que celle d'*Ae. aegypti*.

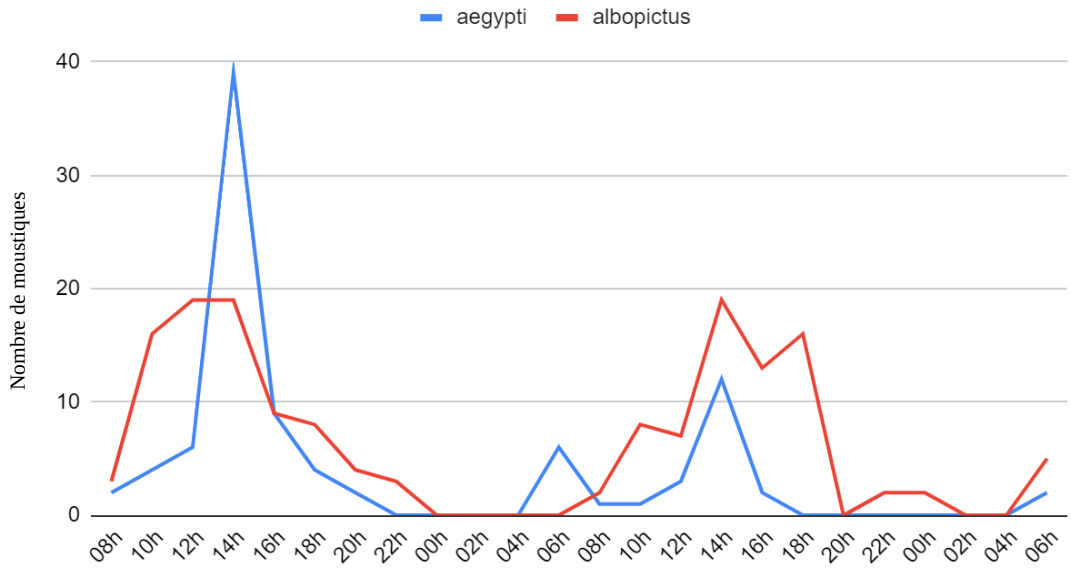


Figure 16 : Rythme d'activité des deux espèces d'*Aedes sp*. durant 48 heures dans le site du Verger de Langevin, St Joseph, La Réunion.

En effet, il y a une différence significative entre les mâles *aegypti* et *albopictus* (Test du χ^2 =14.289, df = 5, p-value = 0.01387) ainsi qu'entre les femelles des deux espèces (Test du χ^2 = 33.413, df = 7, p-value = 2.218e-05).

Il y a également une différence remarquable entre les mâles et les femelles attirés en termes de dynamique (Figure 17). Pour les moustiques de l'espèce *aegypti*, il n'y a cependant pas de différence significative entre les sexes (Test du χ^2 = 11.383, df = 7, p-value = 0.1228) contrairement aux mâles et aux femelles d'*Ae. albopictus* qui, eux, présentent une différence significative (Test du χ^2 = 23.68, df = 7, p-value = 0.001297).

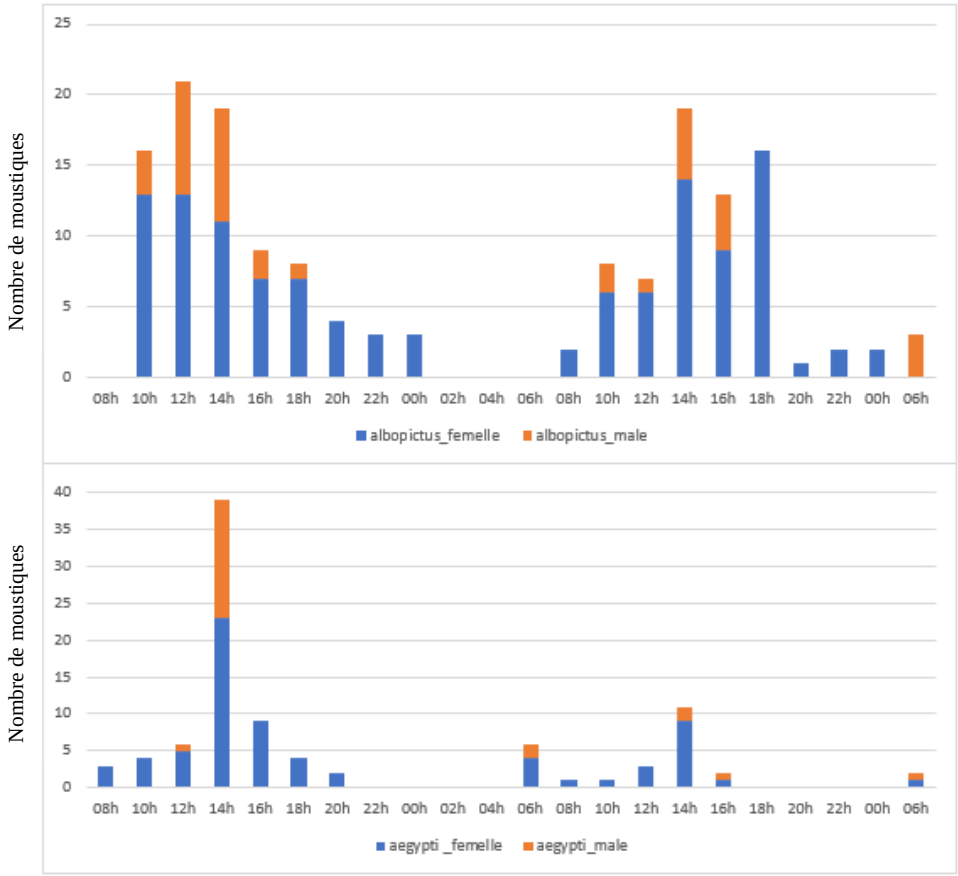


Figure 17 : Nombre de moustique *Aedes* mâles et femelles en fonction des espèces et des heures de capture sur 48 heures

Discussion

1. Etude de la dynamique et de la productivité larvaire d'*Aedes aegypti* dans les Pandanus

1.1 Identification et échantillonnage des sites préférentiels de ponte d'*Ae. aegypti*

L'étude verticale réalisé dans les *Pandanus* a permis de mettre en évidence que les moustiques femelles du genre *Aedes* pondent préférentiellement dans certaines parties de l'arbre et pour des raisons pratiques nous avons retenu la partie intermédiaire pour réaliser les autres travaux visant à explorer la dynamique et la production larvaire d'*Ae. aegypti* dans les *Pandanus*. Cependant, ce protocole n'a été fait que sur 3 *Pandanus*, ce qui n'est pas un échantillon représentatif. En effet, comme le montre ces valeurs observées, la différence marginale entre les parties B et C n'est pas significative, cela peut être dû au fait de ne pas avoir réalisé de réplica de ce protocole, et réalisé des observations sur un nombre suffisant d'arbres. De plus, certains vacoas, pouvant atteindre plusieurs mètres de hauteur, ont une partie exploitable très haute. Les différentes parties de ces derniers n'ont pas pu être étudiées du fait de l'inaccessibilité des prélèvements. Ainsi, tous les échantillons recueillis lors de cette étude se trouvent à une hauteur de 0 à 170cm. Ces résultats ne sont donc peut-être pas valables pour les hauteurs d'arbre supérieures. Toutefois, il est important de rappeler que la forme ancestrale sylvatique d'*Ae.*

aegypti à laquelle se réfère écologiquement *Ae. aegypti* de La Réunion est décrite en Afrique (X) ou à Mayotte (X) comme pouvant se développer dans des gîtes naturels végétaux tels que les trous de bambous ou les creux d'arbres mais le souvent au sol ou à hauteur humaine.. Dans notre étude, dans la partie basse des Pandanus, qui a été comptabilisée, il a souvent été remarqué que les feuilles pouvaient pourrir très rapidement et donc ne pas contenir autant d'eau que les feuilles encore en bon état des parties intermédiaires et hautes de l'arbre. Une réévaluation de la partie exploitable des feuilles de *Pandanus* serait nécessaire pour affiner cette étude.

1.2. Suivi longitudinal larvaire dans les *Pandanus*

Le suivi longitudinal a permis de mieux comprendre l'écologie de l'espèce, peu connue, qu'est *Ae. aegypti* dans le contexte réunionnais. Il est en effet très intéressant de comprendre le rôle de l'arbre dans le cycle de vie de ce moustique, qui représente les gîtes larvaires préférentiels de cette espèce dans les sites d'étude. Les études préliminaires réalisées en décembre-janvier avaient montré que les autres gîtes naturels de la zone (trous de bambous, creux de rochers, creux d'arbres, …) n'hébergeaient que des larves d'*Ae. albopictus* et de *Culex sp*. pour les creux de rochers.

Lors de ce suivi, quelques limites peuvent être relevées et discutées. En effet, lors des prélèvements, peu de larves d'*Aedes* ont généralement été trouvées, et ce peu d'effectif affaiblit la puissance de la majorité des tests statistiques.

Aussi, peu d'arbre ont été étudiés et la fréquence d'échantillonnage est fixée à toutes les deux semaines uniquement, alors que le temps entre deux pontes pour la même femelle est connu comme étant plus court, de l'ordre de 2 à 3 jours. Il aurait été préférable d'augmenter le nombre d'arbres par site ainsi que la fréquence de prélèvement.

Il aurait été également très intéressant d'effectuer ce suivi longitudinal larvaire sur une année pour avoir une meilleure idée de l'écologie de cette espèce au fil des mois et selon les différentes saisons. Ainsi, l'occupation des autres gîtes naturels disponibles dans la zone comme les trous de rochers ou les creux d'arbre par *Ae. aegypti* pourrait varier dans l'année. D'autant plus que ce genre d'étude doit être réalisée dans le contexte des changements climatiques. En effet, à l'île de La Réunion, la saison chaude est censée être particulièrement humide à contrario de la saison froide. Mais cette année 2021 a été spéciale et les mois de janvier et février, généralement pluvieux, ont été très secs alors que le mois d'avril a été particulièrement humide.

Les données obtenues durant le suivi longitudinal larvaire ont permis de montrer qu'il n'y a pas de différence de dynamique de l'espèce *Ae. aegypti* en fonction des sites. Ce résultat conforte alors le choix de ces sites comme site témoin et site des lâchers pour les essais pilotes de la TIS renforcée réalisés dans le cadre du projet REVOLINC.

Il a été noté aussi au cours de l'étude une inversion de la tendance quant à la présence des deux espèces dans ces gîtes : les larves d'*Ae. albopictus* deviennent majoritaires à partir d'Avril dans les feuilles de Pandanus au détriment d'*Ae. aegypti*. Cela peut être expliqué par le fait que sur l'île, *Ae. albopictus* reste l'espèce majoritaire et qu'il y a une certaine compétition interspécifique au sein même de la niche écologique que représente la feuille de *Pandanus* comme cela a été observé dans d'autres types de gîtes que ces 2 espèces partagent que ce soit à Mayotte (reference) ou en Amérique du nord (Réference). Cette compétition interspécifique au niveau larvaire entre les 2 espèces d'*Aedes* semble être température dépendant (Reference) : cela pourrait expliquer la prépondérance d'*Ae. albopictus* dans ces gîtes avec l'arrivée progressive de l'hiver austral. Il s'agît également du vecteur principal de la dengue et l'augmentation de sa population dans notre étude peut être mise en relation avec l'explosion des cas de dengue, que l'île connaît depuis la fin du mois d'avril (« L'épidémie explose : Dengue : deux patients sont décédés, 1.416 cas en une semaine » 2021). Aussi, il est remarqué une diminution du nombre de larves des deux espèces dans les *Pandanus* pour les derniers prélèvements réalisés en mai qui coïncident avec l'arrivée progressive de l'hiver austral.

De plus, durant ce protocole, il a été remarqué que le nombre de larve dépendait des arbres choisis. Effectivement, certains arbres abritaient la majorité des larves observées. Ces arbres avaient pour point commun ded'avoir dans leurs feuilles de l'eau chargée en matière organique végétale. Une

étude précédente réalisée à Mayotte a montré que les larves d'*Ae. aegypti* et *Ae. albopictus* cohabitaient dans des gîtes riches en matière organique (référence).. Malheureusement, dans notre étude, la quantification de cette matière organique n'a pas pu être faite et donc le lien avec le développement des larves et le développement larvaire, non plus. Cependant, il est clair que lorsque l'eau était trop claire, les larves ne peuvent pas se nourrir et se développer ni arriver au stade identifiable. En effet, il a été démontré que les moustiques se développent parfaitement avec de la matière organique à hauteur de 0,12mg par larve et par jour (Ristola et al. 1999). Alors la matière organique contenue dans les feuilles doit avoir un rôle important. Il serait intéressant de l'étudier.

Aussi, il important de prendre en compte l'ensoleillement et donc l'emplacement de l'arbre ainsi que sa hauteur. En effet, certains arbres, directement exposés au soleil durant la plus grande majorité de la journée, ont tendance à être beaucoup plus secs que les autres. Si l'eau de pluie venait à s'accumuler, elle viendrait à s'assécher très rapidement. De plus, il a également été remarqué que les plus petits *Pandanus*, situés en dessous d'autres arbres (d'espèce différentes) et à l'ombre, ont tendance également à ne pas contenir d'eau, puisqu'ils sont moins susceptibles de recevoir directement l'eau des précipitations et aussi les feuilles mortes des arbres se trouvant au-dessus vont tomber et s'accumuler entre les feuilles de Vacoa et, ainsi, bloquer l'entrée d'eau dans les gîtes larvaires que représentent les feuilles.

Concernant les *Pandanus* échantillonnés chez les trois habitants, les données n'ont pas été concluantes, du fait du retard des prélèvements comparés aux restes des sites et, là aussi, au manque d'arbres supplémentaires inclus dans l'étude. Pour évaluer le risque de ces gîtes larvaires près de la population, d'autres maisons et d'autres arbres doivent être sélectionnés. Pour cela, en perspective de ce suivi, une autre étude sera menée et constituera la suite de l'étude de l'écologie vectorielle de cette espèce. Ce protocole supplémentaire consiste à continuer le suivi longitudinal larvaire et lorsqu'un nombre particulièrement élevé de larves de moustique est trouvé dans les prélèvements, un transect sera réalisé en s'éloignant perpendiculairement aux ravines le lendemain (si les conditions météorologiques sont similaires), au niveau des deux sites. Sur ce transect, des Vacoas seront sélectionnés et échantillonnés de manière ponctuelle (tous les 50 mètres sur 200 mètres). Des maisons se trouveront sur la ligne du transect et le propriétaire sera questionné quant à sa possession d'un éventuel *Pandanus* dans son jardin. Nous pourrions ainsi vérifier la présence de larves d'*Aedes*, et notamment de l'espèce *Aedes aegypti* dans les *Pandanus* domestiques à proximité des habitants et l'absence de cette espèce dans le tissu urbain entre les ravines.

Aussi, il est important de noter que les *Pandanus* constituent un genre d'arbre très présent dans le sud sauvage de La Réunion, ce qui constitue un risque, mais ce n'est pas le seul. A l'échelle de St Joseph, *Ae. aegypti* est retrouvé dans des creux de rochers et des trous d'arbres et il serait important d'intégrer ces gîtes dans l'étude de l'écologie vectorielle de cette espèce.
Cependant, il est connu, depuis longtemps, que les moustiques peuvent pondre dans les feuilles engainantes des plantes, comme celles des cocotiers par exemple (Haworth 1924), ou des bananiers (Pajot 1972). Le *Pandanus* n'a pas été très étudié en ce sens bien qu'il est connu pour ses propriétés de retenue d'eau (Cordellier et al. 1975), notamment par la population locale. En effet, les résultats de ce genre d'études écologiques de terrain sont rares, étant donné la difficulté de la mise en place d'un tel suivi sur le long terme. En outre, ce type de gîte peut être difficile d'accès, de petite taille, ou bien même instable.
Ces données ouvrent cependant la voie à d'autres études qui viseraient à explorer en détail l'écologie de cette espèce *aegypti* peu connue sur l'île que ce soit dans les Pandanus et dans les autres gîtes larvaires naturels potentiels (trous d'arbres, creux de bambous).

1.3. Estimation de la densité larvaire dans les sites d'étude

L'étude du nombre de *Pandanus* par la méthode du quadrat n'est pas le protocole le plus précis étant donné l'hétérogénéité des milieux à l'île de La Réunion et a conduit probablement à une

surestimation. En effet, l'étude de ce paramètre a nécessité de se déplacer sur le terrain, et couvrir une surface raisonnable à l'échelle humaine, mais malheureusement peu représentative puisque cela ne représente qu'environ 1% de la surface pour chacun des sites. De plus, la division des sites en « zone habitée » et « zone de végétation » n'a pas été très précise puisque cela a été réalisé grâce à une image satellite de Google Earth. Aussi, la zone de végétation n'est pas peuplée que de *Pandanus*. En effet une grande partie de la zone de la ravine du chemin Damour est recouvert par un champ de cannes à sucre. Ensuite concernant la densité larvaire, les calculs sont assez approximatifs. En effet, le nombre de larves par arbre a été calculé pour une moyenne de 87 feuilles par Pandanus. Or, les parties exploitables sont souvent de tailles différentes et donc ne comptent pas ces 87 feuilles comme ayant une capacité d'accueil de larves similaire.

1.4. Modélisation spatiale et temporelle

Malgré ces limites de l'étude, notre approche de modélisation a permis d'estimer l'abondance d'œufs, de larves, de femelles en recherche d'hôte et d'adultes totale. Grâce à cela, la dynamique du moustique *Ae. aegypti* a pu être notée selon les températures et les précipitations du milieu.
Avec les données obtenues pour le suivi quotidien, il semblerait que le nombre de larves et d'œufs soit lié à la pluviométrie, pour le site de Langevin, ce qui est normal puisqu'il s'agit des phases aquatiques de la population. En effet, il y a une forte augmentation de la pluie vers la fin du mois d'avril. Aussi, l'augmentation du nombre de larves prédites est en correspondance avec le pic épidémique que l'île a connu dans la même période. Cependant, il est étrange qu'il y ait peu de femelles en recherche d'hôte mais aussi d'adultes en général sur toute la période étudiée.

En ce qui concerne les larves prélevées, les données du terrain ne se superposent pas vraiment aux sorties du modèle. En effet, mis à part les deux premiers prélèvements de terrain qui ont donné un grand nombre de larves par feuille de *Pandanus* et donc une haute estimation de la population larvaire, le modèle donne souvent pour le reste de l'étude un nombre de larve plus élevé et cela pour les deux sites. Ceci est lié au fait que les derniers prélèvements n'ont pas été efficaces pour les arbres sélectionnés pour le suivi. De ce fait, la population larvaire observée est estimée à 0, ce qui est évidemment faux. De part ces chiffres, il est important de comprendre que le choix unique de 10 arbres (5 par site) n'est pas bon et rajoute de nombreux biais.

Aussi, les données issues de la modélisation semblent trop élevées et pourraient provenir de la surestimation du nombre de *Pandanus* dans la zone ou du nombre de feuilles exploitables par *Pandanus*. Quoiqu'il en soit cette estimation doit être affinée afin de réajuster le modèle correctement. Pour cela, la densité des *Pandanus* doit être revue en ne considérant pas, cette fois, les parties végétalisées occupées par les champs de canne par exemple. De plus il est à noter que certaines estimations du nombre de larves sont parfois supérieures à la capacité de charge mise en place au départ car le KL du modèle n'exprime non pas le maximum d'individu que peut contenir un milieu, mais plutôt une capacité de charge standard qui peut augmenter avec les pluies (Tran A., communication personnelle, juin 2021, La Réunion).

Au-delà du biais de la surestimation du nombre de *Pandanus*, qui sert à connaître la capacité de charge, il y a aussi le fait que nous ne savons pas réellement si une feuille de Pandanus représente un gîte fixe ou variable. En effet, pour que la feuille soit un gîte 100% variable, il faudrait un lessivage total de la plante par la pluie. Or, il n'est prouvé nulle-part que l'eau contenue dans le *Pandanus* puisse déborder et être ainsi renouvelée. Ici, nous avons estimé la partie variable à 95%, mais il aurait été intéressant de tester différents Kl_{var}.

Il est connu que les trous de rocher et les creux d'arbre constituent des gîtes temporaires (Nicoli et al. 1960) mais il n'en est rien à propos des feuilles engainantes. C'est pourquoi, un protocole doit être mis en place pour savoir si le *Pandanus* constitue un gîte permanant ou temporaire. Pour cela, plusieurs modèles peuvent être faits, en changeant la proportion de la capacité de charge variable, et ainsi observer ce qui se rapproche le plus des données réelles du terrain tout en continuant les prélèvements pour le suivi longitudinal larvaire.

Concernant la confrontation des résultats du terrain pour les adultes et la modélisation du nombre de femelles en recherche d'hôte, là aussi, cette dernière renvoie des abondances beaucoup plus élevées que ce qui a été observé sur le terrain. Uniquement le nombre de femelles d'*Ae. aegypti* a été comparé aux données de la modélisation. En effet, on suppose que les femelles capturées sont celles en recherche d'hôte étant donné que l'appât utilisé est du CO_2, censé imiter la respiration de l'homme. C'est pour cela que le paramètre de sortie du modèle choisi est le nombre de femelles en recherche d'hôte. Cependant, il aurait été intéressant de comparer les chiffres issus des études de terrain avec le nombre d'adultes au total puisqu'il est connu que ces pièges capturent également des mâles. C'est d'ailleurs grâce au nombre de mâles marqués recapturés que l'efficacité des pièges a pu être démontrée dans le site de la ravine du chemin Damour. Par ailleurs, extrapoler ce résultat au nombre de pièges de la zone de Langevin a pu conduire à quelques erreurs, qui fait que la population d'adulte observée a été mal estimée autour de la rivière Langevin. En effet, excepté un jour de capture, le modèle renvoie toujours une estimation 2 à 8 fois plus grande que les résultats provenant du terrain. Nous pouvons, en ce sens, remarquer une limite du modèle.

Aussi, dans cette étude, la simulation grâce au modèle n'a été effective que pour l'espèce *Ae. aegypti*. *Aedes albopictus* aurait pu être étudié également. Néanmoins, l'efficacité de ce modèle a pu être d'ores et déjà prouvée pour cette dernière espèce. En effet, les prédictions de cet outil sont cohérentes avec les abondances observées d'*Ae. albopictus* à La Réunion (Tran et al. 2020). Les simulations concernant cette espèce sont faites en prenant principalement des capacités de charge issue de gîtes artificiels (des sous-pots, des pneu…), mais nous savons maintenant qu'un paramètre peut être ajouté, puisque des larves d'*Ae. aegypti* sont aussi retrouvées entre les feuilles de *Pandanusn* sans compter les autres gîtes naturels comme les creux de rocher et les trous d'arbres. Par ailleurs ce modèle, pour *Ae. albopictus*, est désormais utilisé en routine par les services en charge de la lutte antivectorielle sur l'île, comme l'ARS, puisqu'il s'agit de l'espèce majoritairement vectrice de la dengue à La Réunion.

Ce modèle, adapté sur l'espèce *Ae. aegypti* possède des limites, comme tout outil de prédiction, mais informe déjà sur la dynamique de ce moustique. Il pourra évidement être utilisé pour mieux comprendre l'écologie de cette espèce de moustique d'intérêt médical dans le contexte réunionnais, afin de mieux surveiller et d'engager d'éventuelles actions de LAV contre ce dernier.

2. **Repas de sang et préférences trophiques**

Ce protocole a été effectué avant le protocole du rythme d'activité des moustiques. Avant cela, l'activité de l'espèce *Ae. aegypti* n'avait pas encore été étudiée à La Réunion. Ainsi, les horaires préférentiels de piqûres n'étaient pas connus et ce protocole n'a pas pu être adapté après les pics, afin de capturer les femelles gorgées. Cependant il est remarqué des concordances entre les récoltes du fauchage et celles des pièges BG Sentinel posés durant les 48 heures. Le jour où le fauchage a été réalisé l'après-midi, un plus grand nombre de mâle a été trouvé. Cela est dû à une plus grande activité des mâles en général à cette période de la journée, ou bien à une moins bonne rigueur dans l'échantillonnage du terrain au moment de l'aspiration. Quoiqu'il en soit, cette donnée informe quant à l'écologie de cette espèce, notamment concernant le moment de reproduction de ces moustiques. Cela peut être utile au projet REVOLINC pour lâcher les moustiques mâles stériles au moment le plus opportun pour la rencontre entre le mâle et la femelle et ainsi optimiser la TIS renforcée.

Aussi, comme durant ce protocole, aucune femelle *aegypti* n'a été capturée, il est prévu que cet échantillonnage soit de nouveau effectué. Ici, les femelles voulant se reposer après leur repas de sang seront attirées par des gîtes de repos artificiels qui seront créés grâce à des fûts contenant un tissu humide. Ces fûts resteront sur place, au sol, à moitié enterrés et certains jours, un fauchage sera effectué non loin de ces gîtes artificiels. Par ailleurs, les moustiques pourront directement être aspirés depuis le gîte de repos crée, récupérés et envoyés à Montpellier pour être analysés. Les femelles de la forme

domestique urbaine pantropicale *Ae. aegypti aegypti* sont connues pour leur endophagie et endophilie marquées : elles piquent les hommes et se reposent à l'intérieur des habitations. Les gîtes de repos de la forme sylvatique ancestrale africaine « formosus » sont décrits comme étant dans la végétation (Cordelier et al., 1974) même si peu de travaux les ont étudiés précisément. Toutes les tentatives réalisées par le passé soulignent le faible rendement des captures au filet dans la végétation basse pour récolter des femelles sylvatiques d'*Ae. aegypti*. On suppose qu'*Ae. aegypti* à La Réunion, présentant les caractères écologiques de la forme sylvatique ancestrale africaine « formosus », jamais retrouvé à l'intérieur des habitations, est supposée piquer et se reposer à l'extérieur dans la végétation (Bagny et al. 2009). Cependant, il n'est pas sûr de retrouver des femelles *aegypti* dans la végétation basse, ou bien au repos dans les gîtes artificiels dans les sites d'étude de St Joseph. Les gîtes de repos dans ce contexte particulier pourraient être dans la végétation haute, ce qui constituerait un challenge supplémentaire pour échantillonner des femelles.

En effet, il semblerait que certaines souches d'*aegypti*, notamment la souche sylvatique d'Afrique piqueraient les oiseaux, ce qui fait que leurs gîtes de repos seraient en haut des arbres. Cela représente une donnée difficile à prouver. Aussi, aux Antilles, il a été démontré que *Aedes aegypti* utilise comme gîte de repos les chambres à coucher, les salons et les cuisines des habitations (Chadee 2013). Or à La Réunion, ce sont les *Ae. albopictus* qui sont le plus retrouvés dans ces lieux. En perspective de ce stage, il serait très intéressant de caractériser les différents lieux de repos qu'utilisent les moustiques de l'espèce *Aedes aegypti* à La Réunion.

Une autre approche consisterait à réaliser des expérimentations de choix d'hôte en conditions contrôlées, c'est-à-dire étudier le gorgement de femelles issues de pontes sauvages vis-à-vis de différentes proies présentes sur le terrain dont l'homme. Ce type d'expérimentation à permis de montrer que les femelles d'Ae. albopictus à La Réunion exhibaient un comportement alimentaire opportuniste sur un large éventail d'hôtes, des vertébrés à sang froid aux vertébrés à sang chaud,

En outre, la meilleure technique pour obtenir des femelles gorgées, reste la capture sur appât humain (Service 1977; Govella et al. 2009). En effet, au Bénin une étude a été menée et grâce à cette technique, près de 250 femelles aegypti ont été retrouvées gorgées. Parmi elles, 86,80% ont pris leur repas de sang chez l'Homme (Anges et al. 2018). Ce protocole, ici, ne sera cependant pas mis en place pour des raisons éthiques au vu des nombreux cas de dengue recensés dans ces zones d'étude. Globalement pour *Ae. aegypti aegypti*, tous les intermédiaires existent entre les populations domestiques où l'anthropophile peut atteindre 100% et celles qui se développent dans certaines forêts est-africaines et qui ne piquent jamais l'homme. La polyphagie de ce moustique est extrême puisque des analyses ont révélé la présence, dans l'estomac des femelles, de sang de primates, de bovidés, de rongeurs, de reptiles et d'oiseaux. Ceci conduit à définir chaque fois dans la région prospectée les rapports entre ce vecteur et l'Homme. Les préférences trophiques d'*Ae. aegypti* à La Réunion pourraient être étudiées plus précisément par des approches expérimentales comme celles réalisées sur *Ae. albopictus* (Delatte et al., 2010).

3. **Rythme d'activité nycthéméral :**

Le protocole effectué pendant 48 heures a permis de mettre en évidence une certaine dynamique des espèces du genre *Aedes* à La Réunion. Cependant, un réplica de ce protocole aurait pu être fait afin de fortifier les résultats obtenus, d'autant plus que le deuxième jour, il a été remarqué un débit plus faible du CO_2. De plus, certaines données ne sont pas significativement différentes car peu de données ont été recueillies. En effet, regrouper pour les données des heures qui se suivent a été nécessaire pour en tirer des conclusions. De plus, cette dynamique, pour les deux espèces, n'a pas pu être mise en relation avec les différentes températures au cours de la journée, même si sur les 48 heures d'étude, les mêmes conditions météorologiques ont été observées par les agents sur le terrain (journée ensoleillée et température aux alentours de 23°C). Il aurait été intéressant de voir cette dynamique par temps de pluie, ou quelques jours après des jours de pluie. Aussi, ce protocole a été effectué au moment du changement de saison sur l'île. Or, il est connu que les moustiques sont plus actifs lorsque la

température est plus élevée et le temps plus humide, surtout *Ae. aegypti* qui résiste moins bien aux changements de climat que *Ae. albopictus* (Reinhold, Lazzari, et Lahondère 2018).

Il a été remarqué un pic d'activité unique pour l'espèce *Aedes aegypti*, résultats qui se confronte aux données de d'autres études. En effet, en Tanzanie, il a été prouvé une activité principalement diurne diphasique de cette espèce avec un pic matinal et un pic au crépuscule (Trpis et al., 1973.). Cette différence peut être due à la manière de capturer, puisque dans cette dernière étude, c'est un piège à appât humain qui a été utilisé.

Les variations journalières de l'activité sont donc très différentes d'une région à l'autre. En Afrique de l'Est, l'agressivité est à son maximum le matin entre 6 et 8 heures, se prolonge toute la journée et manifeste un pic secondaire entre 15 heures et 19 heures. Une activité résiduelle existe également de nuit. En Afrique de l'Ouest, c'est le pic situé dans l'après-midi (15 heures à 18 heures) qui prédomine nettement tandis qu'une activité plus ou moins importante se répartit pendant toute la période diurne (Cordellier et al., 1974)

À la suite de cette dernière étude et en fonction des résultats obtenus, un protocole devait être mis en place pour étudier le taux de piqûre qui est calculé par le nombre de femelles capturées par homme et par jour.

Pour mesurer ce paramètre, deux points d'échantillonnages ont été définis dans la zone témoin, où la présence d'*A. aegypti* a été démontrée à la suite du protocole du rythme d'activité. Ces derniers devront être distancés d'au moins 25 mètres l'un de l'autre pour éviter la compétition. Ce protocole sera réalisé à la suite de ce stage, dans la prolongation de ce dernier.

L'échantillonnage se fera aux alentours du pic observé, c'est-à-dire vers14 heures. L'idéal serait de réaliser ces échantillonnages de 10 à 16 heures. Les moustiques seront capturés grâce à des doubles moustiquaires et un appât humain. Le principe de la capture consiste à attirer les insectes contre la première moustiquaire sous laquelle une personne protégée fait office d'appât. Pendant la phase d'attraction, la seconde moustiquaire (située autour de la première) est relevée à 50cm du sol. Lors de la phase de capture, celle-ci est rabaissée et la personne chargée de capturer les moustiques le fera grâce à un aspirateur. Il joue donc à la fois le rôle d'appât et de captureur. Les moustiques seront récoltés toutes les deux heures.

Après chaque séance de capture, les moustiques sont acheminés au laboratoire d'entomologie au Pôle 3P du Cirad de Saint Pierre. Ils seront tués (en étant placés au froid) et identifiés morphologiquement sous une loupe binoculaire puis seront classés selon le lieu et l'heure de capture. Une base de données sera ensuite mise en place.

Pour le calcul du paramètre a, le nombre total de moustiques femelles capturées par espèce sera divisé par le nombre d'homme-appât et de jour d'étude. Ainsi la capacité vectorielle pourra être mieux étudiée.

4. La capacité vectorielle

Cette étude a permis de mettre en évidence l'écologie vectorielle qui représente une grande part de la compréhension d'un individu vecteur de maladie. Le modèle Arbocarto permet d'estimer le paramètre m, donc le nombre de femelles *Ae. aegypti* par homme. Aussi, lorsque le paramètre a (le taux de piqûre) sera étudié, la partie de la formule concernant l'écologie de l'espèce vectrice sera entièrement connue. Ces données seront mises en relation avec le climat de l'île. En effet, il est connu que les fortes températures peuvent diminuer la capacité vectorielle d'*Ae. aegypti* vis-à-vis du virus Zika en Amérique (Onyango et al. 2020) et cette donnée serait à vérifier sur l'île.

Cependant il n'est pas possible d'évaluer la totalité des paramètres de la CV sur la durée limitée du stage et sans structures adéquates. Effectivement, l'étude de la compétence vectorielle, reste compliquée du fait de la manipulation virale qui en découle, et le 3P ne dispose pas de laboratoire de niveau de sécurité III. De plus, la compétence vectorielle est très importante dans la CV, puisqu'une simple apparition, beaucoup plus précoce, du virus de la dengue dans les glandes salivaires a réussi à

entrainer une augmentation estimée à 2 à 65 fois la CV d'*Ae. aegypti* vis-à-vis d'un génotype Américain de la dengue (Anderson et Rico-Hesse 2006). Pour la forme réunionnaise d'*Ae. aegypti*, la compétence vectorielle a commencé à être étudiée par Christophe Paupy, à l'IRD (UMR MIVEGEC) de Montpellier, et il a été démontré que cette souche, très fragile et spéciale, a la capacité de s'infecter par le virus de la Dengue, du Zika et du Chikungunya (Paupy C., communication personnelle, mars 2021, La Réunion).

Conclusion et perspectives

À La Réunion, l'espèce *Ae. aegypti* est peu connue. En effet, cette analyse préliminaire a permis de récolter ou d'estimer un certain nombre de paramètres nécessaire pour préciser le rôle vecteur de cette espèce de moustique en l'état dans les zones étudiées : la Rivière Langevin et la Ravine du Chemin Damour. Il est en effet important d'évaluer ce risque vectoriel en raison des changements environnementaux et climatiques affectant déjà l'île, voire aussi des changements liés à la LAV, pratiquée uniquement contre *Ae. albopictus* pour le moment. Il s'agit donc ici d'estimer les différents paramètres de la capacité vectorielle de l'espèce *Ae. aegypti* vis-à-vis de la dengue. Les paramètres étudiés durant ces cinq mois de stage ont été : l'abondance, les préférences de ponte, les préférences de gîtes de repos, le rythme d'activité quotidien et leurs variations spatiales et temporelles.

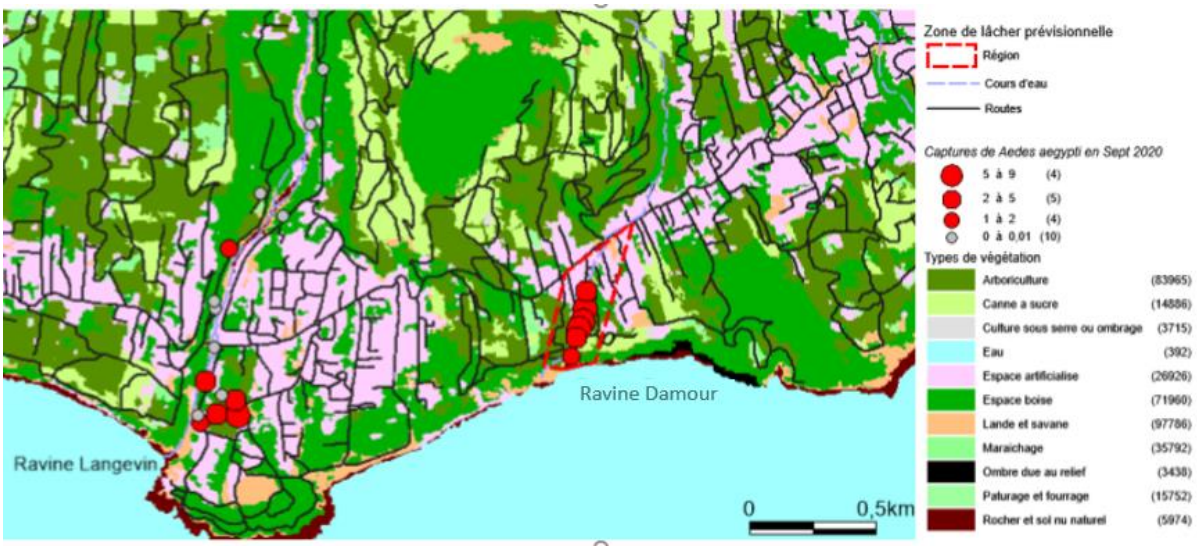
Comprendre l'écologie vectorielle de ce moustique au travers des différents traits de vie de cette espèce, est nécessaire afin d'engager les meilleures actions de surveillance et de luttes pour limiter les risques liés à la dengue.

Bien que de nouvelles informations ont été apportées quant à l'écologie vectorielle d'*Ae. aegypti*, de nombreuses données sont encore manquantes pour pouvoir estimer correctement le risque vectoriel. En effet, une partie de la CV est représentée par la compétence vectorielle, dont l'étude doit se poursuivre avec les partenaires.

De nombreux protocoles restent encore à faire dans le cadre de cette étude de l'écologie vectorielle d'*Ae. aegypti*, comme par exemple l'analyse du taux de piqure, c'est-à-dire le nombre de femelles de cette espèce par homme et par jour. Aussi, continuer la recherche de leurs gîtes de repos ainsi qu'étudier la diversité et les préférences trophiques de ce moustique est prévue pour la suite de ce stage.

Annexes

Annexe 1 : Photographies d'eau retenue entre les feuilles de *Pandanus utilis*
©Iris Claudel



Annexe 2 : Localisation de sites infestés par Aedes aegypti dans la commune de St-Joseph. Le polygone entouré par un pointillé rouge représente le site d'étude de la ravine Damour. Les densités de moustiques correspondent à des captures par piège et par jour (pour le suivi longitudinal). (Bouyer et Baldet, 2020)

Annexe 3 : Photographie d'un piège BG-Sentinelle à CO2 (la bouteille de CO2 se trouve à l'intérieur, pour attirer les moustiques ainsi qu'une batterie activant une ventilation aspirant les insectes attirés dans le piège). *©Raphaëlle Hoarau*

Annexe 4 : Schéma explicatif de l'utilisation d'un filet fauchoir
(©J.Goldstyn)

Bibliographie

Acharya, Krishna Prasad, Bhim Chaulagain, Narayan Acharya, Kshitiz Shrestha, et Supram Hosuru Subramanya. 2020. « Establishment and recent surge in spatio-temporal spread of dengue in Nepal ». *Emerging Microbes & Infections* 9 (1): 676-79. https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1740062.

Adhikari, Niran, et Dinesh Subedi. 2020. « The Alarming Outbreaks of Dengue in Nepal ». *Tropical Medicine and Health* 48 (1): 5. https://doi.org/10.1186/s41182-020-0194-1.

Anderson, Justin R., et Rebeca Rico-Hesse. 2006. « AEDES AEGYPTI VECTORIAL CAPACITY IS DETERMINED BY THE INFECTING GENOTYPE OF DENGUE VIRUS ». *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 75 (5): 886-92. https://doi.org/10.4269/ajtmh.2006.75.886.

Anges, Yadouleton, Dramane Gado, Koffi Ahadji-Dabla, Ramziyath Youssouf, Tchibozo C., Agolinou A., Tossou Roland, et Lamine Baba-Moussa. 2018. « Evaluation du comportement trophique de Aedes aegypti dans la ville de cotonou au sud du Bénin ». *European Scientific Journal* 14 (novembre): 70-79. https://doi.org/10.19044/esj.2018.v14n33p70.

Bagny, Leïla, Hélène Delatte, Serge Quilici, et Didier Fontenille. 2009. « Progressive Decrease in <I>Aedes Aegypti</I> Distribution in Reunion Island Since the 1900s ». *Journal of Medical Entomology* 46 (6): 1541-45. https://doi.org/10.1603/033.046.0644.

Ball, Tamara S., et Scott R. Ritchie. 2010. « Evaluation of BG-Sentinel Trap Trapping Efficacy for Aedes aegypti (Diptera: Culicidae) in a Visually Competitive Environment ». *Journal of Medical Entomology* 47 (4): 657-63. https://doi.org/10.1093/jmedent/47.4.657.

Bouyer, Jérémy, et Thierry Lefrançois. 2014. « Boosting the Sterile Insect Technique to Control Mosquitoes ». *Trends in Parasitology* 30 (6): 271-73. https://doi.org/10.1016/j.pt.2014.04.002.

Chadee, Dave D. 2013. « Resting Behaviour of Aedes Aegypti in Trinidad: With Evidence for the Re-Introduction of Indoor Residual Spraying (IRS) for Dengue Control ». *Parasites & Vectors* 6 (1): 255. https://doi.org/10.1186/1756-3305-6-255.

Chambers, Thomas J., Chang S. Hahn, Ricardo Galler, et Charles M. Rice. 1990. « Flavivirus Genome Organization, Expression, and Replication ». *Annual Review of Microbiology* 44 (1): 649-88. https://doi.org/10.1146/annurev.mi.44.100190.003245.

Chan, Miranda, et Michael A. Johansson. 2012. « The Incubation Periods of Dengue Viruses ». *PLoS ONE* 7 (11). https://doi.org/10.1371/journal.pone.0050972.

Chetry, Sumi, Saurav Jyoti Patgiri, Dibya Ranjan Bhattacharyya, Prafulla Dutta, et N. Pradeep Kumar. 2020. « Incrimination of Aedes aegypti and Aedes albopictus as vectors of dengue virus serotypes 1, 2 and 3 from four states of Northeast India ». *Access Microbiology* 2 (4). https://doi.org/10.1099/acmi.0.000101.

Cordellier, R, Max Germain, et Jean Mouchet. s. d. « Les vecteurs de fièvre jaune en Afrique », 19.

Cordellier, R, Max Germain, J P Hervy, et Jean Mouchet. s. d. « Guide pratique pour l'étude des vecteurs de fièvre jaune en Afrique et méthodes de lutte », 117.

« Début de la phase pilote pour la Technique de l'Insecte Stérile (TIS) à la Réunion | Site Web IRD ». s. d. Consulté le 11 février 2021. https://www.ird.fr/debut-de-la-phase-pilote-pour-la-technique-de-linsecte-sterile-tis-la-reunion.

Delatte, H., C. Paupy, J.S. Dehecq, J. Thiria, A.B. Failloux, et D. Fontenille. 2008. « *Aedes albopictus* , vecteur des virus du chikungunya et de la dengue à la Réunion : biologie et contrôle ». *Parasite* 15 (1): 3-13. https://doi.org/10.1051/parasite/2008151003.

« Dengue ». 2016. Institut Pasteur. 20 mai 2016. https://www.pasteur.fr/fr/centre-medical/fiches-maladies/dengue.

« Dengue à La Réunion : Le nombre de cas est stable mais le virus continue de circuler ». s. d. Consulté le 10 février 2021. https://www.lareunion.ars.sante.fr/dengue-la-reunion-le-nombre-de-cas-est-stable-mais-le-virus-continue-de-circuler.

« Dengue et dengue sévère ». s. d. Consulté le 10 février 2021. https://www.who.int/fr/news-29 room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue.
« Dengue santé publique France ». s. d. Consulté le 11 février 2021. /maladies-et-traumatismes/maladies-a-transmission-vectorielle/dengue.
« Dengue ». s. d. Inserm - La science pour la santé. Consulté le 10 février 2021. https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/dengue.
« Dengue et dengue sévère ». s. d. Consulté le 10 février 2021. https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue.
Duong, Veasna, Louis Lambrechts, Richard E. Paul, Sowath Ly, Rath Srey Lay, Kanya C. Long, Rekol Huy, et al. 2015. « Asymptomatic Humans Transmit Dengue Virus to Mosquitoes ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 112 (47): 14688-93. https://doi.org/10.1073/pnas.1508114112.
Dussart, P, R Cesaire, et A Sall. s. d. « Dengue, fièvre jaune et autres arboviroses », 27.
Edwards, F W. s. d. « Mosquitoes of the Ethiopian Region. III.- Culicine Adults and Pupae. », 513.
Garrett-Jones, C. 1964. « The human blood index of malaria vectors in relation to epidemiological assessment ». *Bulletin of the World Health Organization* 30 (2): 241-61.
Girod, R, M Salvan, Frédéric Simard, L Andrianaivolambo, Didier Fontenille, et S Laventure. s. d. « Evaluation de la capacité vectorielle d'Anopheles arabiensis (Diptera : Culicidae) à l'île de La Réunion : une approche du risque sanitaire lié au paludisme d'importation en zone d'éradication », 8.
Govella, Nicodemus J, Prosper P Chaki, Yvonne Geissbuhler, Khadija Kannady, Fredros Okumu, J Derek Charlwood, Robert A Anderson, et Gerry F Killeen. 2009. « A New Tent Trap for Sampling Exophagic and Endophagic Members of the Anopheles Gambiae Complex ». *Malaria Journal* 8 (1): 157. https://doi.org/10.1186/1475-2875-8-157.
Haramboure, Marion, Pierrick Labbé, Thierry Baldet, David Damiens, Louis Clément Gouagna, Jérémy Bouyer, et Annelise Tran. 2020. « Modelling the Control of Aedes Albopictus Mosquitoes Based on Sterile Males Release Techniques in a Tropical Environment ». *Ecological Modelling* 424 (mai): 109002. https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2020.109002.
Huang, Cinnia, Brett Slater, Wayne Campbell, John Howard, et Dennis White. 2001. « Detection of Arboviral RNA Directly from Mosquito Homogenates by Reverse-Transcription – Polymerase Chain Reaction ». *Journal of Virological Methods*, 8.
Haworth, W. E. 1924. « Mosquitoes and Coconut Palms. A Mosquito Survey of Palm Trees in East Africa and the Problems Resulting Therefrom. With an Appendix Describing Two New Species of Mosquitoes from Coconut Palms in East Africa. By EDWARDS (F. W.). » *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 18 (4). https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19252900513.
Hemingway, Janet, Nicola J Hawkes, Lynn McCarroll, et Hilary Ranson. 2004. « The Molecular Basis of Insecticide Resistance in Mosquitoes ». *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, Molecular and population biology of mosquitoes, 34 (7): 653-65. https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2004.03.018.
Jang, Woong Sik, Seung Yeon Kwak, Win Lai May, Dong June Yang, Jeonghun Nam, et Chae Seung Lim. 2019. « Comparative Evaluation of Three Dengue Duo Rapid Test Kits to Detect NS1, IgM, and IgG Associated with Acute Dengue in Children in Myanmar ». Édité par Han-Chung Wu. *PLOS ONE* 14 (3): e0213451. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0213451.
Lacour, Guillaume, Alexandre Carron, Charles Jeannin, Pascal Delaunay, Romain Benoît, Yvon Perrin, et Christophe Lagneau. 2010. « Aedes albopictus (Skuse, 1894) (Diptera: Culicidae) in France: Gonotrophic Cycle, Fecundity and Longevity ». In https://doi.org/10.13140/2.1.2678.9762. 30
Le Goff, Gilbert, David Damiens, Abdoul-Hamid Ruttee, Laurent Payet, Cyrille Lebon, Jean-Sébastien Dehecq, Martin Geier, et Louis-Clément Gouagna. 2017. « Comparison of Efficiency of BG-Sentinel Traps Baited with Mice, Mouse-Litter, and CO2 Lures for Field Sampling of Male and Female Aedes Albopictus Mosquitoes ». *Insects* 8 (3): 95.

« L'épidémie explose : Dengue : deux patients sont décédés, 1.416 cas en une semaine ». 2021. Imaz Press Réunion : l'actualité de la Réunion en photos. 22 avril 2021. https://www.ipreunion.com/actualites-reunion/reportage/2021/04/22/1-416-cas-confirmes-en-une-semaine-dengue-deux-patients-sont-decedes-les-premiers-depuis-le-debut-de-l-annee,134133.html.

Lima-Camara, Tamara Nunes. 2010. « ACTIVITY PATTERNS OF AEDES AEGYPTI AND AEDES ALBOPICTUS (DIPTERA: CULICIDAE) UNDER NATURAL AND ARTIFICIAL CONDITIONS ». *Oecologia Australis* 14 (03): 737-736. https://doi.org/10.4257/oeco.2010.1403.09.

Macdonald, G. 1956. « Theory of the eradication of malaria ». *Bulletin of the World Health Organization* 15 (3-5): 369-87.

Maciel-de-Freitas, Rafael. 2010. « A REVIEW ON THE ECOLOGICAL DETERMINANTS OF AEDES AEGYPTI (DIPTERA: CULICIDAE) VECTORIAL CAPACITY ». *Oecologia Australis* 14 (03): 726-36. https://doi.org/10.4257/oeco.2010.1403.08.

Modis, Yorgo, Steven Ogata, David Clements, et Stephen C Harrison. 2004. « Structure of the Dengue Virus Envelope Protein after Membrane Fusion » 427: 7.

Moynier A., 2021. "Evaluation sur le terrina de la dispersion, de la longévité et de la compétitivité des mâles stériles d'Aedes aegypti en appui à la conception d'une stratégie TIS renforcée à La Réunion". Rapport de stage de fin d'étude

Nicoli, R., J. Nicoli, Jean-Antoine Rioux, et M. Quilici. 1960. « L'étude des gîtes culicidiens larvaires dans la montagne corse [Dipt.] ». *Bulletin de la Société entomologique de France* 65 (3): 79-84.

Onyango, Maria Gorreti, Sean M. Bialosuknia, Anne F. Payne, Nicholas Mathias, Lili Kuo, Aurélien Vigneron, Matthew DeGennaro, Alexander T. Ciota, et Laura D. Kramer. 2020. « Increased temperatures reduce the vectorial capacity of Aedes mosquitoes for Zika virus ». *Emerging Microbes & Infections* 9 (1): 67-77. https://doi.org/10.1080/22221751.2019.1707125.

Pajot, François-Xavier. 1972. « Publi larves aedes simpsoni RCA-FX Pajot 1972.pdf ».

Pleydell, David R. J., et Jérémy Bouyer. 2019. « Biopesticides Improve Efficiency of the Sterile Insect Technique for Controlling Mosquito-Driven Dengue Epidemics ». *Communications Biology* 2 (1): 1-11. https://doi.org/10.1038/s42003-019-0451-1.

Raffy, Marcel, et Annelise Tran. 2005. « On the Dynamics of Flying Insects Populations Controlled by Large Scale Information ». *Theoretical Population Biology* 68 (2): 91-104. https://doi.org/10.1016/j.tpb.2005.03.005.

Reinhold, Joanna M., Claudio R. Lazzari, et Chloé Lahondère. 2018. « Effects of the Environmental Temperature on Aedes Aegypti and Aedes Albopictus Mosquitoes: A Review ». *Insects* 9 (4): 158. https://doi.org/10.3390/insects9040158.

Reiter, Paul. 2007. « Oviposition, Dispersal, and Survival in *Aedes Aegypti:* Implications for the Efficacy of Control Strategies ». *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 7 (2): 261-73. https://doi.org/10.1089/vbz.2006.0630.

Ristola, Tiina, Jukka Pellinen, Minna Ruokolainen, Auli Kostamo, et Jussi V. K. Kukkonen. 1999. « Effect of Sediment Type, Feeding Level, and Larval Density on Growth and Development of a Midge (Chironomus Riparius) ». *Environmental Toxicology and Chemistry* 18 (4): 756-64. https://doi.org/10.1002/etc.5620180423.

Salazar, Ma Isabel, Jason H Richardson, Irma Sánchez-Vargas, Ken E Olson, et Barry J Beaty. 2007. « Dengue virus type 2: replication and tropisms in orally infected Aedes aegypti mosquitoes ». *BMC Microbiology* 7 (janvier): 9. https://doi.org/10.1186/1471-2180-7-9.

Salvan et Mouchet. 1994. « 1994asbm0323.pdf ». 1994. 31

http://lib.itg.be/open/asbmt/1994/1994asbm0323.pdf.
Sánchez-Carbonel, José, Derek Tantaléan-Yépez, Miguel Angel Aguilar-Luis, Wilmer Silva-Caso, Pablo Weilg, Fernando Vásquez-Achaya, Luis Costa, Johanna Martins-Luna, Isabel Sandoval, et Juana del Valle-Mendoza. 2018. « Identification of Infection by Chikungunya, Zika, and Dengue in an Area of the Peruvian Coast. Molecular Diagnosis and Clinical Characteristics ». *BMC Research Notes* 11 (1): 175. https://doi.org/10.1186/s13104-018-3290-0.
Service, M. W. 1977. « Publi Review Service sampling adult mosquitoes 1977.pdf ».
Soghigian, John, Andrea Gloria-Soria, Vincent Robert, Gilbert Le Goff, Anna-Bella Failloux, et Jeffrey R. Powell. 2020. « Genetic Evidence for the Origin of Aedes Aegypti, the Yellow Fever Mosquito, in the Southwestern Indian Ocean ». *Molecular Ecology* 29 (19): 3593-3606. https://doi.org/10.1111/mec.15590.
Townzen et al. 2008. « Identification of Mosquito Bloodmeals Using Mitochondrial Cytochrome Oxidase Subunit I and Cytochrome b Gene Sequences ». *Medical and Veterinary Entomology*, 8.
Tran, Annelise, Morgan Mangeas, Marie Demarchi, Emmanuel Roux, Pascal Degenne, Marion Haramboure, Gilbert Le Goff, et al. 2020. « Complementarity of Empirical and Process-Based Approaches to Modelling Mosquito Population Dynamics with Aedes Albopictus as an Example—Application to the Development of an Operational Mapping Tool of Vector Populations ». *PLOS ONE* 15 (1): e0227407. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0227407.
Trpis, M, G A H McCLELLAND, J D Gillett, C Teesdale, et T R Rao. s. d. « Diel Periodicity in the Landing of Aedes Aegypti », 7.
Vasilakis, Nikos, Jane Cardosa, Kathryn A. Hanley, Edward C. Holmes, et Scott C. Weaver. 2011. « Fever from the Forest: Prospects for the Continued Emergence of Sylvatic Dengue Virus and Its Impact on Public Health ». *Nature Reviews Microbiology* 9 (7): 532-41. https://doi.org/10.1038/nrmicro2595.
Vincent, Muriel, Sophie Larrieu, Pascal Vilain, Aurélie Etienne, Jean-Louis Solet, Claire François, Bénédicte Roquebert, Marie-Christine Jaffar Bandjee, Laurent Filleul, et Luce Menudier. 2019. « From the Threat to the Large Outbreak: Dengue on Reunion Island, 2015 to 2018 ». *Eurosurveillance* 24 (47): 1900346. https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2019.24.47.1900346.
Weaver, S. C. 2005. « Host Range, Amplification and Arboviral Disease Emergence ». In *Infectious Diseases from Nature: Mechanisms of Viral Emergence and Persistence*, édité par C. J . Peters et Charles H. Calisher, 33-44. Vienna: Springer. https://doi.org/10.1007/3-211-29981-5_4.
« WHO | 29 July 2016, vol. 91, 30 (pp. 349–364) ». s. d. WHO. World Health Organization. Consulté le 10 février 2021. http://www.who.int/wer/2016/wer9130/en/.
« WHO | A global brief on vector-borne diseases ». s. d. WHO. World Health Organization. Consulté le 10 février 2021. http://www.who.int/campaigns/world-health-day/2014/global-brief/en/.
« WHO | Publication of WHO's first dengue vaccine position paper ». s. d. WHO. World Health Organization. Consulté le 2 février 2021. http://www.who.int/immunization/newsroom/press/dengue_first_position_paper/en/.